

Endolysin SAL-1 Terenkapsulasi Silver Nanoparticle Sebagai Modalitas Terapi Spesifik Gen *mecA* dan Antibiofilm MRSA

**Komang Diah Kurnia Kesumaputri, Kadek Prastiti Surya Pratiwi,
Putu Feby Miswari Dewi**

Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran,
Universitas Udayana, Denpasar, Bali, Indonesia
Alamat Korespondensi: kurniaksumaputri@student.unud.ac.id

Abstrak

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan kasus resistensi bakteri *S. aureus* yang sering menyerang pasien rawat inap. Terapi MRSA saat ini masih terbatas karena dapat memicu berbagai efek samping serta kurang efektif dalam terapi MRSA, sehingga dibutuhkan terapi alternatif lain berupa *endolysin* SAL-1. Studi literatur ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas *endolysin* SAL-1 sebagai modalitas dalam terapi MRSA. Studi pustaka dilakukan dengan mengumpulkan sumber-sumber kepustakaan dari beberapa mesin pencari. Kriteria inklusi yang digunakan adalah jurnal yang dipublikasi pada tahun 2012-2021. Berdasarkan hasil analisis, *endolysin* SAL-1 memiliki potensi sebagai terapi alternatif MRSA karena dapat menyebabkan mutasi pada gen *mecA* yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan bakteri serta menghambat pembentukan biofilm oleh koloni *S. aureus*. Untuk mencapai efek yang maksimal, *endolysin* SAL-1 dapat diadministrasikan secara intravena (IV). Guna meningkatkan bioavailabilitas serta efektivitas dari *endolysin* SAL-1, modalitas tersebut akan dienkapsulasi dengan *silver nanoparticle* (AgNPs) yang juga memiliki efek antibakteri. Pemanfaatan *endolysin* SAL-1 terenkapsulasi AgNPs mampu memberikan efek antibakteri yang komparatif dengan modalitas MRSA yang sudah ada serta memiliki efek samping yang minimal karena diformulasi dari bahan alami.

Kata Kunci: biofilm, *endolysin* SAL-1, gen *mecA*, MRSA, nanopartikel perak

Endolysin SAL-1 Encapsulated Silver Nanoparticle As Specific Therapeutic Modality for *mecA* Gene and MRSA Antibiofilm

Abstract

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a case of *S. aureus* bacteria resistance which often attack in-patients. MRSA therapy is currently still limited due to the various side effects it can trigger and ineffectiveness of the therapy. An alternative therapy is needed, such as *endolysin* SAL-1. The purpose of this literature review was to assess the effectiveness of *endolysin* SAL-1 as a potential modality in the therapy of MRSA. This literature study was conducted by collecting sources from several search engines. The inclusion criteria used were articles published in 2012-2021. Based on the results, *endolysin* SAL-1 has potential effect as an alternative therapy for MRSA because it can trigger mutations of *mecA* gene which play a role in the formation of bacterial peptidoglycan and inhibit the formation of biofilms by *S. aureus* colonies. To achieve the maximum effect, *endolysin* SAL-1 can be administered via intravein (IV). In order to increase the bioavailability and effectiveness, this modality can be encapsulated with silver nanoparticles (AgNPs) which also have antibacterial effects. The use of AgNPs encapsulated *endolysin* SAL-1 can provide comparative antibacterial effect with existing MRSA modalities and has minimal side effects due to the green material formulation.

Keywords: biofilm, *endolysin* SAL-1, *mecA* gene, MRSA, silver nanoparticle

How to Cite :

Kesumaputri KDK, Pratiwi KPS, Dewi PFM. *Endolysin SAL-1 Terenkapsulasi Silver Nanoparticle Sebagai Modalitas Terapi Spesifik Gen *mecA* dan Antibiofilm MRSA*. J Kdokter Meditek. 2021;27(3): 297-305 . Available from: <http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Meditek/article/view/2106/version/2069> DOI: <https://doi.org/10.36452/jkdoktermeditek.v27i3.2106>

Pendahuluan

Resistensi bakteri *S. aureus* terhadap berbagai jenis antibiotik masih menjadi masalah kesehatan yang krusial di rumah sakit, salah satunya infeksi *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang insidensinya terus meningkat sepanjang tahun di dunia.¹ Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang pada tahun 2012, ditemukan isolat MRSA sebesar 45,3%.² Penelitian tersebut juga didukung oleh data prevalensi kasus infeksi MRSA pada tahun 2014 di wilayah Asia Tenggara dan Asia Pasifik yang berkisar antara 2,3% sampai 69,1%.^{1,3} Selain memiliki angka morbiditas yang tinggi, kasus MRSA juga menimbulkan risiko mortalitas yang cukup tinggi. Menurut laporan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2014, pasien yang terinfeksi MRSA memiliki risiko kematian 64% atau 0,64 kali lebih tinggi dibandingkan pasien yang terinfeksi bakteri lainnya.⁴

MRSA merupakan infeksi nosokomial yang sering menyerang pasien rawat inap, terutama pasien dengan luka terbuka, penggunaan infus, kateter, dan pasca-operasi. Kondisi tersebut cenderung memperburuk kesehatan pasien karena adanya berbagai komplikasi yang dapat terjadi, seperti sepsis, syok sepsis, endokarditis, serta osteomielitis.⁵ Dengan timbulnya komplikasi, tentu akan memperpanjang waktu serta biaya perawatan pasien di rumah sakit. Di sisi lain, pasien MRSA yang resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam juga cenderung mengalami resisten dengan antibiotik lainnya, seperti *erythromycin*, *clindamycin*, *aminoglycosides*, *fluoroquinolones*, *co-trimoxazole*, dan *rifampicin*. Dengan demikian, pilihan terapi antibiotik yang dapat diberikan terhadap pasien akan semakin terbatas.⁶

