

# ISOLASI ACTINOMYCETES DARI SPONGE PULAU BARRANGCADDI SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA

Herlina Rante, Gemini Alam, Usmar, Sri Ningrum Anggrainy Wahid

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

## Kata Kunci :

Spons, Actinomycetes, Antimikroba

## ABSTRAK

Spons sebagai tempat tinggal bagi mikroorganisme menjadikannya sebagai *High Microbial Abundance Sponge* (HMAS) dimana 40-60% biomassa spons terdiri dari mikroorganisme. Salah satu bakteri yang bersumber dari laut dan sudah lama diketahui dapat dikembangbiakkan yaitu Actinomycetes. Actinomycetes yang bersimbion dengan spons sangat banyak dan kaya akan penemuan kemotipe baru dengan aktivitas terapan yang menarik dan tidak didapatkan di organisme darat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari isolat Actinomycetes yang diperoleh dari spons Pulau Barrang Caddi. Isolasi Actinomycetes dilakukan dengan menggunakan metode pour and spread plate menggunakan medium SNA (Starch Nitrate Agar) diikuti dengan penyaringan aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi agar. Dari ketujuh isolat Actinomycetes yang diisolasi dari spons koleksi Pulau Barrang Caddi, Makassar, Sulawesi Selatan, mampu menghambat mikroba uji pada skrining awal dengan uji antagonis.

## PENDAHULUAN

Permukaan bumi memiliki lebih dari 70% wilayah laut, mulai dari habitat di Antartika hingga perairan tropis. Perkembangan mikroorganisme terdapat di seluruh samudera hingga kedalaman 11.000 m dengan tekanan lebih dari 100 MPa dan suhu yang lebih tinggi dari 100°C dalam hidrotermal laut dalam. Produktivitas primer ekosistem laut merupakan 98% mikroorganisme uniseluler dan multiseluler. Sehingga mikroorganisme menjadi bagian dari rantai makanan organisme laut, siklus karbon dan sumber energi (1).

Ekosistem laut terdiri dari makroorganisme dan mikroorganisme yang memiliki struktur dan fisiologis yang unik dan memungkinkan untuk bertahan hidup di bawah tekanan, salinitas, dan suhu yang ekstrem. Banyak organisme laut menghasilkan molekul-molekul baru atau metabolit sekunder dengan aktivitas terapeutik yang menarik dan tidak didapatkan pada organisme darat. Salah satu organisme laut yang menghasilkan metabolit sekunder yaitu spons (2).

Spons yang berasal dari filum porifera merupakan organisme invertebrata multiseluler. Spons umumnya menempel pada pasir, batu-batuan, dan terumbu karang. Spons dikenal dengan sifat "filter-feeder" yaitu mencari makanan dengan mengisap dan menyaring air keluar melalui sel cambuk serta memompa air keluar melalui oskulum (3). Spons mampu memompa ribuan liter air per hari. Dengan sifat "filter-feeder" yang dimiliki oleh spons lebih memungkinkan untuk mengisap atau menyerap mikroorganisme masuk ke dalam tubuhnya (2). Peran mikroorganisme dalam tubuh spons digunakan sebagai pertahanan diri dari predator, pertahanan dari infeksi patogen, membantu dalam metabolisme spons, dan menghasilkan senyawa bioaktif yang

bertindak sebagai antimikroba, antivirus, antioksidan dan aktivitas antitumor (4).

Spons sebagai tempat tinggal bagi mikroorganisme menjadikannya sebagai High Microbial Abundance Sponge (HMAS) dimana 40-60% biomassa spons terdiri dari mikroorganisme (4). Salah satu bakteri yang bersumber dari laut dan sudah lama diketahui dapat dikembangbiakkan yaitu Actinomycetes (2). Menurut Abdelmohsen et al. (2006), Actinomycetes yang bersimbion dengan spons sangat banyak dan kaya akan penemuan kemotipe baru.

Actinomycetes merupakan bakteri gram positif kelompok mikroorganisme prokariotik yang tinggi akan guanin dan sitosin dalam DNANYA. Secara bioteknologi Actinomycetes berperan penting dalam produksi metabolit sekunder (5). Sehingga menghasilkan banyak senyawa baru yang memiliki aktivitas biologi seperti antibakteri, antijamur, antiparasit, antimalaria, imunomodulator, antiinflamasi, antioksidan, dan aktivitas antikanker (6). Hal ini menjadikannya sebagai produsen penting untuk industri farmasi khususnya pada produksi antibiotik. Hampir 80% antibiotik yang telah ada hingga saat ini berasal dari Actinomycetes (5).

Peningkatan terapi antibiotik dan penemuan senyawa-senyawa baru melalui cara penapisan kimia sintetik atau fermentasi, memicu perkembangan produksi antibiotik. Selain itu, permasalahan resistensi antibiotik semakin meningkat seiring dengan peningkatan penggunaannya. Sehingga, dilakukan eksplorasi terhadap sumber daya alam khususnya sumber daya alam laut sebagai upaya mengatasi masalah resistensi antibiotik (7).

Masuk 09-12-2019

Revisi 10-06-2020

Diterima 01-07-2020

DOI: 10.20956/mff.v24i1.8572

## Korespondensi

Herlina Rante

herlinarante@unhas.ac.id

## Copyright

© 2020 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi - Makassar

Diterbitkan tanggal

01 Juli 2020

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spons yang dikoleksi dari Pulau Barrang Caddi Makassar, media *Starch Nitrate Agar* (SNA), *Starch Nitrate Broth* (SNB), *Nutrient Agar* (NA), *Potato Dextrosa Agar* (PDA), dan isolat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 35592, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, isolat fungi *Aspergillus niger* ATCC 16404. Alat-alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas, autoklaf, cawan petri, inkubator dan oven.

### Pengambilan Sampel

Sampel berupa spons dari Pulau Barrang Caddi Kecamatan Ujung Tana, Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Secara geografis pengambilan sampel spons yaitu 05°06'06.6" lintang selatan dan 119°17'11.4" bujur timur pada kedalaman ± 3 m dari permukaan laut. Sampel dimasukkan ke dalam pot sampel steril dan disimpan dalam *coolbox*, selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk digunakan dalam penelitian.

### Isolasi actinomycetes

Isolasi *Actinomycetes* dari spons dilakukan dengan metode *pour* dan *spread plate* untuk mendapatkan koloni tunggal.

Sampel spons dibuat pengenceran  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$  dengan cara ditimbang 1 g sampel spons dan dicuci dengan air laut steril sebanyak 5 kali, dihomogenkan dengan 10 x volume air laut steril. Kemudian 0,1 mL pengenceran disebar kedalam medium SNA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 4 minggu, dan isolat yang memiliki ciri-ciri *Actinomycetes* yaitu membentuk miselium bercabang, terdiri dari miselium udara dan miselium vegetatif, umumnya menghasilkan spora dan koloni tampak seperti permukaan yang berpasir, koloni actinomycetes tampak buram, kasar serta pertumbuhannya tidak menyebar diinokulasikan ke medium SNA baru untuk mendapatkan isolat yang murni. Isolat yang murni diinokulasikan ke dalam medium SNA miring untuk digunakan pada penelitian selanjutnya.

### Uji antagonis isolat actinomycetes

Uji antagonis dilakukan dengan metode difusi agar. Isolat *Actinomycetes* yang berusia 7 hari inkubasi pada media SNA ditempatkan di permukaan medium NA yang berisi bakteri uji (*E.coli*, *B.subtilis*, dan *S.aureus*) dan media PDA yang berisi fungi uji (*A.niger*). Selanjutnya inkubasi selama 1x24 jam suhu 37°C untuk bakteri dan 3x24 jam suhu 25°C untuk fungi. Masing-masing isolat diamati kemampuannya dalam menghambat bakteri dan fungi yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar isolat



**Gambar 1.** Spons koleksi Pulau Barrang Caddi (A) BCD2-01, (B) BCD2-02, (C) BCD2-03, (D) BCD2-04, (E) BCD2-05, (F) BCD2-06, (G) BCD2-07, (H) BCD2-08, (I) BCD2-09, (J) BCD2-10

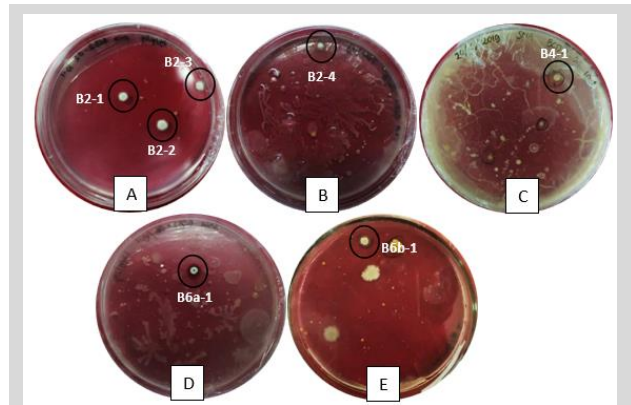
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan sampel spons dari perairan Pulau Barrang Caddi Makassar Sulawesi Selatan pada koordinat 05006'06.6" lintang selatan dan 119017'11.4" bujur timur.

Sebanyak sepuluh sampel spons (**Gambar 1**). Dari ke sepuluh sampel spons tersebut selanjutnya dilakukan isolasi *Actinomycetes* yang bersimbion atau berasosiasi dengan spons. Asosiasi antara spons dan komunitas mikroorganisme merupakan hal yang penting. Mikroorganisme yang menetap

dalam spons dapat mencapai 40-60% biomassa spons. Beberapa studi menunjukkan bahwa spons yang hidup dalam habitat yang berbeda mengandung komunitas mikroba yang memiliki hubungan yang sangat dekat yang berbeda dari komunitas bakteri dalam air laut (Szumowski, 2008).

Isolasi Actinomycetes menggunakan metode pour dan spread plate. Media yang digunakan merupakan media umum untuk isolasi Actinomycetes yaitu Media SNA (Starch Nitrate Agar) dan penambahan nistatin untuk mencegah pertumbuhan jamur. Untuk dapat membedakan antara isolat Actinomycetes dengan kontaminan bakteri dan jamur, maka dilakukan karakterisasi terhadap ciri-ciri morfologi dari Actinomycetes. Actinomycetes membentuk miselium bercabang, terdiri dari miselium udara dan miselium vegetatif, umumnya menghasilkan spora dan koloni tampak seperti permukaan yang berpasir (Lacey, 1997).



**Gambar 2.** Isolat actinomycetes (A) BCD2-02  $10^{-1}$  spread plate, (B) BCD2-02  $10^{-1}$  pour plate, (C) BCD2-04  $10^{-1}$ , (D) BCD2-06  $10^{-1}$ , (E) BCD2-06  $10^{-2}$

**Tabel 1.** Hasil pemurniaan isolat Actinomycetes

No.	Kode Isolat	Miselium Udara	Miselium Substrat	Miselium	
				Udara	Substrat
1.	B2-1			Koloni berwarna putih	Koloni berwarna putih kekuningan
2.	B2-2			Koloni berwarna putih	Koloni berwarna putih
3.	B2-3			Koloni berwarna putih	Koloni berwarna kuning
4.	B2-4			Koloni berwarna putih	Koloni berwarna putih kekuningan
5.	B4-1			Koloni berwarna putih kekuningan	Koloni berwarna kuning
6.	B6a-1			Koloni berwarna putih kekuningan	Koloni berwarna kuning kehitaman
7.	B6b-1			Koloni berwarna putih	Koloni berwarna putih

Selain itu koloni Actinomycetes tampak buram, kasar serta pertumbuhannya tidak menyebar (Madigan et al., 2003).

Hasil isolasi Actinomycetes dari spons diperoleh 7 isolat Actinomycetes (**Tabel 1**). Tiga isolat Actinomycetes diperoleh dari spons Kode BCD2-02 yang teridentifikasi

sebagai *Callispongia aerizosa*. Isolat Actinomycetes tersebut diberi kode B2-1, B2-2 dan B2-3. Dua isolat Actinomycetes diperoleh dari spons kode BCD2-06 yang teridentifikasi sebagai *Clathria reinwardti*, isolat Actinomycetes tersebut diberi kode B6a-1 dan B6b-2. Selain itu ada 2 isolat

Actinomycetes yang diisolasi dari spons kode BCD2-04 yang diberi kode B2-1, B2-2 dan B2-3. Namun spons kode BCD2-04 belum dapat diidentifikasi.

**Tabel 2.** Hasil uji antagonis isolat actinomycetes simbiosis spons

No.	Isolat	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans</i>
1	BCD2-02 (B2-2)	-	+	+	-	-
2	BCD2-02 (B2-3)	+	+	-	-	-
3	BCD2-06 (B6a-1)	-	+	-	+	-
4	BCD2-04 (B4-1)	+	+	+	+	-
5	BCD2-02 (B2-1)	-	+	-	-	-
6	BCD2-06 (B6b-1)	-	+	-	-	-
7	BCD2-02 (B2-4)	-	+	-	-	-

Ket :

+ : Terbentuk zona bening

- : Tidak terbentuk zona bening

Semua isolat yang diperoleh selanjutnya diseleksi berdasarkan kemampuan dalam menghambat mikroba uji dengan uji antagonis. Ketujuh isolat Actinomycetes menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, dan hanya isolate B2-3 dan B4-1 menunjukkan kemampuan menghambat bakteri gram negatif *E. coli*. Untuk aktivitas antifungi isolat B4-1 dan B6a-1 yang menunjukkan kemampuan menghambat *Aspergillus niger*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa isolate kode B2-1, B2-2, B2-4, dan B6b-1 dapat menghasilkan metabolit yang digolongkan sebagai antibakteri spektrum sempit, dan isolat B2-4 dapat menghasilkan metabolit yang digolongkan sebagai antibakteri spektrum luas. Namun, hanya isolat B4-1 dan B6a-1 dapat menghasilkan metabolit yang digolongkan

sebagai antifungi. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat Actinomycetes yang diisolasi dari spons pulau Barrang Caddi berpotensi sebagai penghasil senyawa antimikroba.

## KESIMPULAN

Isolat actinomycetes yang diisolasi dari spons Pulau Barrang Caddi Makassar Sulawesi Selatan pada uji antagonis mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji.

Isolat actinomycetes kode B4-1 dari spons koleksi nomor BCD2-04 dapat menghasilkan metabolit yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Karena isolat actinomycetes kode B4-1 dapat menghambat bakteri gram negatif dan gram positif serta dapat menghambat jamur *Aspergillus niger*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi yang telah mendanai riset ini dalam skema Penelitian Dasar Tahun 2019

## DAFTAR PUSTAKA

- Kodzius R, Gojobori T. Marine metagenomics as a source for bioprospecting. *Mar Genomics*. 2015;24:21-30.
- Abdelmohsen UR, Bayer K, Hentschel U. Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes. *Nat Prod Rep*. 2014;31(3):381-99.
- Murniasih T. Metabolit Sekunder dari Spons sebagai Bahan Obat-Obatan. *J Oseana*. 2003;28(3):27-33.
- Kane SN, Mishra A, Dutta AK. Preface: International Conference on Recent Trends in Physics (ICRTP 2016). *J Phys Conf Ser*. 2016;755(1).
- Sheik GB, Maqbul MS, S. GS, S RM. Isolation and Characterization of Actinomycetes From Soil of Ad-Dawadmi, Saudi Arabia and Screening Their Antibacterial Activities. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2017;9(10):276.
- Abdelmohsen UR, Yang C, Horn H, Hajjar D, Ravasi T, Hentschel U. Actinomycetes from red sea sponges: Sources for chemical and phylogenetic diversity. *Mar Drugs*. 2014;12(5):2771-89.
- Rante H, Wahyono, Murti YB, Alam G. Purifikasi dan karakterisasi senyawa anti- bakteri dari actinomycetes asosiasi spons terhadap bakteri patogen resisten. *Maj Farm Indones*. 2010;21(3):158-65.
- Sulistiyani, N. and Akbar, A. N. 2014. 'Aktivitas Isolat Actinomycetes dari Rumput Laut ( *Eucheuma cottonii* ) sebagai Penghasil Antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(1), pp. 4-12.