
POTENSI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI SUMBER SENYAWA BIOAKTIF ANTIBIOTIK DARI KAWASAN KARST BANTIMURUNG, SULAWESI SELATAN

Kumalasari A.M., Nur Fathurahman R., Muhamad Nur R.
Mahasiswa FMIPA UNY

Abstract

The purpose of the research is to reveal the bioactive substance which is produced by *Actinomycetes* bacteria in order to inhibit the growth of tested organism.

The data were collected in several steps consisting of sampling and isolating the *Actinomycetes* which was done in the main research area (Bantimurung), screening the obtained isolates, characterizing the obtained isolates, and determining of the growth curve of *Actinomycetes*, and the last was growth inhibitory test.

The research finding was the inhibitory potential was actually different from one fungi isolate to other isolates treated to *C.albicans*, *S.Aureus*, dan *E.Coli*. It was probably because of the different sensitivity of each tested pathogenic microorganism to the antibiotic substance.

Keywords: Antibiotic, Karstic, *Actinomycetes*

PENDAHULUAN

Kawasan *karst* di Sulawesi, salah satunya *karst* Bantimurung merupakan kars yang membentuk tipe kars tersendiri, yaitu bukit–bukit berlereng terjal. Sebagian besar genesanya dipengaruhi oleh struktur geologi, sebelum diperlebar dan diperluas oleh proses pelarutan atau *karsifikasi* membentuk bangun menara yang sangat khas (*karst tower*). Di antara bukit–bukit tersebut membentang dataran dengan permukaannya yang rata. Oleh penduduk setempat, dataran *karst* tersebut didayagunakan menjadi lahan pertanian dan perkebunan. (Samodra, 2001)

Ko (2001) menginformasikan bahwa kawasan *Karst* Maros-Pangkep sudah dikenal oleh dunia internasional sejak sebelum

perang dunia II. Kawasan ini antara lain juga dikenal melalui publikasi ahli geografi Danes. Kawasan ini dikatakan memiliki bentukan alam (geomorfologi) yang amat khas dan tidak dijumpai di tempat lain. Kawasan *Karst* Maros-Pangkep merupakan kawasan *karst* menara yang memiliki keunikan geomorfologi yang tiada duanya di Indonesia, keindahan panorama alamnya serta potensi biodiversitasnya juga sangat kaya.

Ko (2001) juga memaparkan bahwa di dalam gua yang gelap itu biasanya hanya ditemukan *bacteria*, *Actinomycetes*, fungi. Menurut Holland (1967) koloni menyerupai *lichen* yang ditemukan di dinding beberapa gua, ialah *Actinomycetes* dari genus *Streptomyces*. Aspeknya menyerupai bubuk

dan menimbulkan bau khas tanah.

Sumber mikroba penghasil antibiotik antara lain, berasal dari tanah, air laut, lumpur, kompos, isi rumen, limbah domestik, bahan makanan busuk dan lain-lain. Tanah merupakan habitat alami bagi mikroba dan produk-produk antimikrobanya (Dancer 2004). Namun kebanyakan mikroba penghasil antibiotik diperoleh dari mikroba tanah terutama *Streptomyces* dan jamur. Tanah juga merupakan tempat interaksi biologis yang paling dinamis dan mempunyai lima komponen utama yaitu mineral, air, udara, zat organik dan organisme hidup dalam tanah antara lain bakteri, *Actinomycetes*, fungi, algae, dan protozoa (Setiadi, 1989).

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Berdasarkan Survey Kesehatan Rumah Tangga tahun 2007, penyebab utama kematian antara lain: 28,1 % disebabkan oleh penyakit infeksi dan parasit, 18,9 % disebabkan oleh penyakit vaskuler, dan 15,7 % disebabkan oleh penyakit pernafasan (Depkes, 1997). Kenyataan ini menunjukkan bahwa penyakit yang disebabkan karena infeksi di Indonesia masih tinggi. Untuk mengatasi masalah ini obat anti infeksi yang berpotensi dan dapat diterima oleh kalangan sosial rendah dan menengah harus segera ditemukan. Hal inilah yang mendorong dan mendasari pencarian sumber obat-obatan alami yang murah dan memiliki potensi aktivitas antimikroba (Kumala & Siswanto, 2007).

Antibiotik merupakan substansi yang dihasilkan oleh mikroba. Dalam konsentrasi rendah, mikroba mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba lain. Peranan mikroba belakangan ini sangatlah menarik untuk diteliti karena mikroba dapat menghasilkan berbagai macam senyawa bioaktif metabolit sekunder yang bermanfaat, salah satunya adalah antimikroba. Antimikroba ini selanjutnya sering dikenal sebagai antibiotik (Lestari, 2001). Setiap antibiotik mempunyai aktivitas penghambatan hanya terhadap grup mikroba spesifik yang disebut spektrum penghambat. Sampai saat ini telah ditemukan lebih dari 3000 antibiotik, namun hanya sedikit saja yang diproduksi secara komersial (Gale 1960). Beberapa antibiotik telah dapat diproduksi dengan kombinasi sintesis mikroba dan modifikasi kimia, antara lain golongan penisilin, sefalosporin, dihidrostreptomisin, klindamisin, tetrasiklin dan rifamisin.

