

AKTIVITAS ANTIBAKTERI AKTINOMISETES DI HUTAN MANGROVE WONOREJO SURABAYA YANG ANTAGONIS TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Anti Eka Sofariyanti¹, Retno Sasongkowati², Anita Dwi Anggraini³

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya

Email: antioka01@gmail.com

ABSTRAK

Aktinomisetes merupakan bakteri gram positif berbentuk filamentus dan mampu membentuk spora. Aktinomisetes banyak ditemukan di tanah dan juga sedimen yang sangat bermanfaat karena dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif. Mikroorganisme mangrove memegang peranan penting karena merupakan bagian integral dari ekosistem mangrove, yang membantu daur ulang dan transformasi berbagai nutrisi sehingga membuat ekosistem mangrove lebih produktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri aktinomisetes di hutan mangrove Wonorejo Surabaya yang Antagonis Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratory secara deskriptif kuantitatif, yang dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2019 di laboratorium bakteriologi jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.

Sampel tanah diambil dari 3 lokasi yang berbeda. Pre-treatment sampel tanah berdasarkan metode pengeringan panas pada suhu 60°C selama 50 menit dan berdasarkan metode germisida kimia fenol. Aktinomisetes diisolasi pada medium selektif SCA (Starch Casein Agar) dengan penambahan nystatin untuk menghambat pertumbuhan jamur. Seleksi isolat penghasil antimikroba berdasarkan metode difusi keeping agar (*Diffusion Agar Plate Methode*) atau metode difusi keping agar dengan bakteri uji yang digunakan merupakan biakan murni *Staphylococcus aureus* dengan pengenceran 10^8 atau setara dengan 0,5 standar mac Farland. Aktivitas antibakteri ditandai dengan pembentukan zona hambat di sekitar keping agar isolate aktinomisetes. Diameter zona hambat dan diameter koloni diukur untuk menentukan besar zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 3 lokasi pengambilan yang dilakukan replikasi sebanyak 2 kali didapatkan 38 isolat aktinomisetes namun hanya 1 isolat aktinomisetes yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan membentuk zona bening 14, 44 mm pada isolat CL2⁻³ 1.

Kata kunci : *Aktinomisetes*, *Hutan Mangrove Wonorejo surabaya*, bakteri *Staphylococcus aureus*, *Aktivitas antibakteri*.

PENDAHULUAN

Indonesia dengan ekosistem yang beragam memiliki biodiversitas atau keanekaragaman hayati yang besar, baik flora, fauna, maupun mikroorganismenya. Kondisi wilayah Indonesia yang berbentuk kepulauan memiliki bentangan laut yang sangat luas, kurang lebih 3.1 juta km² (Sunaryanto, 2012). Laut Indonesia

memiliki biodiversitas yang tinggi. Berbagai Jenis organisme laut tersebar luas dengan jumlah yang melimpah. Organisme tersebut menghasilkan metabolit sekunder yang digunakan sebagai pertahanan diri. Metabolit sekunder ini berpotensi sebagai senyawa bioaktif. Namun, senyawa bioaktif dari organisme laut

belum secara optimal dieksplorasi dan dimanfaatkan (Idawanti, dkk., 2017). Laut Indonesia memiliki biodiversitas yang tinggi. Berbagai jenis organisme laut tersebar luas dengan jumlah yang melimpah. Organisme tersebut menghasilkan metabolit sekunder yang digunakan sebagai pertahanan diri. Metabolit sekunder ini berpotensi sebagai senyawa bioaktif. Namun, senyawa bioaktif dari organisme laut belum secara optimal dieksplorasi dan dimanfaatkan (Idawanti, dkk., 2017). Diversitas hayati laut Indonesia sangat menjanjikan untuk dieksplorasi dan dimanfaatkan terutama oleh masyarakat Indonesia. Biodiversitas tersebut merupakan cerminan dari tingginya biodiversitas pada level yang lebih mendasar yaitu biodiversitas genetic, biomolekuler, enzim dan senyawa kimia aktif. Pendekatan bioteknologi dengan memanfaatkan disiplin ilmu merupakan salah satu jawaban agar kekayaan laut Indonesia mangrove dapat dipelihara dan dimanfaatkan (Pongantung, dkk., 2015). Mangrove merupakan hutan lahan basah pesisir yang umumnya ditemukan di dekat daerah intertidal, muara sungai, laguna, dan rawa. Mangrove menyediakan ceruk ekologi yang unik bagi berbagai mikroorganisme yang berbeda. Mikroorganisme mangrove memegang peranan penting karena merupakan bagian integral dari ekosistem mangrove, yang membantu daur ulang dan transformasi berbagai nutrisi sehingga membuat ekosistem mangrove lebih produktif (Ratnakomala, dkk., 2016). Habitat mangrove merupakan sumber daya alam dengan produktivitas yang dapat dimanfaatkan baik dalam sektor perikanan maupun kehutanan. Habitat ini merupakan sumber alam yang kaya dan menjadi ekosistem eksotik dari berbagai flora dan fauna endemik (Pongantung, dkk., 2015). Salah satu yang dapat dimanfaatkan dari habitat