Strategi pencegahan dan penanganan infeksi MRSA saat ini masih berputar pada pemberian antibiotik alternatif yang masih sensitif terhadap infeksi *S. aureus*, salah satunya *vancomycin* sebagai terapi lini pertama bagi pasien dewasa dan anak-anak.⁷ *Vancomycin* bekerja dengan menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel *S. aureus* yang berujung dengan terjadinya sitolisis osmotik.⁸ Di balik efektifitasnya, penggunaan *vancomycin* dalam jangka panjang (>6 hari) nyatanya dapat menimbulkan kerusakan hati dan ginjal.⁹ Selain itu, seiring dengan penggunaan *vancomycin* secara ekstensif, angka resistensi terhadap

antibiotik ini juga semakin meningkat. Antibiotik lini kedua, seperti *daptomycin* juga memiliki efek samping terhadap ginjal serta hipersensitivitas apabila diberikan dalam dosis tinggi (4-6 mg/kg).¹⁰

Berdasarkan efek samping dan tingginya risiko resistensi terhadap antibiotik lini pertama dan kedua dalam terapi MRSA, maka diperlukan terapi alternatif lain. Seiring dengan berkembangnya ilmu kedokteran, penggunaan terapi *phage endolysin* dapat menjadi solusi alternatif dalam terapi MRSA. *Phage endolysin* SAL-1 merupakan enzim yang berasal dari *bacteriophage* SAP-1, yang menginfeksi bakteri *Staphylococcus*.¹¹ Mekanisme kerja dari *endolysin* SAL-1, yaitu menyebabkan terjadinya mutasi pada gen *mecA* yang menyebabkan tidak terekspressinya *penicillin-binding protein 2a* (PBP2a) yang berperan dalam proses biosintesis peptidoglikan, sehingga biosintesis peptidoglikan akan terhambat dan risiko terjadinya MRSA dapat dicegah. Selain bekerja pada gen *mecA*, *endolysin* SAL-1 juga bekerja dengan menghambat ekspresi gen *icaA* dan *icaD* yang berperan dalam sintesis biofilm pada *S. aureus*.¹¹

Salah satu faktor yang membatasi penggunaan *endolysin* SAL-1 adalah ketidakmampuan *endolysin* dalam menembus membran luar bakteri.¹² Pengemasan *endolysin* SAL-1 dengan *silver nanoparticle* (AgNPs) dapat meningkatkan kinerja *endolysin* untuk menembus membran luar bakteri dan melindungi bahan aktif yang terkandung di dalamnya, sehingga dapat mencapai target terapinya.¹¹ AgNPs yang dapat digunakan dalam terapi MRSA berukuran 12-16 nm.¹³

Penggunaan AgNPs sebagai bahan enkapsulasi menawarkan terapi yang menjanjikan karena rendahnya level toksisitas AgNPs pada sel mamalia, termasuk manusia.¹³ Selain *endolysin* SAL-1, dalam terapi anti-MRSA ini, AgNPs juga dapat melepaskan ion perak (Ag^+) yang menunjukkan efek bakterisidal pada *S. aureus*.^{13,14} Untuk mempercepat eradikasi bakteri *S. aureus* yang terdapat di dalam sirkulasi darah dan jaringan limpa, mekanisme administrasi *endolysin* SAL-1 dilakukan secara intravena (IV). Mekanisme administrasi IV juga dapat memperpanjang kelangsungan hidup (*survival rate*) pasien.¹¹

Tinjauan pustaka ini bertujuan untuk mengkaji potensi *endolysin* SAL-1 sebagai modalitas infeksi MRSA yang diproses dengan metode enkapsulasi menggunakan AgNPs. Metode ini memberikan peluang besar bagi

perkembangan modalitas *endolysin* SAL-1 yang tidak hanya minim efek samping, tetapi membantu distribusinya dalam mencapai target terapi di dalam tubuh. Terapi terbaharukan diharapkan dapat memberikan efek terapi yang efektif serta ramah bagi pasien dewasa maupun anak-anak.

Metodologi

Studi literatur dilakukan pada tanggal 1 Oktober-14 April 2021 dengan menggunakan beberapa *database* ilmiah berbasis *online*. Kata kunci yang digunakan adalah *endolysin* SAL-1, *silver nanoparticle*, gen *mecA*, MRSA, dan biofilm. Kriteria inklusi yang digunakan adalah penelitian *in vivo*, *in vitro*, serta sumber literatur yang dipublikasi 10 tahun terakhir, sementara kriteria eksklusi yang digunakan adalah penelitian yang telah memasuki tahap uji klinis. Setelah dilakukan studi literatur, tahap selanjutnya adalah melakukan skrining, sehingga didapatkan 30 jurnal yang sesuai. Seluruh jurnal yang diperoleh selanjutnya ditelaah secara kritis dari segi validitas, tingkat kepentingan dari hasil penelitian (*importance*), dan penerapan hasil penelitiannya (*applicability*). Jenis data yang diperoleh bersifat variatif, namun sebagian besar bersifat kualitatif.