Bahkan ada yang telah dibuat secara kimia penuh misalnya kloramfenikol dan pirolnitrin (Suwandi, 1989). Mikroba penghasil antibiotik meliputi golongan bakteri, *Actinomycetes*, fungi, dan beberapa mikroba lainnya. Kira-kira 70% antibiotik dihasilkan oleh *Actinomycetes*, 20% fungi, dan 10% oleh bakteri. Genus *Streptomyces* merupakan kelompok penghasil antibiotik yang paling besar jumlahnya.

Dewasa ini, fungi patogen telah menyebabkan banyak masalah kesehatan dalam kehidupan manusia. Gangguan tersebut diakibatkan karena fungi patogen tersebut menghasilkan toksin yang berbahaya (Oskay, 2009). Menurut Jewetz

(1993) Upaya mengatasi gangguan mikroorganisme patogen dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa bioaktif khususnya antifungi dan antibakteri, termasuk antibiotik. Antibiotik merupakan substansi kimia yang didapatkan dari berbagai jenis mikroorganisme, di mana pada konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme

Menurut informasi dari Madigan (1997) *Actinomycetes* merupakan kelompok bakteri berfilamen, gram positif dengan GC tinggi berkisar 63-78%. Menurut Suwandi (1989) sekitar 70% dari senyawa bioaktif antibakteri dan antifungi dihasilkan oleh *Actinomycetes*. Menurut Elberson (2000) sendiri *Actinomycetes* merupakan mikroorganisme tanah yang umum dijumpai pada berbagai jenis tanah dengan jumlah populasi yang besar.

Penelitian ini mencoba mengangkat potensi diversitas mikroorganisme gua yang masih sangat sedikit data informasinya di Indonesia. Potensi alamiah yang mengarah kepada bioprospeksi *Actinomycetes* yang berasal dari gua sebagai sumber senyawa bioaktif dapat dilakukan dengan pengujian daya hambat pada fungi patogen uji. Pengujian tersebut dilakukan untuk mengetahui bagaimana senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji. Fungi patogen uji yang dipilih adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis* dan *Candida albicans*, *S. cerevisiae*, *Sacharomyces acetobutilicum*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* dimana mikroorganisme tersebut merupakan

mikroorganisme yang umumnya menyebabkan gangguan kesehatan di masyarakat

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Juli 2012. Pelaksanaan pengambilan sampel dilakukan di Taman Nasional Bantimurung-Bulusaraung. Analisis karakteristik fenotipik dan uji daya hambat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY. Populasi dalam penelitian ini adalah semua *Actinomycetes* yang terdapat di beberapa gua di Taman Nasional Bantimurung-Bulusaraung, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Sampel penelitian ini adalah semua *Actinomycetes* yang dapat diisolasi dan memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif melalui metode *direct screening*. Variabel penelitian ini terdiri dari beberapa parameter yang diukur yaitu parameter lingkungan yang meliputi suhu tanah, suhu udara, kelembapan tanah dan pH tanah. Parameter karakterisasi yang kami ukur adalah miselium aerial, miselium substrat, pigmen terlarut, sifat pertumbuhan. Kemudian untuk uji daya hambat parameter yang diukur zona jernih dengan metode Kirby Bauer dengan melihat diameter zona jernih (mm) diukur menggunakan kaliper. Analisis data, kami memaparkan secara deskriptif dengan bantuan tabel baik dari parameter gua, keanekaragaman *Actinomycetes* dan aktivitas antibiotiknya.

Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pH meter, refraktometer, vortex, water bath, lampuspiritus, *laminar air flow*, Erlenmeyer, petri dish, jarumose, gelasbeker, mikropipet, tip pipet, autoclave, desikator, kertaswhatman no.42, pompa vacuum, magnetic stirrer, labu buhner, tabungreaksi, tabungdurham, kapas, tissue, karet. Bahan yang dibutuhkan adalah Akuadest, media pemeliharaanbakteri (TSA, PDA, MH, TSB, PGY), NaCl fisiologis, SIM, lugol, pati agar, glukosa, galaktosa, maltose, laktosa, inositol, gliserol, peptone, dan yeast extract, mikroorganisme patogen uji.

