

KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK ANTIBAKTERI DARI ISOLAT ACTINOMYCETES TERHADAP *Vibrio* sp. RESISTEN AMPISILIN DAN TETRASIKLIN

Ratna Claudya Naomi Hutagalung¹, Christina Nugroho Ekowati¹, Salman Farisi¹, Sumardi¹, dan Achmad Arifiyanto¹

¹Jurusan Biologi, FMIPA UNILA, Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1 Gedung Meneng, Bandar Lampung 35144

*Corresponding author

E-mail address: sumardi_bio@yahoo.co.id

Peer review di bawah tanggung jawab Departemen Biologi Universitas Sriwijaya

Abstract (English):

Actinomycetes with RH and AF isolate codes were isolated from mangrove soils in Hanura, East Lampung and Sidoarjo rhizosphere soils. Both isolates were identified microscopically and macroscopically. Isolates were selected based on antibacterial activity, challenge test against *Vibrio* sp., and supported by pathogenicity tests to determine the pathogenic properties of the isolates. The antibacterial agent of the isolates was obtained by extraction with methanol and ethyl acetate as solvents. The results showed that RH and AF isolates were able to inhibit the growth of *Vibrio* sp. antibiotic resistant. In the challenge test against *Vibrio* sp. antibiotic resistance formed a clear zone between the two isolates which indicated that RH isolates had the ability to inhibit the growth of *Vibrio* sp. antibiotic resistant. In the pathogenicity test of the two *Actinomycetes* RH isolates did not show any hemolysis ability as evidenced by the absence of a clear zone in the blood agar medium, but the AF isolates showed β -hemolysis ability as evidenced by the formation of a clear zone on the blood agar medium.

Keywords: *Actinomycetes*, Antibakteri, *Vibrio* sp.

Abstrak (Indonesia)

Actinomycetes dengan kode isolat RH dan AF diisolasi dari tanah mangrove Hanura, Lampung Timur dan tanah rizosfer Sidoarjo. Kedua isolat diidentifikasi secara mikroskopis dan makroskopis. Isolat diseleksi berdasarkan aktivitas antibakteri, uji tantangan terhadap *Vibrio* sp., dan didukung dengan uji patogenitas untuk mengetahui sifat patogen dari isolat tersebut. Zat antibakteri dari isolat diperoleh melalui ekstraksi dengan pelarut metanol dan etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat RH dan AF mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. resisten antibiotik. Pada uji tantangan terhadap *Vibrio* sp. resisten antibiotik terbentuk zona jernih diantara kedua isolat yang menunjukkan bahwa isolat RH memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. resisten antibiotik. Pada uji patogenitas kedua isolat *Actinomycetes* RH tidak menunjukkan kemampuan hemolisis apapun yang dibuktikan dengan tidak terbentuknya zona jernih pada medium agar darah, namun pada isolat AF menunjukkan kemampuan β -hemolisis yang dibuktikan dengan terbentuknya zona jernih pada medium agar darah.

Kata kunci: *Actinomycetes*, Antibakteri, *Vibrio* sp.

Diterima: 21 Januari 2021, Disetujui: 02 Mei 2021

1. Pendahuluan

Vibrio sp. merupakan bakteri patogen yang menjadi penyebab utama timbulnya penyakit pada udang [1]. Penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri ini adalah vibriosis [2]. Beberapa spesies *Vibrio* yang dilaporkan menyebabkan infeksi vibriosis ada-

lah *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio agullarum* dan *Vibrio vulnificus* [3].

Antibiotik menjadi salah satu alternatif bagi para pembudidaya untuk menanggulangi penyakit infeksi, namun penggunaan antibiotik yang berlebihan juga dapat menimbulkan efek samping yang menjadi-

kan bakteri penyebab infeksi menjadi resisten terhadap antibiotik [4].

