

Seleksi Aktinomisetes Isolat Lokal Dari Tanah Gambut Riau Sebagai Antipatogen Pada *Streptococcus pyogenes*

TETTY MARTA LINDA¹, LAMISSI NAPITUPULI¹, RODESIA MESTIKA ROZA¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Riau
Kampus Bina Wydia Km. 12,5 Simpang Baru Pekanbaru
Email: tetty.martalinda@gmail.com

ABSTRAK

Dua puluh empat isolat aktinomisetes hasil isolasi dari tanah gambut Riau diseleksi menggunakan metode agar disk untuk dilihat aktivitas antipatogen pada *Streptococcus pyogenes* menggunakan medium *Tryptic Soy Agar* (TSA). Hasil seleksi diperoleh lima isolat aktinomisetes (MH23, L313, L18, L223 dan MH11) menghasilkan zona bening disekitar bakteri uji. Isolat MH23 menghasilkan zona bening tertinggi yaitu 24 mm. Kelima isolat aktinomisetes berpotensi sebagai penghasil antibiotik yang bermanfaat bagi kesehatan.

Kata kunci: Aktinomisetes, antibiotik, tanah gambut, *Streptococcus pyogenes*

PENDAHULUAN

Penelitian untuk mendapatkan antibiotik baru dengan spektrumnya lebih luas, lebih murah dan efektif terus dilakukan. Sejauh ini, mikroorganisme yang berasal dari alam merupakan sumber materi genetik yang terbaik yang merupakan sumber senyawa baru yang tidak pernah habis. Selain aktivitas antibiotik, metabolit mikroba juga menjadi sumber senyawa aktif farmakologis atau fisiologis yang berguna dibidang medis (Suwandi, 1993).

Antibiotik sangat dibutuhkan terutama yang efektif melawan bakteri resisten maupun sumber infeksi. Salah satu mikroba penting penghasil antibiotik adalah aktinomisetes. Aktinomisetes adalah bakteri Gram positif berbentuk filamen yang menghasilkan antibiotik dan komponen terapeutik (Hirsch dan Christensen 1983). Selain itu, aktinomisetes juga menghasilkan substansi biologikal aktif seperti vitamin dan enzim (Basilio *et al.* 2003). Salah satu genus aktinomisetes yang terkenal karena potensinya memproduksi senyawa aktif adalah *Streptomyces* yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen Gram positif maupun Gram negatif. Seperti, antibiotik aminoglikosida, tetrasiklin, aureomisin dan kloramfenikol (Poernomo *et al.*, 2005).

Kemampuan aktinomisetes dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen baik dari golongan Gram positif maupun Gram negatif merupakan dasar dari penggunaan aktinomisetes sebagai antipatogen terhadap *Streptococcus pyogenes*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif yang patogen pada manusia penyebab infeksi supuratif maupun infeksi non supuratif. Infeksi tersebut disebabkan karena adanya interaksi antara faktor-faktor virulensi *S. pyogenes* dengan sel inang, baik berupa protein yang disekresikan maupun yang terdapat pada permukaan *S.pyogenes* (Kusuma, 2005). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menyeleksi aktinomisetes indigenus asal tanah gambut Riau yang dapat digunakan sebagai antipatogen terhadap *S. pyogenes*.

METODE PENELITIAN

Peremajaan Aktinomisetes. Dua puluh empat isolat aktinomisetes adalah hasil isolasi dari tanah gambut di Riau. Masing-masing isolat aktinomisetes diremajakan dengan menumbuhkan secara *streak plate* ke dalam medium *Starch Casein Agar* dengan komposisi: pati 10 g, kasein 0,3 g, KNO₃ 2 g, K₂HPO₄ 2 g, NaCl 2 g, MgSO₄. 7H₂O 0,05 g, CaCO₃ 0,02 g, FeSO₄.7H₂O 0,01 g, agar 18 g dan 1000 ml aquades. Cawan petri

selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari (Yilmaz *et al.*, 2008).

Peremajaan dan Penyiapan

Streptococcus pyogenes. *S. pyogenes* ditumbuhkan pada medium *Triptic Soy Agar* (TSA). Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam hingga koloni tumbuh. Setelah tumbuh disimpan ke dalam refrigerator sampai pada tahap pengerjaan berikutnya.