Prosedur Penelitian

1. Penentuan lokasi dan Pengambilan Sampel
Penelitian ini dilakukan pada gua vertikal dengan wilayah jelajah maksimal 1,5 km. Dengan lokasi titik sampel ditentukan secara acak baik dari dinding gua, stalaktit, stalagmit, sugarstraw, helektit, dan wilayah gua yang kering dan lumayan lembap. Kami melakukan eksplorasi di 13 gua dari 41 gua (Catatan Taman Nasional Bantimurung-Bulusaraung) yang berada di dalam Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros Sulawesi Selatan. Metode Pengambilan Sampel dilaksanakan dengan menggunakan swab steril dengan aseptik dan melakukan secara *streak plate* media *Starch nitrat* agar.
2. Isolasi dan *Direct Screening Actinomycetes*
Isolasi dilakukan dengan menginkubasikan media selama 38 hari, untuk menumbuhkan koloni. Sedangkan *Direct Screening* dilakukan langsung dengan mengamati koloni *Actinomycetes*. Kemudian, kami melakukan *screening* dengan menentukan koloni yang merupakan *Actinomycetes* yang memiliki koloni bersifat lengket, berwarna, memiliki bau tanah (geosmine) dan ada zona hambatnya. Langkah ini diulang bila terjadi kontaminasi.
3. Karakterisasi dan Identifikasi *Actinomycetes*
Karakterisasi dilakukan dengan mengamati morfologi koloni, rantai spora dengan slide culture dan pengecatan gram. Adapun yang sifat yang diamati adalah miselium aerial, miselium substrat, pigmen terlarut, dan sifat pertumbuhan. Menggunakan metode *Matching Profile*, berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* (Holf, 2000).
4. Isolasi Senyawa Bioaktif dari Isolat terpilih
Isolasi senyawa bioaktif dilaksanakan dengan cara memindahkan 10 ml kultur murni kedalam media starch nitrat broth. Inkubasikan pada suhu 28 C selama 48 jam dalam rotary shaker 200-250 rpm. Kemudian sebanyak 10 % starter diinokulasikan ke dalam media starch nitrat broth sebanyak 20 ml. Pemanenan dilakukan pada usia 10 hari dengan menggunakan sentrifugasi sebesar 4.500

**Potensi *Actinomycetes* sebagai Sumber Senyawa Bioaktif Antibiotik
dari Kawasan Karst Bantimurung, Sulawesi Selatan**

rpm selama 30 menit. Supernatan yang mengandung senyawa bioaktif disimpan pada suhu 4 C. (Kumari, 2006).

5. Uji Aktivitas Daya Hambat terhadap Mikroorganisme patogen uji.

Uji aktivitas antibakteri dan antifungi dilakukan dengan menggunakan metode Kirby Bauer atau difusi kertas cakram (Jawetz, 1998). Pengukuran diameter (mm) daya hambat (DDH) di sekitar kertas cakram dengan menggunakan kaliper atau jangka sorong. Kertas cakram dimasukkan ke dalam ekstrak kasar *Actinomycetes* selama 20 menit kemudian diletakkan di tas media Mueller

Hinton Agar, dan Potato Dextrose Agar (PDA), yang masing-masing sudah diinokulasikan bakteri dan fungi patogen. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37 C selama 48 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Keanekaragaman *Actinomycetes* di Gua
- Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di lapangan mengenai keberadaan bakteri golongan *Actinomycetes*, kami melakukan pengukuran parameter lingkungan. Dan hasilnya sebagai berikut :

Tabel 1. Data Parameter Fisik Gua

Nama Gua	Parameter Fisik Lingkungan				
	Koordinat Gua	Kelembaban Tanah (%)	Kelembaban Udara (%)	Suhu Udara (°C)	pH Tanah
Gua Bantimurung	S 05°00'57,7/E119°40'29,2	60	85%	28	5,5
Gua 2	S 05°00'59,2 E119°40'02,9	50%	85%	30	6,8
Gua 3	S 05°00'58,9 E119°40'00,3	50%	93%	30	6,8
Gua 4	S 05°00'58,9E119°40'00,3	60%	93%	29	5,7
Gua 5	S 05°00'56,6 E119°39'58,7	60%	86%	29	5,7
Gua Batu	S 05°00'41,3 E119°41'22,4	100%	93%	28	6,5
Gua Batu Depan	S 05°00'41,6 E119°41'20,7	80 %	97%	28	6,2
Gua Kelelawar	S 05°01'08,8 E119°41'11,0	50 %	89 %	29	6,5
Gua Mimpi	S 05°01'08,8 E119°41'11,0	70 %	96 %	27	6,5
Gua NN	S 05°01'08,9 E119°41'11,8	70 %	96 %	27	6,5
Gua Sulaeman	-	50 %	98 %	28	6,5
Gua Syarifah	-	85 %	94 %	28	6,6
Gua Hamid	-	40 %	95 %	29	6,8

Keterangan : (-) :tidak diukur.