Hasil dan Pembahasan

Patogenesis MRSA Melalui Aktivasi Gen *mecA*

S. aureus memiliki genom yang di dalamnya terkandung beberapa komponen, seperti genom inti, komponen aksesoris, serta gen asing. Genom inti sebagai penyokong struktur utama dari *S. aureus* berperan dalam metabolisme utama dari bakteri ini. Selain genom inti, terdapat komponen aksesoris yang menyusun 25% dari *S. aureus*, antara lain *mobile genetic elements* (MGEs) seperti *transposons* (Tn), *chromosomal cassettes*, *pathogenicity islands* (PI), pulau genomik, dan *profage* yang diperoleh secara horizontal di antara *strain* bakteri.¹⁵ Elemen genetik seluler pada *S. aureus* mengandung gen virulensi yang diperoleh secara horizontal dari *strain* bakteri lain atau dikenal sebagai *horizontal gen transfer* (HGT).¹⁵ Di dalam elemen genetik seluler, terdapat suatu gen bernama *mecA* yang menjadi penyebab resistensi antibiotik *methicillin* serta β -laktam. Resistensi terjadi di kromosom *S. aureus* yang resisten terhadap *methicillin*. Kromosom yang mengalami resistensi dikenal sebagai

Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec).

SCCmec tersusun atas unsur genetik variabel serta unsur genetik yang terproteksi. SCCmec akan membawa suatu *mec operon* yang di dalamnya terdapat suatu gen bernama *mecA*. Gen *mecA* berkontribusi penting dalam jalur sintesis peptidoglikan dan biofilm seperti yang tertera pada Gambar 1. Di dekat gen *mecA*, terdapat dua gen regulator dalam posisi berdekatan yang dikenal dengan *mecRI* dan *mecI*. Kedua gen tersebut merupakan hasil transkripsi divergen gen *mecA*.¹⁵

Fungsi gen *mecRI* adalah mengkode protein untuk transduksi sinyal terikat membran, sedangkan fungsi gen *mecI* adalah mengkode regulator proses transkripsi. Kedua gen memiliki homologi tinggi dengan sekuens protein lain, yakni *BlaRI* dan *BlaI*, dimana kedua sekuens protein memiliki keterlibatan dalam ekspresi PBP2a. *BlaR1* dan *BlaI* merupakan hasil induksi gen *blaZ* yang merupakan gen β -laktamase *Staphylococcal*. Susunan pengkodean yang dimiliki oleh gen *BlaR1* dan *BlaI* terlihat serupa dengan sistem pengkodean pada gen *mecA* yang menunjukkan bahwa *mecA* mungkin mendapatkan gen regulator dari sistem *blaZ* saat proses ekspresi gen.¹⁵

Terjadinya resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik *methicillin* disebabkan oleh terekspresinya suatu *penicillin-binding protein* (PBP) transgenik oleh gen *mecA* yang disebut dengan PBP2a. PBP2a memiliki sifat resisten terhadap *methicillin*, namun tetap dapat menjalankan fungsi PBP inang, yakni dengan menyintesis peptidoglikan dan mengambil alih fungsi transpeptidasi atau *cross-linking* yang dimiliki oleh PBP inang. Sintesis peptidoglikan dilakukan melalui reaksi transglikosilasi yang dikatalisis oleh PBP2a dan *glycosyltransferase Mtg*.¹⁵ *N-acetylglucosamines* (NAG) dan *N-acetylmuramic acids* (NAM) terikat oleh ikatan glikosidik β (1-4) yang dikatalisis oleh PBP2a dalam proses transglikosilasi dan berperan dalam membangun untaian-untaian *glycan* yang membentuk peptidoglikan.¹⁵

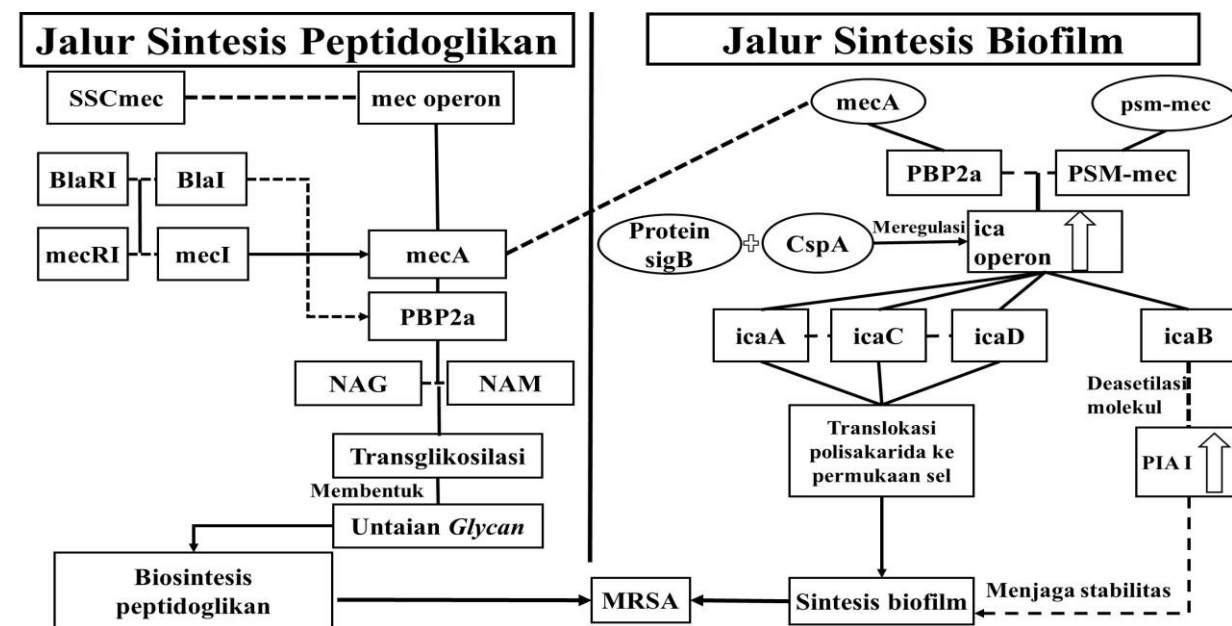
Selain membawa *mec operon* dengan gen *mecA* didalamnya, SCCmec juga akan membawa rekombinase *ccrA*, *ccrB*, dan *ccrC* yang terlokalisasi di lokus *ccr* yang memiliki peran dalam eksisi SCCmec dan integrasinya ke kromosom *S. aureus*.¹⁵ Semua elemen-elemen terlindungi dengan baik di dalam kromosom *S. aureus*. Keberadaan variasi *mec operon* dalam SCCmec yang membawa gen *mecA* bergantung