Biakan *S. pyogenes* yang berumur 24 jam dalam media TSA miring digunakan sebagai sumber inokulum. Inokulum diperoleh dengan cara menambahkan 10 ml NaCl 0,85% steril ke dalam tabung biakan isolat *S. pyogenes* lalu dikerik dan divortex hingga terlepas dari agar kemudian dipindahkan ke dalam tabung steril. Inokulum ini selanjutnya dilakukan perhitungan suspensi selnya secara *pour plate* hingga diperoleh jumlah inokulum *S. pyogenes* 10^6 /ml.

Seleksi Aktinomisetes terhadap *S. pyogenes* dengan Metode Agar Disk. Isolat aktinomisetes berumur 7 hari yang tumbuh di medium SCA dipotong (6x6 mm). Selanjutnya potongan agar (*agar disk*) ditransfer ke cawan TSA yang telah diinokulasikan isolat *S. pyogenes* (10^6 /ml) selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Masing-masing diseleksi dengan dua ulangan. Aktivitas diketahui dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Aghighi *et al.* 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan dan Seleksi Aktinomisetes terhadap Pertumbuhan *S. pyogenes*. Peremajaan isolat aktinomisetes memerlukan waktu yang lama yaitu 7-14 hari. Sebanyak 24 isolat aktinomisetes hasil peremajaan

diseleksi kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* patogen. Hasil seleksi diperoleh 5 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* dengan kemampuan masing-masing isolat aktinomisetes berbeda-beda, seperti pada Tabel 1. Hal ini disebabkan tidak semua metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing isolat aktinomisetes memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. pyogenes*. Hal ini diperkuat dengan laporan Linda *et al.* (2007) isolat aktinomisetes yang berhasil dieksplorasi dari tanah gambut Sei Mempura Kabupaten Siak Sri Indrapura (SM11, SM12, SM13, SM14, SM15, dan SM16) memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas terhadap bakteri Gram positif (*B. subtilis*, *S. aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli*, *Pseudomonas* sp.). Hasil penelitian lain telah dilaporkan isolat aktinomisetes SM11 dan SM 12 dan MH23 telah diketahui memiliki kemampuan daya hambat terhadap *Rhizoctonia solani* (Linda *et al.* 2009) dan isolat aktinomisetes L18, L223 dan L313 diketahui memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim protease (Linda *et al.* 2016). Basilio *et al.* (2003) menegaskan bahwa anggota dari famili dan genus aktinomisetes yang berbeda memperlihatkan perbedaan kemampuan mereka dalam memproduksi senyawa antimikroba. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing isolat aktinomisetes memiliki kemampuan berbeda-beda dalam menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibakteri atau anti jamur terhadap mikroba uji, sehingga memungkinkan masing-masing isolat aktinomisetes mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen atau jamur lainnya.

Tabel 1. Daya hambat isolat aktinomisetes terhadap *S. pyogenes*

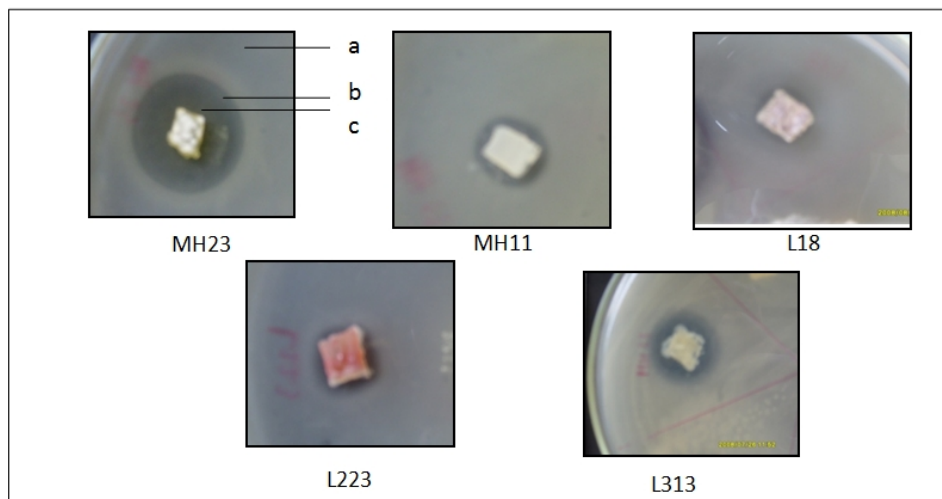
No.	Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	No	Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)
1	L513	-	13	L512	-
2	L18	17	14	L13	-
3	L421	-	15	L321	-
4	L11	-	16	L311	-
5	L223	12	17	MH23	24
6	L15	-	18	MH11	10
7	L17	-	19	SM13	-