Berdasarkan data di atas, parameter fisik dari gua yang ada di Taman Nasional Bantimurung–Bulusaraung di Kabupaten Maros memiliki rentang yang sangat sempit pada pengamatan kelembaban udara di dalam gua berkisar 85-95%, kelembapan tanah berkisar 40%-90%. Suhu tanah berkisar 28-30°C, pH tanah berkisar 5,5-6,8. *Actinomycetes* merupakan mikroorganisme tanah yang pada umumnya dijumpai pada berbagai jenis tanah, dengan jumlah populasi menempati urutan kedua setelah bakteri lainnya (Kanti, 2005).

Actinomycetes dikenal sebagai bakteri yang berperan dalam siklus biogeokimiawi (Farida, 2008). *Actinomycetes* tidak toleran terhadap asam dan jumlahnya menurun pada pH 5,0. Rentang pH yang paling cocok adalah antara 6,8 dan 8,0. Temperatur antara 25 °C-30°C cocok untuk pertumbuhan *Actinomycetes* (Rao, 1994). Mikroba mempunyai nilai kelembaban optimum. Umumnya untuk pertumbuhan bakteri diperlukan kelembaban yang tinggi diatas 85% sedangkan *Actinomycetes* memerlukan kelembaban yang rendah, yaitu dibawah 80% (Sari, 2009).

Sedangkan menurut penelitian Adetutu (2011), mikroorganisme gua terdiri dari kelompok bakteri antara lain Proteobacteria, Actinobacteria dan Firmicutes. Sedangkan dari kelompok saprofitik seperti *Penicillium*, *Fusarium*, dan *Trichurus*. Komunitas Mikrobia terbentuk secara alami dari kondisi geologi alami gua-gua. Hal ini terjadi karena kondisi-kondisi lingkungan, tanah atau kandungan sedimen, dan faktor penggunaan gua.

Sedangkan menurut penjelasan Barton dan Jurado (2007) Mikroorganisme Gua di dalam proses pemenuhan makanan dalam lingkungan yang terbatas, baik pada gua bersiklus energi rendah maupun tinggi, metabolisme mereka sangat kompleks dalam mengupayakan energi dari komposisi penyusun gua, udara, dan logam dari batubatuan gua. Melalui aktivitas inilah mikroorganisme dalam hal ini *Actinomycetes* dan kelompok proteobakteria memiliki peran penting dalam siklus biogeokimiawi di dalam gua dan terutama pada pembentukan stalagtit dan stalagmit.

Berdasarkan keterangan di atas maka kondisi lingkungan untuk terdapatnya *Actinomycetes* di dalam gua yang kami eksplorasi sesuai. Adapun mikroorganisme yang ditemukan berdasarkan hasil isolasi dari beberapa gua di Taman Nasional Bantimurung-Bulusaraung adalah seperti tabel 2.

Berdasarkan tabel 2 di samping, setiap gua tidak memiliki jumlah koloni *Actinomycetes* yang sama. Ciri khas dari koloni *Actinomycetes* didasarkan pada koloni yang tumbuh pada penampakan kasar, kering, miselium vegetatif miselium aerial dan memiliki bau tanah basah karena adanya senyawa geosmine. Pada gua yang dieksplorasi total, isolat yang diduga *Actinomycetes* pada hari ke 36 dalam media starch nitrat berjumlah 73 koloni, dengan berbagai penampakan makroskopisnya. Sedangkan kami pada penelitian ini menggunakan metode *skringing* langsung pada media isolasi dan mengamati ada tidaknya zona jernih pada koloni yang diduga

**Potensi *Actinomycetes* sebagai Sumber Senyawa Bioaktif Antibiotik
dari Kawasan Karst Bantimurung, Sulawesi Selatan**

Tabel 2. Jumlah Isolat *Actinomycetes* dan Skrining Langsung (*Direct Screening*) Potensi Kemampuan Menghambat yang Berhasil Diisolasi dari Gua

Nama Gua	Jumlah Koloni Yang Diduga <i>Actinomycetes</i> (H-35)	Jumlah Isolat Membentuk Zona Hambat Terhadap Mikroba Lain Pada Media Starch Nitrat (H-45)
Gua Bantimurung	8	2
Gua 2	5	1
Gua 3	7	2
Gua 4	14	0
Gua 5	10	2
Gua 6	4	2
Gua Batu Depan	1	1
Gua Kelelawar	0	0
Gua Mimpi	0	0
Gua NN	1	0
Gua Sulaman	3	2
Gua Syarifah	19,18%	1
Gua Haridikasikan	2	1
Total Isolat	73	14 (19,18 %)

Actinomycetes tersebut. Pada hari ke 45 pengamatan, terdapat koloni yang mampu membentuk zona hambat mikroba pada pertumbuhan koloninya dan koloni tersebut bioaktif berupa antibiotik.