Berdasarkan data dari ALD (*Antibiotic Literature Database*) Itali menyebutkan bahwa diantara 8000 zat antimikroba, 45,6 % dihasilkan oleh *Streptomyces*, 16 % dari *Actinomycetes* lain dan sisanya dari jamur dan bakteri lain [5].

Actinomycetes banyak ditemukan di alam, namun beberapa peneliti melaporkan bahwa tanah mangrove merupakan sumber utama ditemukannya *Actinomycetes* yang mempunyai aktivitas untuk menghasilkan metabolit sekunder baru [6]. Metabolit sekunder yang dihasilkan *Actinomycetes* dapat dipengaruhi oleh tingginya konsentrasi NaCl, tekanan hidrostatik yang tinggi, rendahnya konsentrasi senyawa organik dan temperatur yang rendah [7].

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat *Actinomycetes* dari tanah mangrove yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Vibrio* sp. yang banyak menyebabkan penyakit vibriosis pada udang.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Peremajaan Isolasi *Actinomycetes*

Isolat *Actinomycetes* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Unila. Isolat diremajakan ke dalam media SWC agar dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3-5 hari. *Actinomycetes* hasil peremajaan digunakan untuk uji aktivitas antimikroba terhadap *Vibrio* sp.

Uji Patogenitas

Isolat *Actinomycetes* diuji tingkat patogenitasnya dengan uji hemolitik menggunakan metode titik pada medium agar darah dan diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu ruang. Zona jernih yang terbentuk atau perubahan warna pada medium menunjukkan

adanya kemampuan isolat melisis sel darah merah [8].

Uji Tantang

Isolat *Actinomycetes* diuji tantang dengan *Vibrio* sp. pada medium SWC agar dengan metode *streak* dan diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu ruang. Zona jernih yang terbentuk antara isolat *Actinomycetes* dengan *Vibrio* sp. menunjukkan adanya kemampuan isolat *Actinomycetes* dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. [9].

Produksi Senyawa Antimikroba

Isolat *Actinomycetes* diinokulasikan kedalam media produksi lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari di *orbital shaker*, selanjutnya 30 mL hasil produksi ditambahkan 3 mL HCL lalu di sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Pada setiap pelarut ditambahkan supernatan dengan perbandingan 1:1 lalu didiamkan selama 12 jam, selanjutnya supernatan dikeringkan di dalam oven sampai didapatkan berat keringnya, selanjutnya ditambahkan metanol:akuades (3:1) dan etil asetat:akuades (3:1) [10].

Uji Aktivitas Ekstrak Antimikroba *Actinomycetes* Terhadap *Vibrio* sp.

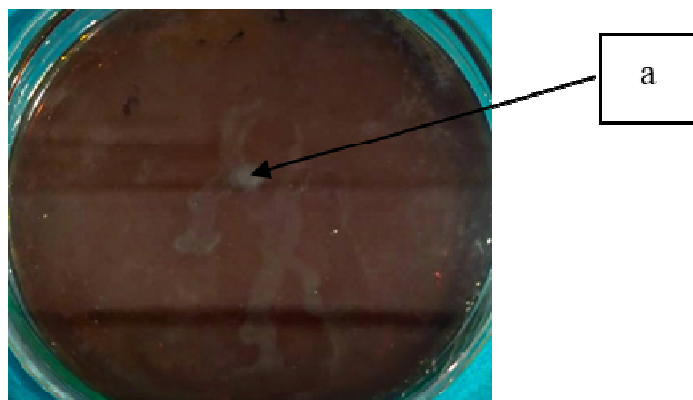
Uji aktivitas antimikroba *Actinomycetes* terhadap *Vibrio* sp. dilakukan menggunakan metode *spread* pada medium SWC agar. Pada medium diletakkan kertas cakram yang sudah diberi supernatan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Zona jernih yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri *Actinomycetes* terhadap *Vibrio* sp. resisten antibiotik dan dicatat dengan keterangan aktivitas lemah (5-9 mm), aktivitas sedang (10-20 mm), dan aktivitas baik (>200 mm) [9].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil peremajaan isolat *Actinomycetes* diberi kode isolat RH dan AF. Isolat *Actinomycetes* RH berasal dari tanah mangrove Hanura Pesawaran, dan isolat AF berasal dari tanah rizosfer Sidoarjo. Dari hasil

identifikasi berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* kedua isolat menunjukkan kesamaan morfologi koloni dan morfologi sel dengan Genus *Streptomyces*.