pada kondisi gen *mecI* dan *mecRI* yang utuh atau mengalami delesi. Variasi kompleks *mec* yang diketahui hingga saat ini terdiri dari kelas *mecA*, B, C, D, dan E. IS431 yang terletak di dalam kompleks gen juga memiliki hubungan dengan gen *mecA* yang terdapat di seluruh *mec operon*. IS431 memiliki kemampuan mengkode bermacam-macam faktor resistensi seperti kompleks gen *mec*. Resistensi *methicillin* yang terjadi pada *S. aureus* ditandai dengan keberadaan SCC*mec* tipe I atau III dan II.¹⁵

Sintesis Biofilm pada MRSA

Biofilm merupakan salah satu faktor virulens yang berperan penting pada patogenesis infeksi *S. aureus*. Pembentukan biofilm menyebabkan bakteri dapat bertahan hidup pada lingkungan yang ekstrim, seperti di bawah sinar UV, kondisi anaerob, racun metal, dan dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotik. Patogenesis MRSA oleh gen *mecA* memiliki

keterikatan terhadap sintesis biofilm. Sintesis biofilm akan diinduksi oleh *phenol-soluble modulins mec* (PSM-*mec*) yang dikode oleh gen *psm-mec* dan PBP2a yang dikode oleh gen *mecA*.¹⁶ Selanjutnya, sintesis biofilm akan dimediasi oleh enzim operon yang dikode oleh *ica*, yang terdiri dari *icaA*, B, C, dan D.¹⁶ *IcaA*, C, dan D berperan dalam translokasi polisakarida ke permukaan sel, sedangkan *icaB* bertanggung jawab untuk deasetilasi molekul PIA I yang berperan penting dalam pembentukan biofilm.¹⁷ Terdapat juga gen *icaR* yang berperan penting dalam regulasi lingkungan *ica operon* yang lainnya. Selain gen *ica operon*, pembentukan biofilm juga diregulasi oleh beberapa protein regulator lainnya seperti protein A (*CspA*) berinteraksi dengan protein *sigB* yang mana dapat meningkatkan transkripsi operon *ica*. Stabilitas biofilm dipengaruhi oleh *extracellular matrix* yang mana 90% *matrix* dibentuk *polysaccharide intercellular adhesin* (PIA).¹⁷



Keterangan:

- Memiliki peran utama dalam sintesis peptidoglikan dan biofilm
- Memiliki peran pendukung atau korelasi dalam sintesis peptidoglikan dan biofilm

Gambar 1. Patogenesis MRSA Melalui Jalur Biosintesis Peptidoglikan dan Biofilm.¹⁵⁻¹⁷

Keterangan singkatan: SSC*mec*: *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*, PBP2a: *penicillin-binding protein 2a*, NAG: *N-acetylglucosamines*, NAM: *N-acetylmuramic acids*, PSM-*mec*: *phenol-soluble modulins mec*, PIA I: *polysaccharide intercellular adhesin I*, MRSA: *methicillin-resistant S. Aureus*.

Formulasi *Endolysin* SAL-1 Terenkapsulasi AgNps

Gen yang mengkode *bacteriophage* SAP-1 disubkloning dengan *pBAD-TOPO* vector menjadi

pBAD:SAL1 menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) konvensional. *pBAD*:SAL1

merupakan transformasi sel bakteri *E. coli* menjadi plasmid yang digunakan dalam produksi SAL-1.¹⁸ Selanjutnya, sekuens yang mengkodekan 6 histidin pada pBAD:SAL1 dihilangkan menggunakan metode *site-directed mutagenesis* konvensional. SAL-1 yang telah terekspresi akan diinduksi dengan 0,2 mM arabinose pada sel bakteri, lalu diinkubasi selama 10 jam pada suhu 19°C. Selanjutnya, sel-sel bakteri disentrifugasi pada 6000 rpm selama 20 menit menghasilkan *cell pellet*. Selanjutnya, *cell pellet* akan disuspensi ulang menggunakan cairan *lysis buffer* yang terdiri dari 50 mM Na₂HPO₄ (pH 7,5), 10 mM *ethylene diamine tetra-acetic acid* (EDTA), 1 mM *dithiothreitol* (DTT). Langkah terakhir adalah dengan mendisrupsi sel menggunakan *ultrasonic treatment* selama 5 menit untuk mendapatkan enzim SAL-1 yang bisa dimanfaatkan.¹⁸