2. Karakterisasi *Actinomyces* Terpilih

Tabel 3. Karakter Fenotipik *Actinomyces* Terpilih

Kode Isolat	Miselium Aerial	Pigment Terlarut	Miselium Substrat	Dugaan Grup
GB.2.1	Cokelat	Hitam	Hitam	<i>Streptomyces</i>
GH.2.34	Abu-abu	Hitam	Pink	<i>Streptomyces</i>
GT.2.3	Abu-abu	Merah	Abu-abu	<i>Streptomyces</i>
G3.2.4	Putih	Pink	Pink	<i>Streptomyces</i>
G45.2.5	Abu	Merah	Pink	<i>Streptomyces</i>
G45.2.6	Putih	Hitam	Putih	<i>Streptomyces</i>
G8.2.17	Cokelat	Merah	Merah	<i>Streptomyces</i>
G7.2.28	Abu-abu	Merah	Merah	<i>Streptomyces</i>
G6.2.9	Hitam	Merah	Merah	<i>Streptomyces</i>
G51.2.33	Hitam	Merah	Putih	<i>Streptomyces</i>
G1.2.35	Abu	Merah	Putih	<i>Streptomyces</i>
G3.2.66	Putih	Pink	Merah	<i>Streptomyces</i>
G4.2.60	Hitam	Hitam	Merah	<i>Streptomyces</i>
GSY.2.54	Putih	Merah	Merah	<i>Streptomyces</i>

Berdasarkan morfologi sel dan karakteristik fenotipik, semua genus dari isolat tersebut merupakan grup dari *Streptomyces*. Koloni *Streptomyces* pada media buatan licin atau seperti liken, keras dan bertekstur padat, muncul perlahan, konsistensi berbutir dan melekat erat pada permukaan medium agar (Waksman, 1967; Rao, 1994).

Actinomyces diklasifikasikan berdasarkan komposisi kimiawi dinding sel, komposisi keseluruhan gula (untuk mendiagnostik kelompok *Actinomyces*), hibridisasi ADN dan ARN (melihat kekerabatan diantara *Actinomyces* yang memiliki genotif serupa). Beberapa kelompok (genera) *Actinomyces* adalah *Micromonospora*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Streptosporangium*, dan *Thermo*

Actinomyces (Holt et al, 1994).

Gambar 1. Bentuk koloni *Actinomyces* yang dapat membentuk daerah hambatan dengan koloni lainnya pada waktu direct screening di media Starch Nitrat Agar

Secara fisiologis *Actinomyces* berbeda dengan bakteri pada umumnya. *Actinomyces* dapat memproduksi sejumlah besar enzim ekstraseluler dan juga ribuan produk metabolit sekunder. *Actinomyces* dapat menghasilkan pigmen terlarut pada media cair, antara lain pigmen merah, jingga, hijau, kuning, biru dan ungu (Sivakumar; 2009)

Actinomyces merupakan bakteri yang umum ditemukan di tanah, tetapi ada yang ditemukan hidup di ekosistem laut, mangrove, di dalam daun dan ekosistem lainnya. *Actinomyces* aktif mendekomposisi material organik dan berperan penting dalam proses mineralisasi sehingga dapat meningkatkan kesuburan tanah. Bakteri ini dapat mendegradasi senyawa seperti lignin, selulosa, khitin, pectin, lateks dan bahkan senyawa alcohol dan aromatic (Prescott.,2008).

Selain itu, pembentukan miselia aerial dan sporulasi merupakan salah satu tahap penting dalam siklus hidup *Streptomyces* (Abee,1994). Menurut Miyadoh dan Otaguro (2004) Spora *Actinomyces* akan berkembang menjadi miselium dan koloni apabila nutrisi, kelembapan dan suhu, serta kondisi lainnya memenuhi untuk kehidupan. Isolat terpilih yang berasal dari penelitian ini menunjukkan bahwa *Actinomyces* gua cenderung memiliki warna miselium aerial yang berwarna putih, abu-abu, merah dan hitam dengan pertumbuhan koloni yang relatif lambat.

Actinomyces khususnya *Streptomyces* dikarakterisasi dengan pertumbuhan koloni

yang spesifik. Koloni *Actinomyces* bukan akumulasi dari kumpulan sel-sel tunggal dan seragam seperti halnya bakteri, melainkan bentuk masa filamen bercabang (Locci *et al.* 1983). Koloni yang tumbuh pada medium padat tersusun secara vegetatif dan dengan miselia berantena atau bersungut.

Pada koloni yang belum tumbuh miseliana, permukaan koloni terlihat mengkilap. Pada genus *Streptomyces*, miselium tumbuh secara luas menempel pada medium padat dan keseluruhan unit mudah diambil dengan kawat Ose (Cross 1982). Kebanyakan *Streptomyces* mengeluarkan bau yang khas seperti tanah. Asam asetat, acetaldehida, etanol, isobutanol, dan isobutil asetat sekarang ini sudah diidentifikasi sebagai aroma senyawa utama yang dihasilkan oleh *Streptomyces*. Bahkan hidrogen sulfida dipercaya berperan dalam pembentukan aroma tanah yang dikeluarkannya (Goodfellow 1983).