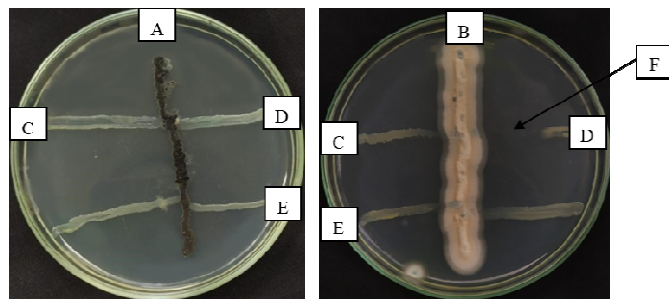
Berdasarkan hasil uji patogenitas isolat Actinomycetes yang ditumbuhkan di medium agar darah dan diinkubasi selama 2-3 hari menunjukkan hasil yang berbeda dari kedua isolat. Isolat Actinomycetes RH tidak menunjukkan adanya terbentuk zona jernih ataupun terjadi perubahan warna pada medium, hal ini menunjukkan bahwa isolat Actinomycetes tidak memiliki sifat patogen. Isolat RH tidak memiliki kemampuan hemolisis sel darah merah atau biasa disebut gamma (γ) hemolisis [9] (Tabel 2). Namun pada isolat Actinomycetes AF2 menunjukkan adanya zona jernih yang terbentuk, hal ini menunjukkan bahwa isolat AF2 memiliki sifat patogen. Isolat AF2 memiliki kemampuan melisiskan seluruh sel darah merah dan hemoglobin atau biasa disebut beta (β) hemolisis. B-hemolisis merupakan toksin yang dapat membahayakan kesehatan manusia dan hewan [11].



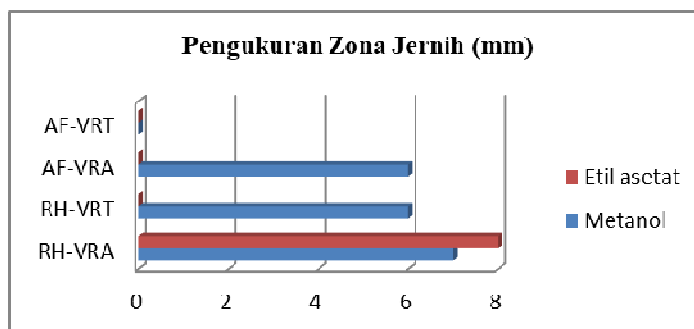
Gambar 1. Uji Patogenitas, (a) isolat Actinomycetes RH

Berdasarkan hasil uji tantangan yang ditumbuhkan pada medium SWC agar yang diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang terbentuk zona jernih antara isolat Actinomycetes dengan *Vibrio* sp. (Gambar 2). Zona jernih yang terbentuk menandakan bahwa isolat Actinomycetes mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. Variasi zona jernih yang terbentuk dikarenakan adanya perbedaan daya antagonisme dari masing-masing iso-

lat Actinomycetes, perbedaan ini dipengaruhi oleh jenis, kualitas, dan kuantitas metabolit sekunder yang dihasilkan [12].