mangrove yang masih perlu untuk diketahui lebih lanjut adalah aktinomisetes. Aktinomisetes merupakan bakteri gram positif berbentuk filamentus dan mampu membentuk spora. Dibandingkan dengan kelompok bakteri lain aktinomisetes mengalami pembelahan kompleks dan dapat menghasilkan beragam senyawa bioaktif (Dewi, 2014). Selama lebih dari 70 tahun, aktinomisetes (ordo Actinomycetales) telah diakui sebagai sumber penting bagi senyawa bioaktif alami. Dari sekitar 18.000 senyawa bioaktif bakteri yang dikenal saat ini, lebih dari 10.000 diketahui dihasilkan oleh aktinomisetes dari genus *Streptomyces*. Banyak antibiotik komersial, seperti tetrasiklin, eritromisin, vancomisin, dan streptomycin, berasal dari metabolisme sekunder aktinomisetes (Weber, dkk., 2015).

Aktinomisetes memiliki potensi yang sangat besar untuk menghasilkan senyawa baru untuk aplikasi dalam bidang kesehatan. Dari sekitar 22.000 metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba, sekitar 70% nya diproduksi oleh aktinomisetes, 20% oleh fungi, 7% *Bacillus* spp. Dan 1-2% oleh bakteri lainnya. Diantara bakteri yang termasuk aktinomisetes, kelompok *Streptomyces* merupakan kelompok yang penting secara ekonomis, karena lebih dari 10.000 antibiotika yang telah ditemukan saat ini, 50-55% diproduksi oleh marga tersebut (Sosovele, dkk., 2012). Telah diketahui bahwa bakteri aktinomisetes mampu mensintesis senyawa bioaktif sebagai antibiotika yang bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya. Tidak sedikit dari antibiotika tersebut telah diaplikasikan sebagai obat baik untuk manusia, hewan, maupun tanaman.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri aktinomisetes laut pernah diteliti oleh Ratnakomala, dkk., 2016 yaitu "Aktivitas Antibakteri

Aktinomisetes Laut Dari Pulau Enggano". Hasil penelitian menunjukkan bahwa lahan basah mangrove di daerah pesisir Pulau Enggano merupakan sumber aktinomisetes yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif antibakteri. Dalam penelitian ini telah diperoleh isolate aktinomisetes laut dari Pulau Enggano yang mampu memproduksi senyawa antibiotic dengan jumlah sekitar 24% dari aktinomisetes yang diuji. Hasil menunjukkan bahwa dari 29 isolat, terdapat 7 isolat yang mempunyai daya hambat terhadap mikroba uji dan 22 isolat tidak mempunyai daya hambat. Dari tujuh isolate hambat tersebut, 1 isolat hambat terhadap Gram negatif *Escherichia coli*, dan 6 isolat lainnya memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan uraian diatas akan dilakukan penelitian untuk identifikasi antibakteri aktinomisetes laut dari hutan mangrove Wonorejo Surabaya dengan menggunakan uji antagonis bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *Eksperimental Laboratoris* yang merupakan suatu penelitian untuk mengetahui apakah terdapat bakteri aktinomisetes pada hutan mangrove Wonorejo Surabaya yang dapat digunakan sebagai antibakteri aktinomisetes terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan replikasi sebanyak 2 kali di masing-masing tempat pengambilan sampel untuk mendapatkan aktivitas antibakteri yang lebih baik. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya jalan Karangmenjangan No.18A Surabaya.

Penelitian ini dilakukan pada bulan februari 2019 sampai dengan bulan Mei 2019. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seluruh Aktinomisetes yang terdapat di tanah Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat Aktinomisetes yang terdapat di tanah Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya dan memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri terhadap mikroorganisme uji (bakteri *Staphylococcus aureus*).