Miselium vegetatif *Actinomyces* berbentuk hifa non-septat yang panjang. Beberapa hifa membentang dan panjangnya lebih dari 600 μm , bercabang, melengkung/meliuk-liuk, dan cabangnya berbentuk monopodial. Miselium vegetatif memiliki karakteristik berwarna, seperti kuning, oranye, merah, hijau, coklat, atau hitam. Apabila terlarut dalam air, pigmen akan dikeluarkan dalam medium (Cross 1982).

Perbedaan daya hambat menggambarkan perbedaan kemampuan dari masing-masing isolat untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pesaing. Perbedaan ini diduga dipengaruhi

oleh jenis, jumlah, dan kualitas dari antibiotik atau zat lain yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp. Dalam menghambat mikroorganisme pesaing. Hwang dan Ahn (1993) melaporkan *Streptomyces* sp. dapat menghasilkan satu atau dua antibiotik

Beberapa jenis *Actinomycetes* memiliki miselium aerial. Miselium aerial merupakan bentuk dan struktur dari miselium vegetatif. Miselium aerial muncul dari substrat miselium dan menutupi seluruh koloni, sehingga terlihat seperti kapas atau tepung. Miselium aerial ada yang bersifat steril dan ada yang fertil. Hifa steril umumnya tipis dan menunjukkan tidak adanya penambahan diameter. Hifa sporogenous awalnya tipis tetapi pada tahap akhir perkembangannya menjadi lebih tebal. *Fertil aerial micellium* mengandung spores yang berbentuk

panjang, lurus atau bengkok. Hifa pendek memberikan permukaan koloni yang mirip tepung, sementara hifa panjang menunjukkan permukaan menyerupai kapas. Karakteristik *aerial micellium* lain dari *Streptomyces* adalah pigmentasi yang dapat memiliki warna dari putih atau abu-abu sampai ke kuning, oranye, lavender, biru, dan hijau, sehingga sering disebut sebagai "*colour wheel*" (Locci *et al.* 1983)

3. Aktivitas Daya Hambat Terhadap Mikroorganisme Patogen Uji Dari Isolat Terpilih

Pengukuran ini kami laksanakan pada hari kesepuluh dari hari fermentasi dan mengambil ekstrak kasar dari supernatan pada media *starch nitrat broth*. Adapun hasilnya adalah seperti Tabel 4.

Tabel 4.

Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Isolat Terpilih Terhadap Mikroorganisme Patogen Uji

No.	Kode Isolat	<i>P.</i>	<i>C.</i>	<i>C.</i>	<i>S.</i>	<i>S.</i>	<i>E.</i>	<i>A.</i>
		<i>Aeruginosa</i>	<i>Utilis</i>	<i>Albicans</i>	<i>Cerevisiae</i>	<i>Acetobutlicum</i>	<i>Coli</i>	<i>Flavus</i>
Diameter Penghambatan (mm)								
1	GB.2.1	9	10	12	9,5	9	10	9
2	GH.2.34	5	6	7,5	7	5,5	8,5	7
3	GT.2.3	6	6	8	8,5	6	8	6,5
4	G3.2.4	5	7	6	9	5,5	6	5,5
5	G45.2.5	5	9,5	7	10,5	5	9	5
6	G45.2.6	6,5	7	8	5	8,5	6	8,5
7	G8.2.17	10	11	7	9,5	10	7	10,5
8	G7.2.28	7,5	10	12	9	6,5	6	3
9	G6.2.9	10	11	12	7	10	7	10
10	G5.2.33	8,5	5	8,5	7,5	8,5	12	8,5
11	G1.2.35	7	6	7,5	7	7	7	7
12	G3.2.66	6	7,5	6	6,5	6,5	8,5	6,5
13	G4.2.60	8,7	10,5	8,7	8	8,7	8	8,7
14	GSY.2.54	8	6,5	5,5	8	7	6	5

Berdasarkan hasil tabulasi pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa kemampuan daya hambat ekstrak kasar isolat *Actinomycetes* dari gua memiliki kemampuan yang berbeda-beda terhadap mikroorganisme patogen uji. Pada tabel di atas daya hambat tertinggi dijumpai pada isolat G5.2.33 dengan besar diameter penghambatan sebesar 12 mm pada mikroorganisme *E. Coli*. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: sifat mekanisme penghambatan, konsentrasi senyawa bioaktif yang berbeda, fase pertumbuhan dan sifat antibiotik.

Masing-masing isolat yang ada, memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri maupun fungi patogen sehingga dapat dilihat bahwa *Actinomycetes* gua memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa antibiotik. Interpretasi metode Kirby Bauer (Prescott, 2008) menjelaskan bahwa daya hambat minimum yang baik atau nilai MIC optimum berkisar antara 12-17 mm. Hasil tertinggi aktivitas antibakteri terhadap mikroorganisme patogen uji pada penelitian ini, merupakan daya hambat minimum. Daya hambat minimum (MIC) merupakan daya hambat yang baik untuk aktivitas antibakteri dan antifungi, karena tidak mengganggu aktivitas metabolisme manusia. Sedangkan dari daya hambat ekstrak kasar isolat terpilih, dimungkinkan menghasilkan daya hambat yang baik dan memiliki kemampuan sebagai penghasil antibiotik yang memiliki kualitas yang baik dalam daya hambatnya.