8	L12	-	20	SM11	-
9	L121	-	21	SM 12	-
10	L221	-	22	SM14	-
11	L313	13	23	SM15	-
12	L225	-	24	SM16	-

Ket: (-) = Tidak memperlihatkan aktifitas antibakteri

Daya hambat yang dihasilkan oleh ke-5 isolat berkisar antara 10-24 mm dengan diameter zona bening yang terbesar oleh isolat MH23 diikuti oleh isolat L18, L313, L223, dan MH11. Besar diameter zona bening yang terbentuk menandakan kemampuan aktinomisetes dalam menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*, semakin besar zona

bening semakin besar pula kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*. Zona bening yang terbentuk merupakan hasil dari senyawa bioaktif yang dikeluarkan oleh isolat aktinomisetes sebagai reaksi antagonis terhadap *S.pyogenes* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas masing-masing isolat aktinomisetes umur 7 hari terhadap bakteri *S. pyogenes* dalam medium TSA inkubasi pada temperatur ruang selama 24 jam menggunakan metode *agar disk*.
Ket: a: isolat *S. pyogenes*, b: zona hambat, c: isolat aktinomisetes.

Aktivitas dari senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes merupakan aktivitas antibakteri yang dapat membunuh ataupun menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganismes yang bersifat antibakteri yaitu antibiotik. Antibiotik merupakan metabolit sekunder karena dihasilkan dalam alur metabolisme sekunder dan tidak diperlukan untuk pertumbuhan maupun pemeliharaan sel (Schlegel dan Hans 1994).

Zona hambat yang dihasilkan oleh sebagian besar dari masing-masing isolat aktinomisetes yang mampu menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* membentuk zona hambat jernih seperti pada isolat MH23,

L313, L223, dan MH11, namun ada juga isolat yang membentuk zona hambat keruh seperti pada isolat L18. Akhdiya dan Susilowati (2008) berpendapat bahwa zona hambat yang jernih disebabkan oleh produksi senyawa bioaktif yang bersifat bakterisida (membunuh bakteri), sedangkan zona hambat yang keruh disebabkan oleh produksi senyawa bioaktif yang bersifat bakteriostatik (hanya menghambat pertumbuhan bakteri uji). Intensitas kejernihan zona hambat juga dipengaruhi oleh kuantitas senyawa antibakteri yang diekskresikan oleh isolat aktinomisetes.

Hasil uji nilai tengah (median) kemampuan isolat aktinomisetes dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen

S.pyogenes dikelompokkan ke dalam kriteria tinggi, sedang, dan rendah. seperti pada pada Tabel 2. Isolat aktinomisetes yang memiliki kriteria tinggi yaitu isolat MH23 dengan diameter zona bening adalah 24 mm, sedangkan isolat yang memiliki kriteria

sedang ada tiga isolat yaitu L18, L313, L223 dengan diameter zona bening masing-masing adalah 17 mm, 13 mm, dan 12 mm. Isolat aktinomisetes MH11 termasuk ke dalam kriteria rendah dengan diameter zona bening 10 mm.