Setelah memproduksi enzim SAL-1, dilakukan formulasi AgNPs dengan menggunakan metode *bio-enthused synthesis* berbasis *green synthesis*, yaitu menggunakan tumbuh-tumbuhan. Metode ini dipilih dibandingkan dengan metode lainnya karena sifatnya yang lebih *eco-friendly*, bahan yang lebih mudah didapat, dapat dibuat dalam jumlah yang banyak, dan bersifat *non-toxic*.^{19,20}

Mangifera indica (mangga) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pembuatan AgNPs, terutama untuk diformulasi di Indonesia karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan tanaman lainnya, yaitu biaya yang lebih terjangkau dan ketersediaannya yang melimpah karena dapat dibudidayakan di negara beriklim tropis dan subtropis. *Inflorescence* (bunga majemuk) pada mangga mengandung beberapa senyawa organik, seperti *gallic acid*, *ethyl gallate*, *methyl gallate*, *n-propyl gallate*, *n-pentylgallate*, *n-octylgallate*, *4-phenyl gallate*, *6-phenyl-n-hexyl gallate*, dan *dihydrogallic acid* serta mengandung minyak esensial yang terdiri atas *linalool*, *elemene*, *ocimene*, *nerol*, dan *humulene* yang telah teruji dapat menurunkan kadar ion silver yang bersifat *toxic* dan dapat digunakan sebagai antibakteri.²⁰

Pertama-tama, bunga majemuk mangga dikumpulkan dari pohon yang masih muda. Bunga majemuk harus dicuci beberapa kali menggunakan air distilasi untuk menghilangkan kotoran dari debu dan polusi lalu dimasukkan ke dalam oven sampai kering pada suhu 80°C. Setelah kering, 20 g bunga majemuk dipotong menjadi bagian yang lebih kecil, lalu direbus bersama 200 mL air distilasi di dalam tabung erlenmeyer selama 5 menit. *Aqueous extract* yang

sudah didapat kemudian difiltrasi dan disentrifugasi pada 5000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya, ekstrak disimpan pada ruangan bersuhu 4°C sebelum digunakan untuk biosintesis AgNPs.²⁰ Sebanyak 5 mL ekstrak bunga majemuk mangga dicampur dan diaduk dengan 100 mL larutan AgNO₃ cair 1 mM pada suhu ruangan. Setelah itu, observasi campuran hingga dalam jangka 24 jam terjadi perubahan warna pada ekstrak bunga. Setelah dicampur, konsentrasi AgNO₃ akan berubah dari 1 mM menjadi 5 mM. Lalu campuran diobservasi menggunakan UV spektrum untuk melihat pembentukan AgNPs. AgNPs yang terbentuk akan disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 45 menit. Sebagai hasil akhir, AgNPs yang terbentuk berukuran 30 sampai 70 nm dengan ukuran rata-rata 40 nm dan dilaporkan sangat stabil.²⁰

Selanjutnya, *endolysin* SAL-1 dan AgNPs digabungkan secara kovalen. Sebanyak 50 mg AgNPs dan 5 mL *endolysin* SAL-1 diinkubasi dengan *Tris-HCL buffer* (NaCl pH 8,0; 250 mM) di suhu 4°C selama 10 jam. Asam amino yang bebas dari enzim *endolysin* berinteraksi dengan grup NCO sehingga menciptakan ikatan ganda dengan AgNPs dan membentuk *endobiotic*. Selanjutnya, *endobiotic* dicuci dengan *Tris-HCL buffer* dingin dan *triton* 1% di suhu 4°C selama 10 menit untuk melepaskan enzim yang tidak membentuk ikatan.²¹

Administrasi dan Farmakokinetik *Endolysin* SAL-1

Administrasi *endolysin* SAL-1 dilakukan secara IV. Mekanisme administrasi disarankan dalam pemberian *endolysin* SAL-1 karena proses kerjanya yang lebih cepat dibandingkan secara oral. Selain itu, metode administrasi juga memberikan keuntungan karena meningkatkan bioavailabilitas *endolysin* SAL-1 serta biayanya yang lebih terjangkau dibandingkan dengan pemberian intramuskular (IM).²² Pada pasien dengan gagal ginjal akut, administrasi *endolysin* SAL-1 secara IV dalam waktu <5 menit sangat diprioritaskan karena dapat menurunkan volume cairan yang masuk ke dalam tubuh.²²