Untuk pengisolasian *Actinomycetes* yang menghasilkan senyawa bioaktif, konsentrasi pengkajian harus dipusatkan pada lingkungan yang ekstrim atau belum

ada pengkajiannya. Habitat Gua menghadirkan kondisi kehidupan ekstrim oleh karena kandungan materi nutrisi yang tingkatnya rendah. Hal ini, telah menyebabkan kompetisi mikroorganisme dalam memenuhi kebutuhan nutrisinya yang rendah dengan menghasilkan produksi zat antibiotik dan enzim hidrolisis. Sebagai contoh, *Actinomycetes* memproduksi zat antifungi yang telah diisolasi dalam suatu laporan penelitian yang menyatakan bahwa zat antifungi relatif tinggi dibandingkan dengan *Actinomycetes* yang diisolasi di lingkungan terestrial tanah (Kim,1998)

Faktor-faktor yang mempengaruhi penghambatan mikroorganisme oleh antibiotik adalah kepadatan populasi mikroorganisme, kepekaan terhadap bahan antimikrobia, lamanya bahan antimikrobia diaplikasikan pada mikroorganisme, konsentrasi bahan antimikrobia, suhu dan kandungan bahan organik (Lay, 1994). Antibiotik mengganggu bagian-bagian yang peka di dalam dinding sel.

Menurut Pelczar (1988) cara kerja zat antimikroba dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut: *Pertama*, merusak dinding sel. Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel. Dinding sel ini berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan menahan sel, dinding sel bakteri tersusun atas lapisan peptidoglikan yang merupakan polimer kompleks yang terdiri atas rangkaian asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat yang tersusun secara bergantian. Keberadaan lapisan peptidoglikan ini menyebabkan

dinding sel bersifat kaku dan kuat sehingga mampu menahan tekanan osmotik dalam sel yang kaku. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau dengan mengubahnya setelah selesai dibentuk. Pada konsentrasi rendah, bahan antimikroba yang ampuh akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel baru terganggu. Selanjutnya dijelaskan bahwa pada konsentrasi tinggi bahan antimikroba akan menyebabkan ikatan glikosida menjadi terganggu dan pembentukan dinding sel terhenti.

Kedua, kelangsungan hidup sel sangat tergantung pada molekul-molekul protein dan asam nukleat. Hal ini menunjukkan bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antimikroba yang dapat mendenaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki lebih lanjut. *Ketiga*, sitoplasma dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sitoplasma berfungsi mengatur keluar masuknya bahan-bahan tertentu dalam sel. Proses pengangkutan zat-zat yang lebih diperlukan baik ke dalam maupun ke luar sel kemungkinan karena di dalam membran sel terdapat protein pembawa (*carrier*), di dalam membran sitoplasma juga terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Apabila fungsi membran sel terganggu oleh adanya bahan antimikroba, maka

permeabilitas sel bakteri akan mengalami perubahan, sehingga akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel.

Di dalam sel terdapat enzim protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lain, umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relatif rendah.

Dengan demikian kerja enzim yang terhambat akan menyebabkan proses metabolisme terganggu, sehingga aktivitas sel bakteri akan terganggu. Hal ini dapat menyebabkan sel bakteri hancur dan akan mati. DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik dapat menghambat sintesis protein. Apabila keberadaan DNA, RNA dan protein mengalami gangguan atau hambatan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel sehingga proses kehidupan sel terganggu.

Ketidaksamaan isolat yang mempunyai diameter zona hambat terbaik pada ketiga mikroba uji bisa disebabkan karena jenis metabolit antimikroba yang dihasilkan pada masing-masing isolat juga berbeda. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Siswandono (1995) bahwa antibiotik mempunyai spesikasi dalam efektifitasnya. Antibiotik dapat dikelompokkan berdasarkan tempat kerja spektrum aktivitas dan struktur kimianya.

Dijelaskan lebih lanjut oleh Siswandono (1995) bahwa metabolit antimikroba dari *Actinomycetes* merupakan antibiotika dengan spektrum luas yaitu, efektif baik terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Sedangkan kecilnya diameter zona hambat yang dihasilkan pada *C. Albicans* bisa disebabkan karena metabolit yang dihasilkan merupakan antibiotika yang tidak aktif terhadap jamur (antijamur).

Menurut Bonang (1982) antibiotika Ampisilin pada batang Gram negatif dinyatakan peka, jika mempunyai diameter zona hambat sebesar 14 mm atau lebih pada batang Gram negatif dan 29 mm atau lebih pada Stafilokokus, Penisilin G dengan diameter zona hambat 29 mm atau lebih, Streptomisin dengan diameter zona hambat 15 mm atau lebih dan Vankomisin dengan diameter zona hambat 12 mm atau lebih.

Berdasarkan data Bonang di atas. Ekstrak kasar isolat *Actinomycetes* terpilih masih rendah daya hambatnya dibandingkan dengan antibiotik komersial. Hal ini disebabkan karena ekstrak kasar belum mengalami purifikasi antibiotik sehingga belum diketahui jelas jenis antibiotik dari *Actinomycetes* gua ini, serta aktivitasnya masih rendah.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Simpulan dari penelitian kami sebagai berikut :

1. Keanekaragaman *Actinomycetes* yang

berhasil diisolasi dan memiliki potensi sebagai penghasil antibiotik sebanyak 14 isolat atau 19,18 % dari total isolat yang berhasil diisolasi. Sedangkan kondisi parameter fisik gua di beberapa gua di Taman nasional Bantimurung-Bulusaraung memiliki karakteristik speleothem yang unik dengan faktor udara dan tanah mendukung untuk kehidupan *Actinomycetes*.

2. Sedangkan karakteristik fenotipik isolat terpilih yang berhasil diamati adalah miselum aerial, miselium substrat, pigmen terlarut, pertumbuhan rantai spora. Berdasarkan karakteristik yang ada semua isolat merupakan golongan *Streptomyces*.
3. Ekstrak kasar isolat *Actinomycetes* terpilih mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen uji *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis* dan *Candida albicans*, *S. cerevisiae*, *Sacharomices acetobutlicum*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* dengan memiliki diameter penghambatan berbeda-beda yang berkisar dari 5 mm-12 mm.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan purifikasi antibiotik dari ekstrak kasar isolat *Actinomycetes* guna mengetahui jenis antibiotik yang dihasilkan. Selain itu, perlu pula dilakukan penelitian mengenai kualitas dari antibiotik yang dihasilkan dari aktivitas *Actinomycetes* sehingga nantinya, antibiotik dari *Actinomycetes* dapat menjadi alternatif pilihan antibiotik selain yang sudah ada di pasaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Adetutu E.M., Thorpe K., Bourne S., Cao X., Shahsavari E., Kirby G. & Ball A.S., 2011 - *Phylogenetic Diversity of Fungal Communities in Areas Accessible and not Accessible to Tourists in Naracoorte Caves*. Mycologia
- Badji, B., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., and Sabaou, N., 2006. *Antimicrobial Compounds Produced by Actinomadura sp AC104 Isolated from an Algerian Sahara Soil*. Can J of Mic.
- Balai Taman Nasional Bantimurung Bulusaraung. 2008. *Statistik Tahunan 2007 Balai Taman Nasional Bantimurung Bulusaraung*. Balai Taman Nasional Bantimurung Bulusaraung. Maros. Tidak dipublikasikan.
- Barton H.A., 2006- *Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist*. Journal of Cave and Karst Studies, 68: 43-54. Barton H.A. & Jurado V., 2007 - *What's up down there? Microbial diversity in caves*. Microbe.
- Bredy, J. (2005). *Bioactive microbial metabolites a personal view-Antibiotics* Journal (No. 58 tahun 2006)
- Deharveng, et al. 2007. *Zoological Investigations in The Karst of South and Southeast Sulawesi. Project Report*. Museum National d'Histoire Naturelle de Paris. Paris. Unpublished.
- Gibson, J. M., 1998, *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat*, Cetakan Pertama, Alih Bahasa Somaprasada, I. K. G. Jakarta Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, E, et al. (1993). *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Tonang H. EGC. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Edisi XXII, 352. Jakarta: Salemba Medika.
- Ko, R.K.T. 2001. *Kawasan Karst Maros-Pangkep, Nilai Lebihnya dalam Bidang Non Pertambangan*. Prosiding Simposium Karst Maros-Pangkep: Menuju Perlindungan dan Pemanfaatan Kawasan Karst Maros-Pangkep sebagai World Heritage di Era Otonomi Daerah. Badan Pengendalian Dampak Lingkungan Regional III. Makassar.
- Madigan MT, Martikno JM dan Parker J. 1997. *Biology of Microorganism*. Prentice Hall International: New Jersey.
- Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR. 1993. *Microbiology, Concepts and Application*. New York: Mc.Graw Hill.
- Rao, N. S. S., 1994, *Mikrobiologi Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*, diterjemahkan oleh Susilo, H. Jakarta: UI Press.
- Siswandi, U. 1992. "Mekanisme Kerja Antibiotik". *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* Nomor 76 tahun 1992.
- Tortora, G.J, Funke, B.R., dan Chase, C.L. (2004). *Microbiology an Introduction*. 8th.Ed. San Fransisco: Pearson Benjamin Cumming.