Gambar 2. Uji Tantang Isolat RH terhadap *Vibrio* sp. Resisten Antibiotik, (A) isolat Actinomycetes RH, (B) isolat Actinomycetes AF2, (C) *Vibrio* sp. resisten ampisilin, (D) *Vibrio* sp. resisten ampisilin-sulbaktam, (E) *Vibrio* sp. resisten tetrasiklin, (F) zona jernih

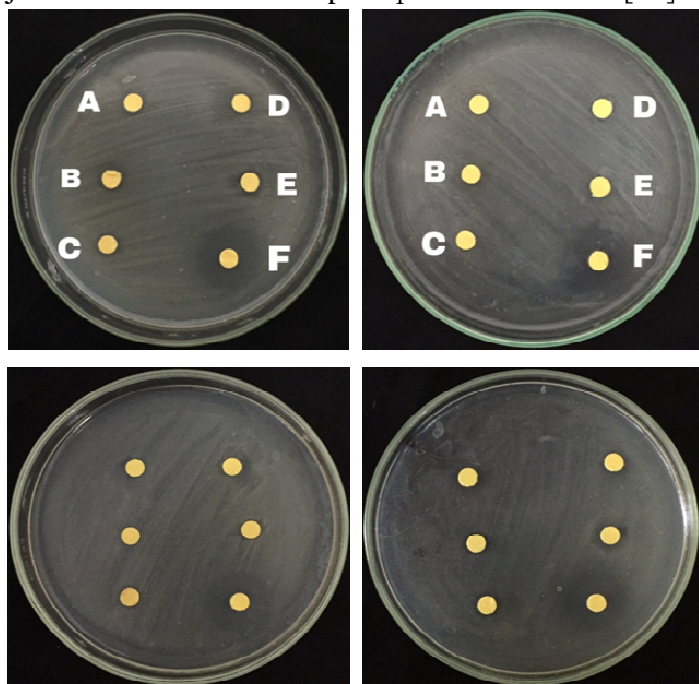


Gambar 3. Pengukuran Diameter Zona Jernih Pada Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio*

1. RH-VRA : isolat RH terhadap *Vibrio* Resisten Ampisilin
2. RH-VRT : isolat RH terhadap *Vibrio* Resisten Tetrasiklin
3. AF-VRA : isolat AF terhadap *Vibrio* Resisten Ampisilin
4. AF-VRT : isolat AF terhadap *Vibrio* Resisten Tetrasiklin

Pada penelitian ini, kontrol positif menggunakan antibiotik streptomisin dan kontrol negatif menggunakan etil asetat dan metanol. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak Actinomycetes kedua isolat Actinomycetes mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. resisten ampisilin dan *Vibrio* sp. resisten tetrasiklin. Zona hambat terbesar dihasilkan pada ekstrak Actinomycetes dengan pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mampu menarik metabolit sekunder dalam jumlah yang banyak dari medium fermentasi [13]. Etil asetat digunakan dalam ekstraksi karena memiliki tingkat

kepolaran yang hampir sama dengan metabolit sekunder pada Actinomycetes [14]. Hasil ini sesuai dengan penelitian tentang potensi matabolit sekunder isolat Actinomycetes SM-2 dari rizosfer terhadap bakteri Gram negatif, yang menunjukkan hasil zona jernih terbesar terbentuk pada pelarut etil asetat [15].



Gambar 4. Uji Daya Hambat Ekstrak Antimikroba Actinomycetes terhadap *Vibrio* sp. Resisten Ampicilin dan *Vibrio* sp. Resisten Tetrasiklin

Keterangan:

A: kontrol negatif (etil asetat)

B: kontrol negatif (metanol)

C: supernatant

D: ekstrak etil asetat

E: ekstrak metanol

F: kontrol positif (streptomisin)

Berdasarkan Gambar 4, zona jernih yang dihasilkan kedua ekstrak Actinomycetes bervariasi. Jika dibandingkan dengan zona jernih yang dihasilkan oleh streptomisin, zona jernih kedua isolat Actinomycetes terlihat lebih keruh. Hal ini dapat disebabkan karena produksi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh kedua isolat Actinomycetes bersifat bakteriostatik atau hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. resisten ampisilin dan *Vibrio* sp. resisten tetrasiklin.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini isolat RH dengan pelarut etil asetat mempunyai aktivitas anti-

bakteri terhadap *Vibrio* resisten antibiotik lebih efektif dibandingkan dengan pelarut metanol.