Endolysin SAL-1 diadministrasikan dengan dosis sebesar 1 mg/kg BB dengan waktu paruh (*t*_{1/2}) selama 1 jam. Setelah diadministrasikan, *endolysin* akan mengalir di pembuluh darah vena dan diabsorpsi ke plasma darah.²³ Selanjutnya, *endolysin* SAL-1 yang terenkapsulasi AgNPs akan terdistribusi ke jaringan ataupun sel-sel yang terinfeksi bakteri *S. aureus*. AgNPs akan

mencegah pembentukan biofilm di permukaan sel dan koloni bakteri *S. aureus* akan terpisah. Selanjutnya, *endolysin* SAL-1 mendegradasi lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri dengan mekanisme *canonical lysis*, dimana *endolysin* akan dibantu oleh protein holin.²⁴ Holin mendepolarisasi membran sitoplasma dengan membiarkan *endolysin* berdifusi melalui pori-pori membran bakteri dan dapat menembus lapisan peptidoglikan. Selain itu, melalui jalur ini, enzim pinholin yang terakumulasi dalam periplasma juga bekerja sama dengan *endolysin signal arrest release* (SAR) untuk mendegradasi peptidoglikan.²⁴ Setelah menembus dinding sel bakteri, *endolysin* men-*silencing* gen *mecA* sehingga menghambat terjadinya sintesis peptidoglikan. Setelah memberikan efek bakterisidal, maka *endolysin* SAL-1 diekskresi melalui urin dan feses.

Minimum bactericidal concentration (MBC) SAL-1 sebesar 0,078 µg/mL untuk 1×10^6 cfu/mL populasi bakteri.²⁵ Di dalam serum, konsentrasi maksimum *endolysin* (Cmax) sebesar $0,82 \pm 0,50$ dengan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai konsentrasi tersebut, yaitu 0,75 (0,5-1) jam. Berdasarkan penelitian Jun *et al.* yang dilakukan secara *in vitro*, efek farmakodinamik yang dihasilkan oleh *endolysin* SAL-1 dengan dosis 1 mg/kg mencapai $0,13 \pm 0,05$ µg/mL untuk 1 jam pertama setelah administrasi.²⁵

Farmakodinamik *Endolysin* SAL-1 Terenkapsulasi AgNPs terhadap Gen *mecA* dan *ica*

Endolysin SAL-1 merupakan enzim yang memiliki kemampuan mendegradasi peptidoglikan dari *S. aureus*. Mekanisme kerjanya adalah dengan menyebabkan mutasi pada gen *mecA* yang dibawa oleh *mec operon* dalam SCCmec. Apabila *endolysin* SAL-1 diaplikasikan dalam terapi MRSA, terjadi penghambatan gen *mecA* dalam mengekspresikan PBP2a. Ketika PBP2a yang berperan dalam proses transglukosilasi dihambat, maka proses katalisis NAG serta NAM yang berikatan dalam ikatan glikosidik β (1-4) juga akan terhambat. Selain itu, *glycosyltransferase Mtg* bekerja sendiri dalam mengkatalis NAG dan NAM. Akibatnya, tidak terjadi pembentukan untaian-untaian *glycan* yang menjadi komponen utama struktur peptidoglikan pada *S. aureus*.²⁶

Pembentukan biofilm juga berkaitan dengan keberadaan gen *mecA*. Apabila *endolysin* SAL-1 diadministrasikan, efek yang muncul melalui jalur

ini adalah terhambatnya ekspresi gen *mecA*, sehingga PBP2a tidak diekspresikan.²⁶ Hal ini juga berpengaruh pada tidak dikodekannya PSM-mec, sehingga level *ica operon* menurun. Selain melalui jalur ini, administrasi *endolysin* SAL-1 yang dienkapsulasi dengan AgNPs menghambat terbentuknya gen *ica*, terutama gen *icaA* dan *icaD* yang berperan dalam proses translokasi polisakarida ke permukaan sel bakteri dan deasetilasi molekul PIA I. Apabila *endolysin* SAL-1 yang terenkapsulasi AgNPs menghambat terbentuknya gen *ica*, maka menghambat pembentukan *icaA* dan *icaD* sehingga proses translokasi polisakarida ke permukaan sel bakteri dan deasetilasi molekul PIA I tidak terjadi.²⁷ Jalur ini berujung pada tidak terjadinya sintesis biofilm *S. aureus*. Apabila dalam kondisi lingkungan yang ekstrim, dan biofilm pada bakteri tidak terbentuk, maka memicu percepatan kematian bakteri tersebut karena ketiadaan biofilm yang berperan penting dalam proses bertahan hidup bakteri.²⁷

Efek Klinis terhadap Gen *mecA* dan Antibiofilm

Aktivitas antibakteri *endolysin* SAL-1 dengan konsentrasi lebih dari 0,078 µg/mL akan muncul setelah 1 jam administrasi.²⁵ Menurut penelitian Jun *et al.* (2016), *endolysin* SAL-1 efektif diberikan dengan periode dosis jangka pendek (<1 minggu) dan sebaiknya dilakukan administrasi berulang setiap 5-6 hari.²⁸

Endolysin SAL-1 dapat menghambat ekspresi PBP2a yang dihasilkan oleh gen *mecA* secara signifikan, sehingga menghambat terbentuknya peptidoglikan pada dinding sel bakteri *S. aureus*.²⁶ Dalam penelitian Jun *et al.* (2013), diketahui bahwa pembentukan biofilm juga dihambat oleh enzim *endolysin* SAL-1 dengan konsentrasi 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL, serta 80 µg/mL.¹¹ Pada kontrol negatif, biofilm tetap terbentuk dengan sel-sel bakteri *S. aureus* yang terbatas tegas. Sementara pada pemberian 10 µg/mL *endolysin* SAL-1, tidak terlihat adanya pembentukan biofilm.¹¹