BAHAN DAN CARA KERJA

Persiapan Sampel

Pengambilan sampel dan pra perlakuan sampel

Isolat aktinomisetes diambil dari 5 sejumlah (\pm 150 gram) titik di tanah Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya yang lepas dari daerah perakaran. Kedalaman tanah sekitar 10-15 cm dibawah permukaan tanah, sampel sedimen diambil secara aseptik kedalam tabung corning steri (Ratnakomala, 2016). Sampel disimpan dalam suhu ruangan selama ekspedisi. Penyimpanan di laboratorium dilakukan pada suhu 4°C, sampel yang sudah dikomposit selanjutnya ditentukan berat kering, kelembapan, suhu, dan pH. Menurut Nurkanto, dkk., 2008 sampel sedimen yang diambil dari perairan seperti laut, sungai, dan danau dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 30°C selama 32-36 jam. Sebelum diisolasi sampel tanah dikeringkan pada suhu 60 °C selama 50 menit (Putri, 2018) Setelah itu diberikan prosedur preparasi awal, preparasi awal menggunakan metode Germisida Kimia Fenol. Sampel sedimen kering sebanyak 1 g dilarutkan dalam akuades steril (9 mL) di dalam tabung reaksi dan dihomogenisasi menggunakan *vortex*, kemudian dibiarkan tegak selama 1 menit. Sebanyak 1 mL supernatan dipindahkan ke dalam 9 mL larutan Fenol 1,5% dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 30 menit. 1 mL larutan sampel yang sudah ditambahkan fenol 1,5% diambil dan dilakukan pengenceran

untuk plating (Istianto, 2012). Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan sampel dan ditambahkan NaCl 0,85% sebanyak 9 mL untuk pengenceran 10^{-1} , bagitupun seterusnya hingga pengenceran 10^{-4} (Putri., dkk, 2018)

Isolasi dan Direct Screening Aktinomisetes mangrove

Sampel sedimen selanjutnya dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-3} menggunakan air steril. Setiap perlakuan dilakukan triplo dan seluruh biakan ditanam pada suhu optimum aktinomisetes, yaitu antara 25-35°C (Ratnakomala. Dkk, 2016) kemudian dari setiap pengenceran diinokulasikan sebanyak 1 mL pada medium isolasi yaitu medium SCA (Starch Casein agar) yang terdiri dari 10 gram pati, 0,3 gram casein, 2 gram KNO_3 , 2 gram K_2HPO_4 , 0,05 gram $MgSO_4$, 0,02 gram $CaCO_3$, 0,01 gram $FeSO_4$ serta 18 gram agar dengan pH 7,0 (Goerge, dkk., 2012) pada medium SCA ditambahkan thiampenicol 50 ug/ml dan nystatin 100 ug/ml untuk menghambat kontaminasi bakteri dan jamur (Hatmanti, dkk., 2018), Inkubasikan pada suhu ruang selama 5-10 hari untuk menumbuhkan koloni aktinomisetes. Setelah koloni tumbuh, dilakukan *direct screening* secara langsung dengan mengamati koloni aktinomisetes yang dapat dikenali dari penampkannya yang mencengkeram agar serta berserabut hifa halus dibawah mikroskop.

Identifikasi Aktinomisetes

Identifikasi aktinomisetes dilakukan dalam berbagai tahapan sebagai berikut :

1. Pengamatan morfologi secara maskropis yaitu mengamati secara langsung ciri-ciri koloni yang meliputi bentuk, tepi ukuran tekstur dan warna koloni. Koloni aktinomisetes dikenali dari penampkannya yang mencengkeram agar
2. Pewarnaan gram.
Adapun tahapannya yaitu kaca objek dibersihkan dengan alcohol dan

dilewatkan beberapa kali pada nyala api bunsen, kemudian diambil isolate aktinomisetes dengan jarum ose secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek. Isolat aktinomisetes kemudian ditetesi gention violet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Isolat kemudian ditetesi lagi dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga kering. Selanjutnya isolate ditetesi alkohol 95% selama 30 detik, Kemudian dialiri air dan dianginkan, kemudian dilakukan pengamatan dengan mikroskop. Jika sel bakteri berwarna ungu menunjukkan bakteri gram positif dan jika berwarna merah menunjukkan bakteri gram negatif.

3. Uji katalase

Uji katalase dibuat dengan cara, koloni aktinomisetes diambil satu ose secara aseptis dan diinokulasikan pada *object glass*. 3% H_2O_2 diteteskan pada *object glass* sebanyak satu tetes. Diamati adanya gelembung untuk hasil positif dan tidak ada gelembung untuk hasil negatif.

4. Selanjutnya untuk pemurnian, koloni yang telah teridentifikasi sebagai Aktinomisetes diambil dan dibiakkan kembali pada medium Starch casein Agar.

Penapisan Isolat Aktinomisetes dan Bakteri Uji

Aktinomisetes yang telah berhasil diperoleh dari medium isolasi, selanjutnya ditumbuhkan kembali pada medium Starch Casein Agar pada yang terdiri dari 18 g agar, 2 g NaCl, 2 g K_2HPO_4 , 0,05 g $MgSO_4$, 0,2 g $CaCO_3$, 0,01 g $FeSO_4$ dalam 750 liter. Inkubasi selama 7-14 hari pada suhu ruang (Rahayu, dkk., 2016).

Penapisan Aktinomisetes penghasil senyawa aktibakteri

Dalam penapisan ini digunakan bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dengan suhu inkubasi adalah 30°C. Untuk mendeteksi aktivitas antimikroba, digunakan metode difusi keping agar. Potongan agar dari

media kultur aktinomisetes berumur 14 hari dengan diameter 9 mm diletakkan di atas cawan agar yang telah diinokulasikan bakteri uji (sekitar 10^8 sel ml^{-1}). Selanjutnya cawan agar diinkubasikan pada suhu optimal *Staphylococcus aureus*. Zona bening yang terbentuk disekeliling keeping agar menunjukkan adanya aktivitas antimikroba. Aktivitas penghambatan diukur dengan mengukur diameter zona bening dalam millimeter.

Zona Hambat Terhadap Bakteri Uji

Setelah aktinomisetes diinkubasi pada medium SCA 5-10 hari, dan dimurnikan kembali pada medium SCA selama 7-14 hari, kemudian di uji aktivitasnya dengan mengukur zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat aktinomisetes terhadap bakteri uji ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar potongan agar.

Interpretasi Hasil

Interpretasi hasil dengan melakukan pengukuran diameter zona hambat aktinomisetes terhadap bakteri uji. Pengamatan percobaan dilakukan dengan pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri uji oleh aktinomisetes. Indeks penghambatannya dihitung dengan mengacu pada rumus: (Wahyuni, dkk., 2014).

$$\text{Indeks hambat} = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter zona koloni}}{\text{diameter zona bening}}$$

- a) Sangat kuat (zona hambat > 20 mm)
- b) Kuat (zona hambat > 10-20 mm)
- c) Sedang (zona hambat 5-10 mm)

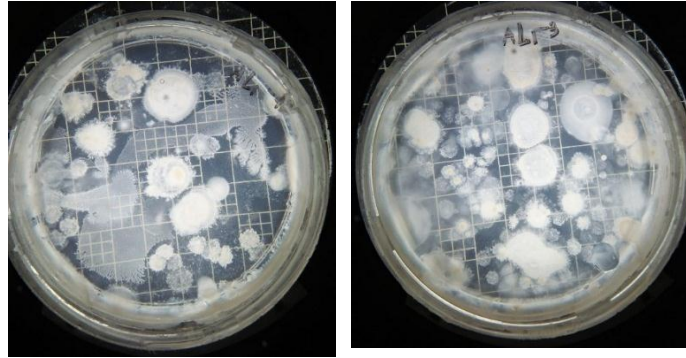
- d) Lemah (zona hambat < 5 mm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

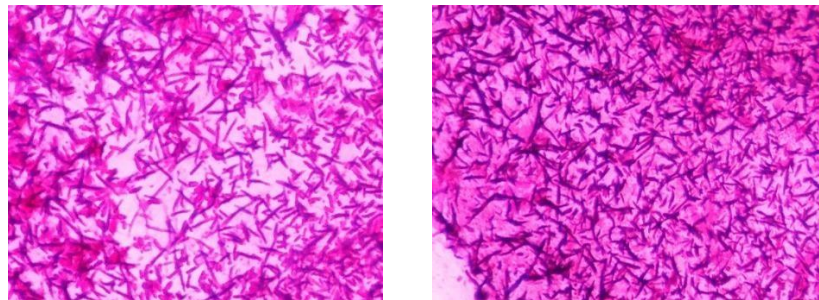
HASIL

Isolasi dan Direct Screening Aktinomisetes

Hasil screening awal pengambilan tanah pada hutan mangrove Wonorejo Surabaya adalah Lokasi A: pH 8,0, suhu 28 °C, lokasi B: pH 7,0, suhu 26 °C, lokasi C: pH 6,5, suhu 29 °C dengan kelembapan pada ketiga lokasi WET+ dan intensitas cahaya LOW-. Sebanyak 83 isolat aktinomisetes berhasil diisolasi dari hutan Mangrove Wonorejo Surabaya, hasil ini didapatkan dari direct screening secara makroskopis berdasarkan pengamatan koloni aktinomisetes yang mencengkeram agar, serta memiliki pigmen warna putih susu dengan permukaan tidak rata. Isolat aktinomisetes diisolasi pada medium SCA (*Starch Casein Agar*) dari 3 sampel sedimen tanah di hutan mangrove wonorejo Surabaya, namun dari 83 isolat hasil pengamatan makroskopis hanya 22 isolat yang menunjukkan hasil pewarnaan gram positif berhifa serta berserabut. Hasil ini didapatkan dari hasil Direct screening secara mikroskopis berdasarkan pewarnaan gram.



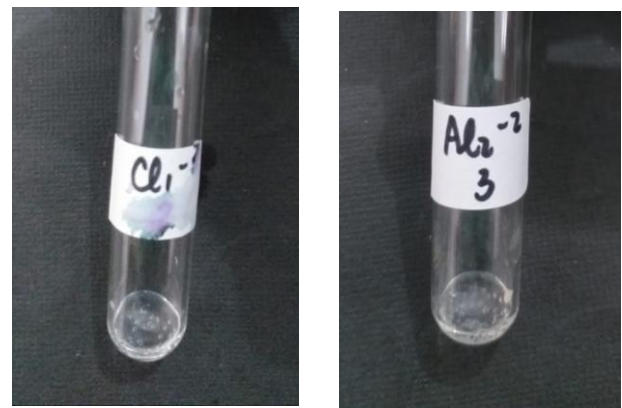
Gambar 1. Koloni aktinomisetes yang berumur 14 hari pada medium Starch Casein agar, dengan kode isolat AL1⁻³ dan AL1⁻⁴



Gambar 2. Aktinomisetes pada pengamatan secara mikroskopis pewarnaan gram basil gram positif

Pemurnian isolat aktinomisetes

Aktinomisetes dimurniakan pada medium yang sama dengan isolasi awal yaitu pada medium SCA (Starch Casein Agar). Hasil menunjukkan dari 83 isolat yang dimurnikan terdapat 43 isolat yang diduga isolat aktinomisetes murni dari hasil direct screening secara makroskopis, 43 isolat ini didapatkan dari beberapa pengenceran diantaranya replikasi 1: 8 isolat dari lokasi A, 2 isolat dari lokasi B, 10 isolat dari lokasi C. pada replikasi 2: 6 isolat dari lokasi A, 8 isolat dari lokasi B, dan 9 isolat dari lokasi C. kemudian setelah dilakukan direct secara mikroskopis didapatkan hasil 38 isolat yang diduga merupakan aktinomisetes murni. Selanjutnya dilakukan uji katalase, hasil uji katalase menunjukkan ke 38 isolat dengan hasil katalase positif setelah penambahan H₂O₂, hal ini ditunjukkan dengan adanya gelembung pada tabung setelah dilakukan uji. 38 isolat ini kemudian dijadikan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.



Gambar 3. Uji katalase positif isolate aktinomisetes

Uji Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada medium Mueller Hinton Agar diinkubasi selama 1x 24 jam. Sebanyak 38 isolat aktinomisetes digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

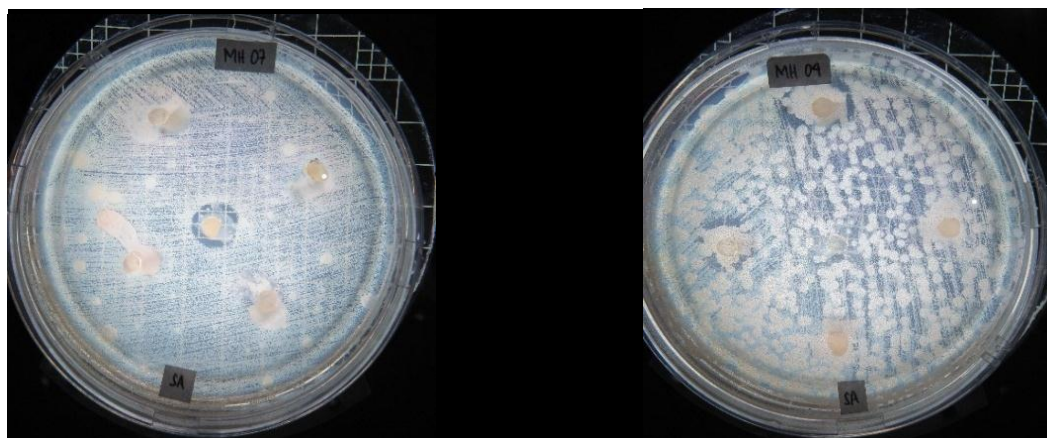
Tabel 1. Tabel hasil uji antagonis aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Plate	Kode	Isolat	Hasil	Plate	Kode	Isolat	Hasil
1	1	AL1 -2 1	B	5	1	AL2 -2 2	B
	2	AL1 -3 1	B		2	AL2 -2 3	B
	3	AL1 -3 2	B		3	AL2 -2 4	B
	4	AL1 -3 3	B		4	AL2 -3 1	B
	5	AL1 -4 1	B		5	AL2 -3 4	B
2	1	AL1 -4 3	B	6	1	BL2 -1 1	B
	2	AL1-4 6	B		2	BL2 -2 3	B
	3	BL1 -4 6	B		3	BL2 -3 5	B
	4	BL1 -4 7	B		4	BL2-4 1	B
	5	AL1 -2 1	B		5	BL2-4 2	B
3	1	CL1 -2 2	B	7	1	BL2 -4 5	B
	2	CL1 -3 6	B		2	CL2 -2 1	B
	3	CL1 -3 7	B		3	CL2 -2 2	B
	4	CL1 -4 5	B		4	CL2 -2 3	B
	5	CL1 -4 1	B		5	CL2 -3 1	A
4	1	CL1 -4 2	B	8	1	CL2-4 1	B
	2	CL1 -4 3	B		2	CL2-4 2	B
	3	CL1 -4 4	B		3	CL2-4 3	B
	4	CL1 -4 6	B				
	5	AL2 -2 1	B				

Keterangan :

A: Tidak terdapat daya hambat

B: Terdapat daya hambat



(a)

(b)

Gambar 4. gambar (a) terdapat daya hambat zona bening aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Gambar (b) tidak terdapat daya hambat zona bening aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada tabel 4.6 menunjukkan hasil daya hambat aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dari 38 isolat yang digunakan sebagai uji antibakteri hanya terdapat 1 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada plate 7 isolat CL2⁻³ koloni 1 dengan membentuk zona bening sebesar 14,44 mm.

PEMBAHASAN

Isolasi aktinomisetes

Isolasi aktinomisetes di hutan mangrove Wonorejo Surabaya dilakukan pada 3 titik lokasi yang sesuai dengan kriteria pertumbuhan aktinomisetes, dilakukan secara duplo dengan tujuan untuk meminimalisir kelemahan metode pada tahap awal dan juga untuk meminimalisir kesalahan pada hasil penelitian. Pada ketiga lokasi tersebut dilakukan screening sampel awal yakni pengecekan suhu, pH, serta kelembapan tanah hasil menunjukkan bahwa dari ketiga lokasi tersebut masuk dalam kriteria tanah yang mampu ditumbuhi oleh aktinomisetes yakni pada pH 6-8 dan pada suhu 28-30°C (Sastrahidayat, 2014). Setelah dilakukan screening awal dilakukan pre treatment awal yaitu dengan pemanasan kering dan dengan metode germisida fenol untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengganggu yang bukan aktinomisetes, dan juga untuk mengurangi bakteri kontaminan yang masih terdapat terkhusus bakteri gram negatif yang masih terdapat pada sampel. Pemanasan kering dilakukan pada suhu 60°C selama 50 menit. Menurut khana, dkk., 2014 mengatakan bahwa aktinomisetes genus yang jarang dijumpai (rare actinomycetes) dapat diisolasi secara selektif menggunakan berbagai macam metode perlakuan awal (pre-treatment) baik secara fisika maupun kimia dan sulit diisolasi langsung secara konvensional atau tanpa perlakuan. Pertumbuhan aktinomisetes lebih lambat dibandingkan dengan mikroba lain.

Mikroba kontaminan sering mengganggu pertumbuhan aktinomisetes yang bersifat *slow recovery*, sehingga sulit diisolasi. Pemberian perlakuan pada sampel dapat membatasi pertumbuhan mikroba lain, sehingga dapat menunjang pertumbuhan aktinomisetes yang sulit untuk ditemukan (Nurkanto, dkk., 2008).

Setelah dilakukan pre-treatment awal sampel tanah kemudian dilakukan penceraan hingga 10⁻⁴ dengan replikasi masing-masing tiap lokasi sebanyak 2 kali, pada masing-masing pengenceran diinkubasikan sebanyak 1 mL pada medium Starch Casein Agar yang telah dimodifikasi dengan penambahan Nystatin 0,002% untuk menekan pertumbuhan jamur pada media dengan pH 7,2 ± 0,2 serta diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 hari.

Pada penelitian ini didapatkan 84 isolat yang diduga merupakan isolat aktinomisetes, hal ini ditandai dengan ciri koloni yang mencengkeran agar berada pada permukaan agar, serta tepian tidak rata dan memiliki hifa. Aktinomisetes memiliki filamen, pleomorfism dan tumbuh berkoloni dengan cabang-cabang luas serta memiliki hifa dasar yang pendek dan sempit serta miselium yang berdiameter kecil berukuran 0.05-2 µm. Bentuk koloni aktinomisetes bulat, elevasi timbul dan cembung, tepian rata dan tidak beraturan serta permukaan bertepung, licin, kasar, atau keriput. Aktinomisetes memiliki morfologi yang sangat berbeda dibanding antara bakteri gram positif pada umumnya. Namun, struktur sel actinomycetes termasuk prokariot dan sepenuhnya berbeda dengan jamur. Struktur sel hifa mirip dengan bagian-bagian bakteri yaitu : sitoplasma yang mengandung DNA genom, ribosom, dan berbagai inklusi, diduga menyimpan zat cadangan seperti polifosfat, lipid, atau polisakarida. (Dhanasekaran dan Jiang, 2016) dari 84 koloni yang diduga sebagai isolat aktinomisetes kemudian dilakukan pewarnaan gram untuk mempertegas hasil dan hasil yang didapat adalah dari 84 koloni

yang dilakukan pewarnaan gram terdapat 22 isolat yang menunjukkan hasil pewarnaan gram yaitu berbentuk basil dan menyerap warna dari gentian violet yaitu warna ungu hal ini dapat disimpulkan bahwa kuman merupakan basil gram positif, 2 diantaranya menunjukkan hasil basil gram positif berhifa dan berserabut.

Pemurnian isolat aktinomisetes dilakukan pada medium Starch Casein agar dan diinkubasi selama 14 hari untuk kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Pada pengamatan secara makroskopis dengan melihat morfologi koloni seperti yang dilakukan pada direct screening awal dari 24 plate isolat yang ditanam terdapat 43 koloni yang sesuai dengan ciri koloni aktinomisetes. Selanjutnya dipertegas dengan pewarnaan gram, hasil dari pewarnaan gram didapatkan 38 isolat yang menunjukkan hasil pewarnaan gram basil gram positif sedangkan yang lainnya menunjukkan basil gram negatif dan coccus gram positif. Jadi didapatkan 38 isolat yang digunakan sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Meskipun begitu perlu dilakukan penelitian dan identifikasi yang lebih lanjut pada seluruh isolat aktinomisetes yang telah berhasil dimurnikan, salah satunya dengan identifikasi molekuler terhadap isolate aktinomisetes dengan PCR yang selanjutnya hasil identifikasi DNA akan dianalisa berdasarkan kesamaan gen 16S rRNA dengan aktinomisetes terdekat yang ada dalam database GenBank (Ratnakomala *et al.*, 2016). Sehingga dapat memperkuat penentuan hingga ke tingkat spesies dari isolate aktinomisetes yang berhasil diisolasi.

Uji Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan pada media *Mueller Hinton* agar (MHA) dengan masa inkubasi selama 1x24 jam. Metode yang digunakan adalah difusi keping agar, sebelum diberikan kepingan agar dari isolat

aktinomisetes sebelumnya MHA telah ditanami biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* setara dengan 0,5 standar mac farland atau setara 10^8 kuman *Staphylococcus aureus*.

Hasil menunjukkan bahwa dari 38 isolat yang digunakan hanya 1 isolat aktinomisetes yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada isolat CL2⁻³ 1 dengan daya hambat sebesar 14,44 mm. kriteria tanah pada isolat CL2⁻³ 1 adalah pada lokasi C yang terletak diantara perakaran mangrove dan kuraang terkena cahaya matahari, pada pH 6,5, suhu 29⁰C dengan tekstur tanah berada pada kelembapan yang tinggi dan berada pada perakaran besar poho mangrove Wonorejo Surabaya. Pada penelitian Ratnakomala (2018) mengisolasi aktinomisetes dari aktinomisetes laut di mangrove pulau Enggano didapatkan hasil diantara 23 isolat aktinomisetes laut dari pulau Enggano yang berhasil diidentifikasi, 3 isolat (13%) menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi pada *B. subtilis*, 4 isolat (17,4%) dan 1 isolat (0,04%) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*. Zona bening inhibisi terbesar adalah sebesar 21,4 mm terhadap *S. aureus*. Terhambatnya pertumbuhan bakteri oleh isolate aktinomisetes membentuk zona bening disekitar koloni aktinomisetes hal ini dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder aktinomisetes yang bersifat antibakteri, metabolit tersebut berdifusi ke dalam media dan mencegah pertumbuhan bakteri. Setiap isolat aktinomisetes memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen *S.aureus* pengelompokkan aktivitas antibakteri berdasarkan uji nilai tengah dibagi menjadi tiga kategori, yakni tinggi (>11,52 mm), sedang (9,01-11,52 mm), rendah (<9,01 mm) (Rahayu, dkk., 2016). Jadi dapat disimpulkan bahwa isolate CL2⁻³ 1 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dengan kategori tinggi. Hal lain yang menyebabkan kurang maksimalnya aktinomisetes sebagai antibakteri pada

penelitiannya ini adalah dikarenakan sampel yang digunakan merupakan isolat langsung setelah dilakukan direct screening dan pemurnian tanpa mengetahui senyawa aktif apa yang dapat digunakan sebagai antibakteri didalam isolat tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang aktivitas antibakteri aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari sampel tanah hutan mangrove Wonorejo Surabaya sebanyak 38 isolat.
2. 38 isolat aktinomisetes didapatkan dari identifikasi dan Direct Screening makroskopis, mikroskopis serta uji katalase. Dari 38 isolat yang digunakan sebagai antibakteri hanya 1 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kode isolat CL2⁻³ 1, hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar agar dengan Kadar Hambat Minimum sebesar 14,44 mm.

SARAN

1. Diharapkan bagi peneliti selanjutnya dapat menggunakan isolat aktinomisetes yang telah diuji senyawa bioaktifnya untuk digunakan sebagai antibakteri agar aktivitas daya hambatnya lebih maksimal.
2. Diharapkan bagi peneliti selanjutnya dapat menggunakan sampel di daerah Gunungsari Surabaya untuk dilihat perbedaan aktivitas antibakteri aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Diharapkan bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi spesies isolat aktinomisetes yang telah berhasil diisolasi dari Hutan Mangrove

Wonorejo Surabaya, salah satunya dengan identifikasi dengan PCR yang selanjutnya hasil identifikasi DNA akan dianalisa berdasarkan keasaman gen 16S rRNA dengan dengan aktinomisetes terdekat yang ada dalam database GenBank, sehingga dapat memperkuat penentuan genus dan spesies dari isolat aktinomisetes yang telah berhasil diisolasi dan dipurifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Sunaryanto, R. (2012). *Diversitas Dan Bioaktivitas Aktinomisetes Laut Dari Pantai Selatan Yogyakarta*. JPB Perikanan Vol. 7 No. 1, 31–38.
- Pongantung, C., Kepel, B., & Bodhi, W. (2015). *Uji Daya Hambat Jamur Endofit Akar Bakau Achantus Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Eschericia Coli*. Jurnal e-Biomedik (eBm) Volume 3 Nomor 1, 7-9.
- Idiawati, N., Sofiana, M. S., & Rousdy, D. W. (2017). *Potensi Antibakteri dari Bakteri Berasosiasi Thalassia hemprichii dari Perairan Lemukutan*. Buletin Oseanografi Marina Vol 6 No 2, 130–133.
- Ratnakomala, S., Apriliana, P., Fahrurrozi, Lisdiyanti, P., & Kusharyoto, W. (2016). *Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes Laut Dari Pulau Enggano*. jurnal ilmu-ilmu hayati volume 15 no 3, 275-283.
- Dewi, A. K. (2014). *Aktivitas Antifungi Isolat Actynomisetes Dari Sampel Pasir Gunung Merapi Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda Terhadap Candida albicans*. Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu pendidikan.
- Weber, T., Charusanti, P., Kroll, E. M., Jiang, X., Tong, Y., Kim, H. U., & Lee, S. Y. (2015). *Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production*

- in actinomycetes*. Trend Of Biotechnology 33 (1), 15-26.
- Sosovele, M. E., Lymo, J. T., & Hosea, M. K. (2012). *In Vitro Antimicrobial Activity of Crude Extracts From Marine Streptomyces Isolated from Mangrove Sediments of Tanzania*. Journal Biochemical Technology 3(4), 431-435.
- Nurkanto, A., Widawati, S., & Sudiana, I. M. (2008). *Aktivitas Pelarutan Fosfat oleh Aktinomisetes yang Diisolasi dari Waigeo, Kepulauan Raja Ampat, Papua Barat*. jurnal Biodiversitas ISSN 1412-033X Volume 9, Nomor 2, 87-90.
- Putri, A. L., Lisdiyanti, P., & Kusmiati, M. (2018). *Identifikasi Aktinomisetes Sedimen Air Tawar Mamasa, Sulawesi Barat Dan Aktivasnya Sebagai Antibakteri Dan Pelarut Fosfat*. jurnal bioteknologi dan biosains Indonesia volume 5 no 2, 139-148.
- Istianto, Y., Koesoemowidodo, R. S., Saputra, H., Watanabe, Y., Pranamuda, H., & Marwoto, B. (2012). *Application of Phenol Pretreatment for the Isolation of Rare Actinomycetes from Indonesian soil*. jurnal microbiology ISSN 1978-3477, eISSN 2087-8587 Vol 6 No 1, 42-47.
- Wahyuni, D. S. (2014). *Skrinning Aktivitas Isolat Aktinomisetes Tanah Asal Indonesia Penghasil Bakteri*. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Dhanasekaran, & Jiang. (2016). *Actinobacteria Basic and Biotechnological application*. India: Bharathidasan University, India.
- Rahayu, F., Roza, R.M., Pratiwi, N.W., (2016) *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes dari Arboretum Universitas Riau*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Kampus Bina Widya pekanbaru, Indonesia