References

- [1] Lightner, D. V., T. A. Bell., R. M. Redman., L. L. Mohney., J. M. Natividad., A. Rukyani, and A. Poernomo. 1992. *A Review of Some Major Disease of Economic Significance in Penaeid Prawns/Shrimp of The Americas and Indopacific*. Proceedings of The First Symposium on Disease in Asian Aquaculture Bali. Indonesia.
- [2] Widanami, 2004. Penapisan Bakteri Probiotik untuk Biokontrol Vibriosis pada Larva Udang Windu: Konsultasi Penanda Molekuler dan Esei Pelekatan. Tesis. Program Pascasarjana Institut Teknologi Bogor. Bogor.
- [3] Chatterjee, S., and S. Haldar. 2012. *Vibrio* Related Disease In Aquaculture and Development of Rapid and Accurate Identification Methods. *Journal Marine Sci Res Dev*. 1-7.
- [4] Erbabley, N., Y., G., F. 2011. Pengujian Sensitifitas dan Efektifitas Antibiotik Terhadap Penyakit Vibriosis Pada Kerapu Tikus *Chromileptes altivelis*. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. 7(1):1-7.
- [5] Lazzarini, A., Cavaletti, L., Toppo, G., and Marinelli, F. 2000. Rare Genera of Actinomycetes as Potential Producer of New Antibiotics. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 78(3-4):399-405.
- [6] Janaki, T., Nayak, B. K., and Ganesan, T. 2016. Antibacterial Activity of Soil Actinomycetes from Mangrove Avicennia Marina. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 5(1):267-271.
- [7] Hodges, T. W., M. Slattery, and J. B. Olson. 2012. Unique Actinomycetes From Marine Caves and Coral Reef Sediments Provide Novel PKS and NRPS Biosynthetic Gene Clusters. *Marine Biotechnology*. 14, 270-280.
- [8] Hamtini, 2014. *Isolation and Selection of Bacillus sp. from Catfish (Clarias sp.) As Well Its Potential As A Probiotic*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [9] Malek, N. A., Jalal, A. Chordhury, K., and Zainuddin, Z. 2015. Diversity and Antimicrobial Activity of Mangrove Soil Actinomycetes Isolated from Tanjung Lumpur Kuantan. *Journal of Technology*. 77(37-43).
- [10] Xue, Y., Yang, M., Li, S., Li, Zheijing, Liu, H, G, Q., Wang, C. 2019. The Antibiotic Activity and Mechanisms of Active Matabolites (*Streptomyces alboflavus* TD-1) Against *Ralstoria solanacearum*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1(1-10).
- [11] Pradana, A. P., A. Munif, dan Supramana. 2016. Bakteri Endofit Asal Berbagai Akar Tanaman sebagai Agens Pengendali Nematoda Puru Akar *Meloidogyne incognita* pada Tomaat. *Jurnal Fitopatologi Indone-*

sia. Vol. 12(13)75-82.

- [12] Nurjasmu, R., and Suryani. 2017. Uji Antagonistik *Actinomyces* Asal Limbah Kulit Bawang Merah Terhadap Patogen Tanaman. *Jurnal Ilmiah Respati Pertanian*. Vol. 11:2(1-5).
- [13] Seidel, V. 2005. Initial and Bulk Extraction. *Natural Product Isolation* Second Edition. Human Press. Totowa, New Jersey.
- [14] Mahdalena, dan P. Ardiningsih. 2019. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Actinomyces* Berasosiasi dengan Spons. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol. 8(2): 28-33.
- [15] Masda, N. R. 2018. Potensi Metabolit Sekunder Isolat *Actinomyces* SM-2 dari Rizosfer *Andrographis paniculata* sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar.