

IDENTIFIKASI AKTINOMISETES PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI YANG ANTAGINIS TERHADAP METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) DARI TANAH MANGROVE WONOREJO SURABAYA

Anita Dwi Anggraini, Ayu Puspitasari, Christ Kartika Rahayuningsih
Jurusan Analis Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Surabaya
Email Corresponding : anita.anggraini40@yahoo.com

ABSTRAK

aktinomycetes mempunyai kemampuan memproduksi senyawa antimikrobia yang bermanfaat sebagai contoh streptomisin dihasilkan dari streptomyces griseus untuk penyembuhan tuberkulosis yang disebabkan oleh mycobacterium tuberculosis kebutuhan senyawa antibiotik yang efektif dengan toksisitas terhadap inang rendah, dan limbah yang dihasilkan dapat didegradasi oleh lingkungan, merupakan masalah yang perlu dicermati dengan serius. adanya resistensi terhadap antibiotik (seperti staphylococcus, mycobacterium, dan streptococcus) menyebabkan perlu dikembangkan antibiotik jenis baru dari bahan alami dan mikroorganisme yang dapat mengontrol bakteri patogen. senyawa-senyawa yang diperoleh dari bahan alam terutama tanaman dan mikroba memberikan hasil yang menjanjikan dalam pengembangan senyawa-senyawa antibiotik baru, diantara jenis mikroorganisme yang ada, actinomycetes merupakan sumber yang paling potensial penghasil antibiotik. hasil menunjukkan bahwa dari 9 isolat yang digunakan hanya 1 isolat aktinomisetes yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri staphylococcus aureus yaitu pada isolat 4 dengan daya hambat sebesar 14,4 mm. kriteria tanah pada isolat 4 adalah pada lokasi c yang terletak diantara perakaran mangrove dan kurang terkena cahaya matahari, pada ph 6,5, suhu 290c dengan tekstur tanah berada pada kelembapan yang tinggi dan berada pada perakaran besar pohon mangrove wonorejo Surabaya

Kata Kunci : aktinomisetes, MRSA, Resistensi

PENDAHULUAN

Latar Belakang (Opsional)

Aktinomycetes mempunyai kemampuan memproduksi senyawa antimikrobia yang bermanfaat sebagai contoh streptomisin dihasilkan dari Streptomyces griseus untuk penyembuhan tuberkulosis yang disebabkan oleh Mycobacterium tuberculosis. Streptomyces violaceusniger berperan antagonistik terhadap beberapa fungi yang patogen terhadap tanaman¹. Penelitian yang telah berhasil menguji antibiotik yang dihasilkan oleh aktinomycetes yang diambil dari tanah berbagai tumbuhan tingkat tinggi pada Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Trichophyton mentagrophytes, dan Candida albicans. Hasilnya adalah antibiotik yang dihasilkan isolat aktinomycetes berpengaruh kuat terhadap beberapa isolat bakteri dan jamur yang diuji.² Sunaryanto et al. (2010) juga melaporkan bahwa Streptomyces yang diisolasi dari laut merupakan kelompok aktinomisetes yang memiliki aktivitas antimikroba kuat dan mampu menghasilkan senyawa aktif citropeptin yang toksik terhadap sel kanker paru-paru A549.

Kebutuhan senyawa antibiotik yang efektif dengan toksisitas terhadap inang rendah, dan limbah yang dihasilkan dapat didegradasi oleh lingkungan,

merupakan masalah yang perlu dicermati dengan serius. Adanya resistensi terhadap antibiotik (seperti Staphylococcus, Mycobacterium, dan Streptococcus) menyebabkan perlu dikembangkan antibiotik jenis baru dari bahan alami dan mikroorganisme yang dapat mengontrol bakteri patogen³.

Senyawa-senyawa yang diperoleh dari bahan alam terutama tanaman dan mikroba memberikan hasil yang menjanjikan dalam pengembangan senyawa-senyawa antibiotik baru, diantara jenis mikroorganisme yang ada, actinomycetes merupakan sumber yang paling potensial penghasil antibiotik. Selain antibiotik, actinomycetes juga menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang sangat bernilai ekonomi tinggi dalam bidang kesehatan sebagai antivirus dan anti kanker, sedangkan dalam bidang pertanian sebagai herbisida, insektisida, dan senyawa antiparasit. Hal ini menyebabkan perlu dilakukan eksplorasi aktinomycetes yang berpotensi menghasilkan senyawa antibiotik terhadap bakteri. Berdasarkan latar belakang masalah inilah peneliti tertarik untuk melakukan penelitian identifikasi karakterisasi molekuler aktinomycetes lingkungan payau yang memiliki aktivitas antibakteri dari tanah hutan mangrove di Wonorejo Surabaya

METODE

1. Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah simple random sampling. Sampel yang digunakan adalah sedimen dari ekosistem mangrove yang diambil secara random. Masing-masing area diambil 10 titik pengambilan sampel dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengambilan sampel sedimen dilakukan sekitar 6-10 cm dari permukaan, setelah itu sedimen dimasukkan ke dalam botol kaca steril serta diberi label lokasi dan waktu pengambilan

HASIL

Aktinomisetes yang berpotensi menghasilkan antibakteri didapatkan dari sampel sedimen beberapa spesies tanaman mangrove Wonorejo Surabaya. Masing-masing lokasi diambil 10 titik sampling dengan tiga kali pengulangan. Sampel sedimen mangrove diambil pada kedalaman sekitar 6-10 cm dari permukaan. Waktu pengambilan sampel pada pagi hari hingga siang hari dengan temperatur 29°C dengan pH perairan sekitar 7-8. Hal ini sesuai untuk pertumbuhan aktinomisetes yaitu pada temperatur 25-30 °C dengan pH 7⁵. Menurut Lee dan Hwang (2002) aktinomisetes dapat tumbuh pada pH alkali (basa) dengan temperatur sekitar 28-30 °C.