Selain enzim *endolysin* SAL-1, sintesis biofilm juga dihambat oleh keberadaan AgNPs. Berdasarkan penelitian Ansari *et al.* (2015), bakteri *S. aureus* yang tumbuh dalam media kultur yang diisi AgNPs sebesar 20 µg/mL mengalami perubahan morfologi serta AgNPs menghambat terbentuknya kolonisasi bakteri.²⁹ Efek tersebut muncul setelah 24 jam observasi. Hasil evaluasi dengan mikroskop juga menunjukkan bahwa AgNPs menghambat

terbentuknya biofilm pada *S. aureus* yang medianya berisi AgNPs dibandingkan dengan *S. aureus* kontrol yang tumbuh tanpa AgNPs. Pada *S. aureus* kontrol, ditemukan pertumbuhan biofilm yang masif, sementara pada media yang berisi AgNPs, pertumbuhan biofilm sangat dibatasi atau terhambat.²⁹

Saat koloni *S. aureus* tumbuh dengan keberadaan AgNPs dengan konsentrasi >10 µg/mL, maka sel bakteri tidak dapat bertahan hidup. Ketika diterapi dengan AgNPs (10 µg/mL), sel bakteri dapat tumbuh terus, namun terjadi penghambatan sintesis *glycocalyx matrix* yang mengindikasikan tidak adanya pembentukan biofilm. Sementara dengan konsentrasi AgNPs yang lebih tinggi (50 µg/mL), hampir tidak ada pertumbuhan sel bakteri dan sintesis *glycocalyx matrix* juga terhambat.²⁹ Hasil penelitian serupa juga melaporkan bahwa 100 nM AgNPs dapat mengurangi 95-98% biofilm yang terbentuk pada *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis*.²⁷

Menurut penelitian Qin *et al.* (2014), AgNPs dapat menurunkan ekspresi biofilm pada *dose-dependent manner* hingga 75% dengan menggunakan *crystal violet staining assay*.²⁷ Sebelum diberikan AgNPs, karakteristik biofilm *S. aureus* berbeda dibandingkan setelah diterapi AgNPs. Sebelum diterapi, sel-sel bakteri terlihat normal dengan permukaannya yang lebih halus dan batas yang tegas. Namun, saat pemberian AgNPs (20 µg/mL), biofilm yang dibentuk tidak memiliki batasan yang tegas serta tidak sempurna karena tidak terekspresinya *glycocalyx matrix* sebagai komponen utama dalam sintesis biofilm. Selain merusak morfologi serta menghambat terekspresinya *glycocalyx matrix*, AgNPs juga terbukti dapat menurunkan kadar *icaA* dan *icaD* operon yang berperan penting dalam sintesis biofilm sampai 50%.³⁰

Berdasarkan sebuah studi *in vivo* pada monyet, menunjukkan bahwa dengan pemberian *endolysin* SAL-1 dosis tunggal hingga 80 mg/kg/hari atau administrasi multi dosis selama 5 hari (dosis hingga 40 mg/kg/hari), tidak ditemukan adanya efek samping pada monyet yang diintervensi.²⁸ Penelitian tersebut juga didukung oleh studi yang dilakukan Jun *et al.* (2014), dimana tidak ditemukan efek samping pada pemberian dosis tunggal dan berulang secara IV pada tikus.³⁰ Studi klinis pada manusia dalam penelitian Jun *et al.* (2017), juga tidak menunjukkan adanya efek samping yang signifikan serta terjadi peningkatan antibodi SAL-1 yang tidak signifikan.²⁵

Penutup

MRSA merupakan kasus resistensi bakteri yang sering terjadi di pusat pelayanan kesehatan. Tingginya angka resistensi yang dapat terjadi pada berbagai golongan antibiotik membuat terapi farmakologi MRSA saat ini belum efektif. *Endolysin* SAL-1 yang memiliki efek antibakteri dapat menjadi terapi alternatif pada MRSA dengan menyebabkan mutasi pada gen *mecA* yang berperan dalam biosintesis peptidoglikan dan menghambat terbentuknya gen *ica* yang berperan dalam biosintesis biofilm pada bakteri *S. aureus*. Enkapsulasi *endolysin* SAL-1 dengan AgNPs dapat meningkatkan efektivitas terapi MRSA karena meningkatkan kerja *endolysin* SAL-1 untuk menembus membran luar bakteri dan melindungi bahan aktif yang terkandung di dalamnya sehingga dapat mencapai target terapinya. Enkapsulasi dengan AgNPs diketahui memiliki efek samping minimal karena diformulasi dari ekstrak bunga majemuk mangga serta memiliki efek antibakteri. Administrasi *endolysin* SAL-1 diberikan secara IV dengan dosis 1 mg/kg BB. Guna mengembangkan *endolysin* SAL-1 sebagai pengganti antibiotik dalam terapi MRSA, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang mengkaji efek klinis serta efek toksisitas dari *endolysin* SAL-1 yang dikombinasi dengan AgNPs.

Daftar Pustaka

1. Hassoun A, Linden PK, Friedman B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations: A review of recent developments in MRSA management and treatment. *Crit Care*. 2017;21(21):1-10.
2. Erikawati D, Santosaningsih D, Santoso S. Tingginya prevalensi MRSA pada isolat klinik periode 2010-2014 di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2016;29(2):149-56.
3. World Health Organization [Internet]. WHO antimicrobial resistance: Global report on surveillance; 2014 [diakses pada tanggal 10 November 2020]. Tersedia di: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>.
4. Yang X, Zhang J, Yu S, Wu Q, Guo W, Huang J, *et al.* Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* in retail ready-to-eat foods in China. *Front Microbiol.* 2016;7:816.
5. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(3):603–61.
 6. Nuryah A, Yuniarti N, Puspitasari I. Prevalensi dan evaluasi kesesuaian penggunaan antibiotik pada pasien dengan infeksi methicillin resistant *Staphylococcus aureus* di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten. *Majalah Farmaseutik.* 2019;15(2):123-9.
 7. Tang J, Hu J, Kang L, Deng Z, Wu J, Pan J. The use of vancomycin in the treatment of adult patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection: A survey in a tertiary hospital in China. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(10):19436-41.
 8. Vandecasteele SJ, De Vriese AS, Tacconelli E. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of vancomycin in clinical practice: evidence and uncertainties. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(4):743-8.
 9. Mergenhagen KA, Borton AR. Vancomycin nephrotoxicity: a review. *J Pharm Pract.* 2014;27(6):545-53.
 10. Lowman W, Jennifer C, Perovic O. SASCM guideline for daptomycin use in South Africa. *SAJID.* 2017;32(2):77-81.
 11. Jun SY, Jung GM, Yoon SJ, Oh MD, Choi YJ, Lee WJ, *et al.* Antibacterial properties of a pre-formulated recombinant phage endolysin, SAL-1. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41(2):156-61.
 12. Roach DR, Donovan DM. Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage.* 2015;5(3):1-16.
 13. Ortiz-Gila MA, Nunez-Anita RE, Arenas-Arroena Concepcion, Martinez-Alvarez O, Ramirez JE, de la Fuente-Hernandez J, *et al.* Silver nanoparticles for the inhibition of *Staphylococcus aureus*. *Entreciencias.* 2015;3(7):133-42.
 14. Kashani HH, Schmelcher M, Sabzalipoor H, Hosseini ES, Moniri R. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: current status of research and novel delivery strategies. *Clin Microbiol Rev.* 2017;31(1):1-26.
 15. Kirmosaoglu S. MRSA and MSSA: the mechanism of methicillin resistance and the influence of methicillin resistance on biofilm phenotype of *Staphylococcus aureus*. *Open Science.* 2017:25-37.
 16. Kirmosaoglu S. *Staphylococcal* biofilms: Pathogenicity, mechanism and regulation of biofilm formation by quorum-sensing system and antibiotic resistance mechanisms of biofilm-embedded microorganisms. *Open Science.* 2016;10:190-209.
 17. Periasamy S, Joo HS, Duong AC, Bach TH, Tan VY, Chatterjee SS, *et al.* How *Staphylococcal aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109:1281-6.
 18. Schmelcher M, Donovan DM, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiol.* 2012;7(10):1147-71.
 19. Qing Y, Cheng L, Li R, Liu G, Zhang Y, Tang X, *et al.* Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advances modification technologies. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:3311-27.
 20. Qayyum S, Oves M, Khan AU. Obliteration of bacterial growth and biofilm through ROS generation by facilely synthesized green silver nanoparticles. *PLoS One.* 2017;12(8):1-18.
 21. Solanki K, Grover N, Downs P, Paskaleva EE, Mehta KK, Lee L, *et al.* Enzyme-based listericidal nanocomposites. *Sci Rep.* 2013;3:1-6.
 22. Jin JF, Zhu LL, Chen M, *et al.* The optimal choice of medication administration route regarding intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection. *Patient Prefer Adherence.* 2015;9:923-42.
 23. Jahangirian H, Lemraski EG, Webster TJ, Rafiee-Moghaddam R, Abdollahi Y. A review of drug delivery systems based on nanotechnology and green chemistry: green nanomedicine. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:2957-78.
 24. Matamp N, Bhat SG. Phage endolysins as potential antimicrobials against multidrug resistant vibrio alginolyticus and vibrio parahaemolyticus: current status of research and challenges ahead. *Microorganisms.* 2019;7(3):84-94.
 25. Jun SY, Jang IJ, Yoon S, Jang K, Yu KS, Cho JY, *et al.* Pharmacokinetics and tolerance of the phage endolysin-based candidate 1 drug SAL200 after a single intravenous administration among healthy 2

- volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017;61(6):1-34.
26. Nelson DC, Schmelcher M, Rodriguez RL, Klumpp J, Pritchard DG, Dong S, *et al.* Endolysin as antimicrobials. *Adv Virus Res.* 2012;83:299-365.
 27. Qin H, Cao H, Zhao Y, Zhu C, Cheng T, Wang Q, *et al.* In vitro and in vivo anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium. *Biomaterials.* 2014;30:1-12.
 28. Jun SY, Jung GM, Yoon SJ, Youm SY, Han HY, Lee JH, *et al.* Pharmacokinetics of the phage endolysin-based candidate drug SAL200 in monkeys and its appropriate intravenous dosing period. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2016;43(10):1-14.
 29. Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Cameotra SS, Alzohairy MA. Anti-biofilm efficacy of silver nanoparticles against MRSA and MRSE isolated from wounds in a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol.* 2015;33(1):101-9.
 30. Jun SY, Jung GM, Yoon SJ, Choi YJ, Koh WS, Moon KS, *et al.* Preclinical safety evaluation of intravenously administered SAL 200 containing the recombinant phage endolysin SAL-1 as a pharmaceutical ingredient. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014;58(4):2084–8.