Tabel 2. Kriteria aktivitas daya hambat isolat aktinomisetes terhadap *S.pyogenes* berdasarkan uji nilai tengah (median)

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	Kriteria
MH23	24	Tinggi
L18	17	Sedang
L313	13	
L223	12	
MH11	10	Rendah

Besar daya hambat yang dihasilkan oleh masing-masing isolat aktinomisetes diduga karena adanya perbedaan jumlah dan kualitas senyawa bioaktif yang terdifusi ke medium sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S.pyogenes*. Sahin dan Ugur (2003) dan Ilic *et al.* (2005) mengelompokkan efek penghambatan isolat *Streptomyces* dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus* ke dalam empat kelompok berdasarkan zona beningnya yaitu zona bening dengan diameter ≤ 10 mm merupakan kelompok pasif, 11-20 mm sedikit aktif, 21-30 mm cukup aktif dan ≥ 31 mm sangat aktif. Berdasarkan kriteria pengelompokan kemampuan isolat aktinomisetes tersebut, isolat aktinomisetes indigenus Riau yang digunakan sebagai antipatogen terhadap *S. pyogenes* termasuk kriteria cukup aktif. Perbedaan kriteria ini disebabkan oleh perbedaan isolat aktinomisetes dan bakteri uji yang digunakan.

KESIMPULAN

Seleksi 24 isolat aktinomisetes lokal Riau menggunakan metode *agar disk* diperoleh 5 isolat potensial sebagai antipatogen terhadap bakteri patogen *Streptococcus pyogenes* yaitu isolat MH23, L18, L313, L223, dan MH11. Hasil uji nilai tengah isolat aktinomisetes MH23 termasuk kriteria tinggi dengan diameter zona bening 24 mm, dan isolat

MH11 termasuk kriteria rendah dengan diameter zona bening 10 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya A dan Susilowati DN. 2008. Aktivitas penghambatan dari aktinomiset terhadap bakteri patogen tanaman dan patogen tular makanan. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 27 (1): 55-60.
- Aghighi S, Bonjar GHS, Rawashdeh R, Batayneh S, Saadoun I. 2004. First report of antifungal spectra of acitivity of iranian *Actinomycetes* strains against *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* And *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences* 3: 463-471.
- Basilio A, Gonzalez I, Vicente M. F, Gorrochategui J, Cabello A, Gonzalez A, Genilloud O. 2003. Patterns of antimicrobial activities from soil *Actinomycetes* isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology* 95: 814-823.
- Hirsch CF And Christensen DL. 1983. Novel methode for selective isolation of *Actinomycetes*. *Applied And Environmental Microbiology* 46: 925-929.

- Ilic SB, Konstantinovic SS, Todorovic ZB. 2005. UV/VIS analysis and antimicrobial activity of *Streptomyces* isolate. *Facta Universitatis-Medicine and Biology* 12 (1): 44-46.
- Kusuma SAF. 2005. Regulasi produksi ornitin karbamoiltransferase *Streptococcus pyogenes* CS24 oleh albumin serum manusia secara *In Vitro*. Bandung: Department Of Pharmacy ITB.
- Linda, TM., Roza, RM., Yulianti, R., Wahyuliyanti. 2007. Isolasi dan aktivitas antibakteria aktinomisetes asal tanah gambut Riau. *Jurnal Natur Indonesia*. 10(1):18-23.
- Linda, TM., Martina, A., Sinaga, J., Roza, RM. Emas, GM. 2009. Antifungal spectra of activity of actinomycetes strains against *Rhizoctonia solani*. Proceeding International Conference on Natural and Environmental Sciences (Icones). Banda Aceh 6-8 May, 325.
- Linda TM, Martina A, Febrianti BL, Herlinda, Tabri. 2016. Seleksi aktinomisetes penghasil protease dari tanah gambut Desa Langkai, Siak, Riau. *Jurnal Riau Biologia* 1(10):62-66.
- Poernomo AT, Lailiana M, Isnaeni. 2005. Aktivitas antibakteri sel amobil *Streptomyces* Sp-1 dalam matrik Ca-alginat dan Ba-alginat terhadap *Staphylococcus aureus*. *Majalah Farmasi Airlangga* 5 (2): 65-68.
- Sahin N, Ugur A. 2003. Investigation of the antimicrobial activity of some *Streptomyces* Isolates. *Turk J Biol* 27: 79-84.
- Schlegel dan Hans. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Suwandi U. 1993. Skrining mikroorganisme penghasil antibiotik. Pusat Cermin Dunia Kedokteran No.89. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan P.T Kalbe Farma.
- Yilmaz EI, Yuvuz M, Kizil M. 2008. Molecular characterization of rhizospheric soil *Streptomyces* isolated from Indigenous Turkish plant and their antimicrobial activity. *World J Microbiol Biotechnol* 24: 1461-1470.