Isolasi dan Seleksi Aktinomisetes yang Berpotensi Menghasilkan Antibakteri Total isolat aktinomisetes yang didapatkan dari hasil isolasi sedimen mangrove yaitu sebanyak 9 isolat didapatkan dari metode perlakuan dari metode dry heating. Metode perlakuan awal sangat efektif dalam membantu proses isolasi karena dapat mengurangi bakteri lain selain aktinomisetes yang tidak tahan terhadap metode perlakuan awal yang diterapkan terutama bakteri gram negatif⁶.

Keanekaragaman aktinomisetes di lingkungan dipengaruhi oleh pH tanah, kelembaban, dan senyawa kimia tanah seperti kandungan karbon organik, nitrogen total, potasium, dan fosfor⁷. Dari total 9 isolat yang didapatkan, kemudian dipurifikasi atau dimurnikan pada media yang sama yakni media SCA

PEMBAHASAN

Hasil menunjukkan bahwa dari 9 isolat yang digunakan hanya 1 isolat aktinomisetes yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada isolat 4 dengan daya hambat sebesar 14,4 mm. kriteria tanah pada isolat 4 adalah pada lokasi C yang terletak diantara perakaran mangrove dan kurang terkena cahaya matahari, pada pH 6,5, suhu 29°C dengan tekstur tanah berada pada kelembapan yang tinggi dan berada pada perakaran besar pohon mangrove Wonorejo Surabaya. Penelitian Jannah, dkk., (2013) sebanyak 3 dari 43 isolat aktinomisetes mampu menghasilkan zona bening terhadap

sampel. Botol ditutup dan segera dibawa ke laboratorium untuk dilakukan preparasi sampel.

2. Isolasi Aktinomisetes

Isolasi aktinomisetes menurut sampel sedimen yang di ambil dari perairan seperti laut, sungai, dan danau dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 30°C selama 32-36 jam dan setelah itu diberikan prosedur preparasi awal. Preparasi awal menggunakan metode germisida kimia fenol. Identifikasi Aktinomisetes dilakukan dengan pewarnaan gram dan uji aktivitas enzim katalase yang dibandingkan dengan karakter aktinomisetes pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

(Sarch Casein Agar/Starch M – Protein Agar) yang telah disuplementasi dengan penambahan Nystatin 0,002%.

Tabel 5.1 Hasil identifikasi makroskopis (morfologi koloni) dan mikroskopis (pewarnaan gram + uji katalase) isolat hasil purifikasi atau pemurnian

Kode Isolat	Ciri Koloni				Gram	Uji Katalase
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna		
1	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	negatif
2	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	negatif
3	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	positif
4	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	positif
5	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	positif
6	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	negatif
7	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	negatif
8	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	positif
9	irregular	flat	undulate	putih	positif (+)	positif

Staphyococcus aureus. Ambarwati dan Gama (2009) mengisolasi aktinomisetes dari tanah sawah, sebanyak 3 dari 35 isolat aktinomisetes mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan kode isolat SR13, SR1 dan SR6, masing-masing membentuk zona bening sebesar 14,66 mm, 24,66 mm, dan 5 mm. 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. 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.

KESIMPULAN

Hasil identifikasi yang dilakukan terhadap isolate aktinomisetes yang didapatkan pada hutan mangrove Wonorwojo adalah sebanyak sebanyak 9 isolat didapatkan dari metode dry heating.

DAFTAR PUSTAKA

1. Istiant, Y., Koesoemowidodo, R.S.A., wantanabe, Y., Pranamuda, H., and Marwoto, B. 2012. Application of phenol treatment for the Isolation of rare actinomisetes fro Indonesia soil. *Microbiology Indonesia* 6(1) : 42
2. Li, Q., Chen, X., Jiang, C. 2016 *Actinobacteria-Basics and Biothenological Applications Morphological Identification of Actinobacteria* : 59-86
3. Katzung, B.G., Masters, S.B., Trevor, A.J. 2009. *Basic & Clinical Pharmacology*, 11th Ed. New York McGraw-Hill. Brunton.
4. Pandey, B. Ghimire, P. Agrawal, V.P. "Studies on The Antibacterial of The Actinomycetes Isolated From The Khumbu Region of Nepal". (<http://www.aehms.org/pdf/panday%20F.pdf>, diakses 12 Desember 2018).
5. Pitcher, D.G. Saunders, A. and Owen, R.J. 1989. "Rapid Extraction of Bacterial Genomic DNA with Guanidium Thiocyanate". *J. Applied Microbiology*, 8: 151–156.
6. Pelczar, M.J. and Chain, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1,2. Hadioetomo Rs, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah. Jakarta: UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*
7. Ambarwati, G. 2009. Isolasi Aktinomisetes dari tanah sawah sebagai penghasil antibiotic. *Jurnal Penelitian Sains dan teknologi* 10(2):101-111
8. Arunachalam, C. and Gayathri, P. 2010. "Studies on Bioprospecting of Endophytic Bacteria From The Medicinal Plant of *Andrographis Paniculata* for Their Antimicrobial Activity and Antibiotic Susceptibility Pattern". *Int. Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2: 63–68.