

**POTENSI ANTIBIOTIK ISOLAT RARE ACTINOMYCETES
DARI MATERIAL VULKANIK GUNUNG MERAPI ERUPSI TAHUN 2010**

**POTENTIAL OF ANTIBIOTICS ISOLATES RARE ACTINOMYCETES
OF THE MOUNT MERAPI VOLCANIC MATERIAL ERUPTION IN 2010**

Triastuti Rahayu

Prodi Pendidikan Biologi FKIP UMS, Surakarta

E-mail : trias.wahyu@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dan menentukan potensi antibiotik isolat *rare Actinomycetes* yang sudah diperoleh dari material vulkanik Gunung Merapi DIY erupsi tahun 2010 terhadap *S. aureus*. Penelitian dilakukan untuk skrining primer antibiotik isolat *Rare Actinomycetes* yang sudah diperoleh dengan metode *agar block*. Isolat *Rare Actinomycetes* (isolat A-J) dari media *oatmeal agar* diambil dengan *sterile cork borer* ukuran 6 mm kemudian diletakkan di atas biakan bakteri uji (*S. aureus*), selanjutnya diinkubasi selama 24 jam 37°C. Potensi antibiotik ditentukan dengan cara mengukur diameter zona hambat di sekitar *agar block*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada 5 (lima) isolat *Rare Actinomycetes* berpotensi antibiotik "sedang" dan 5 (lima) isolat berpotensi "kuat" yaitu isolat B, D, H, I dengan diameter zona hambat 12,5 mm, sedangkan isolat F 13,7 mm.

Kata kunci : *Rare Actinomycetes*, Antibiotik, *S. aureus*

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine and define the potential antibiotic rare *Actinomycetes* isolates was obtained from material of Mount Merapi volcanic eruption in 2010 against *S. aureus*. The research was conducted for the primary screening of antibiotics *Rare Actinomycetes* isolates that have been obtained by *agar block* method. *Rare Actinomycetes* isolates (isolates A-J) in media *oatmeal agar* were taken with *sterile cork borer* size 6 mm and then placed on bacterial culture test (*S. aureus*). And then incubated for 24 hours 37°C. Antibiotic potency is determined by measuring the diameter of zone of inhibition around the *agar block*. The result showed that there are five (5) *Rare Actinomycetes* isolates potential as antibiotics "moderate" and five (5) isolates potentially "strong", that is isolates B, D, H, I by inhibition zone diameter of 12.5 mm, while the isolates F 13.7 mm.

Kata kunci : *Rare Actinomycetes*, Antibiotik, *S. Aureus*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, dan protozoa. Pengobatan yang sering digunakan untuk mengobati infeksi tersebut adalah penggunaan antibiotik, tetapi sekarang telah banyak mikroorganisme yang mengalami resistensi terhadap antibiotik. Kira-kira 70% antibiotik dihasilkan oleh *Actinomycetes*, 20% fungi dan 10% oleh bakteri (Suwandi, 1989).

Sebagian besar anggota *Actinomycetes* hidup bebas, tersebar luas di tanah, air, dan berasosiasi dengan tanaman tingkat tinggi (rizosfer). Pada tanah yang miskin unsur hara atau lingkungan yang ekstrim, *Actinomycetes* tumbuh dalam jumlah yang kecil (*rare Actinomycetes*) dan mempunyai kemampuan memproduksi senyawa bioaktif termasuk senyawa antibiotik yang bermanfaat (Gathogo, et al., 2004; Zotchev, 2004). Pada penelitian yang sudah dilakukan Rahayu dan Astuti (2013) diperoleh 18 isolat *rare Actinomycetes* dari material vulkanik Merapi erupsi Bulan Oktober-November 2010 tetapi belum diketahui potensi antibiotiknya.

Material vulkanik Merapi tersebut berupa pasir dan abu vulkanik yang mengandung silika (SiO) dan besi (FeO) tinggi yang sangat bagus untuk bangunan karena belum mengalami pelapukan (Jiputro, 2010), tetapi di beberapa tempat material vulkanik tersebut masih panas dan mengeluarkan gas belerang yang sangat pekat. Keadaan tersebut menyebabkan material vulkanik Merapi belum



dapat digunakan sebagai pupuk (Nasution, 2010) sehingga diharapkan dapat diperoleh isolat-isolat *rare Actinomyetes* yang potensial menghasilkan antibiotik dan memperkaya keanekaragaman hayati khususnya di daerah erupsi gunung berapi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dan menentukan potensi antibiotik dari isolat *Rare Actinomyetes* yang sudah diperoleh.

METODE PENELITIAN

Bahan : Isolat *Rare Actinomyetes* dari material vulkanik Merapi, larutan Ringer Laktat (OTSU) untuk pengenceran, antijamur nistatin (CANDISTIN) untuk mencegah pertumbuhan jamur, medium *Oatmeal agar* untuk menumbuhkan spora, *S. aureus* sebagai bakteri uji, media *Nutrien Agar*.

Alat-alat yang digunakan : Dalam penelitian ini alat yang digunakan adalah *waterbath*, autoklaf, *sterile cork borer*, *Laminar Air Flow cabinet*, oven, *vortex*, inkubator, mikropipet dan tips, tabung reaksi (PYREX), *petridisk* (PYREX), bunsen, ose, mikroskop, tusuk sate steril, obyek gelas, pipet ukur, gelas ukur, *spreader glass*.

Sterilisasi alat dan bahan perlu dilakukan agar tidak terjadi kontaminasi yang dapat merusak hasil uji. Alat-alat gelas (tabung reaksi, *petridisk*, gelas ukur, *spreader glass*) dan tusuk sate disterilkan dengan oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Alat-alat tersebut harus dalam keadaan kering dan tidak terdapat titik-titik air agar tidak timbul noda yang sulit dihilangkan setelah disterilkan. Tabung reaksi disumbat dengan kapas secukupnya, labu takar, tusuk sate dan alat-alat gelas lainnya dibungkus kertas dengan rapat. Untuk media, akuades, *blue tips* dan *yellow tips* disterilkan dengan autoklaf (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan untuk digunakan lain waktu tetapi harus dalam keadaan tertutup rapat. Obyek gelas, *spreader glass* dan *steril cork borer* dipanaskan di atas nyala api bunsen, sterilisasi dilakukan sesaat sebelum digunakan.

Pembuatan Media

- a. **Oatmeal agar** : Seribu ml *Oatmeal mixture* ditambah 1,0 ml *trace salt solution stock* kemudian pH ditepatkan 7,2 dengan penambahan NaOH kemudian ditambah agar dan diautoklaf 121°C selama 20 menit. Pembuatan *Oatmeal mixture* (Dua puluh gram Quacker oatmeal dimasukkan dalam 1000 ml akuades dan dimasak selama 20 menit kemudian disaring dengan kain kassa dan ditepatkan menjadi 1000ml dengan penambahan akuades). Pembuatan *Trace salt solution stock* (FeSO₄.7H₂O 0,1g, MnCl₄.4H₂O 0,1g, ZnSO₄.7H₂O 0,1g dimasukkan dalam 100 ml akuades kemudian larutan diautoklaf 121°C selama 20 menit dan disimpan pada suhu 4°C).
- b. **Media *sabouroud dextrose agar*** : Sepuluh gram *mycological peptone*, 40g glukosa dan 15g agar dilarutkan dalam 1000 ml akuades kemudian diautoklaf 121°C selama 20 menit.

Skринing *Streptomyces* yang berpotensi menghasilkan antimikrobia

Penentuan aktivitas antibiotik dengan metode *agar block*. Untuk metode *agar block*, isolat dari media *oatmeal agar* dibuat blok menggunakan *sterile corkborer* diameter 6 mm kemudian diletakkan pada medium NA yang sudah diinokulasi organisme uji. Organisme uji yang digunakan adalah *S. aureus*. Inkubasi pada saat skринing antimikrobia adalah 37°C 24 jam.

Penyiapan Suspensi Bakteri Uji

Diambil beberapa koloni bakteri dari biakan murni menggunakan ose steril, kemudian ditanam pada medium NA dan diinkubasi 37°C selama 18-24 jam. Dengan ose steril diambil koloni lalu ditanam pada 2 mL BHI cair dan diinkubasi selama 4-8 jam. Setelah itu diencerkan dengan akuades steril sehingga mempunyai kekeruhan yang sesuai dengan standard Mc. Farland (10⁸ CFU/mL).

Potensi antimikrobia diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar *agar block*. Penentuan potensi antimikrobia berdasar Stout (2003) :

Potensi Antimikrobia	Diameter Hambatan
Sangat kuat	: 20 mm atau lebih
Kuat	: 10-20 mm
Sedang	: 5-10 mm
Lemah	: kurang dari 5 mm



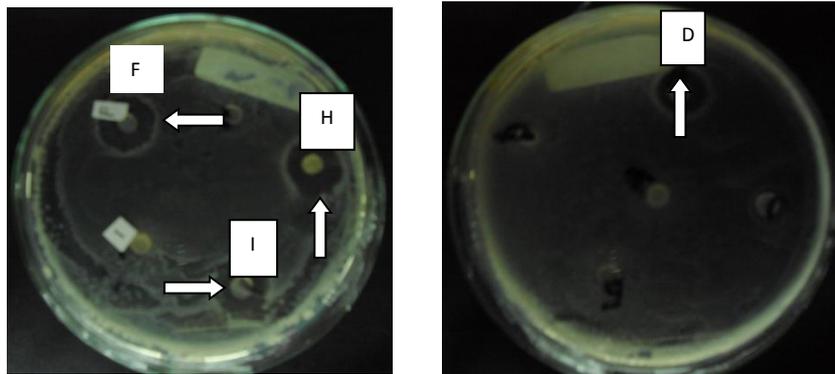
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil skrining antibiotik isolat Actinomycetes dari material vulkanik Gunung Merapi erupsi tahun 2010 yang berupa pasir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil uji diameter zona hambat isolat Actinomycetes strain A-J terhadap bakteri *S. aureus*

Strain Actinomycetes	Diameter zona hambat (mm)		Potensi Antibiotik
	<i>S. aureus</i>		
A	6		Sedang
B	12,5		Kuat
C	9		Sedang
D	12,5		Kuat
E	6,5		Sedang
F	13,7		Kuat
G	8		Sedang
H	12,5		Kuat
I	12,5		Kuat
J	10		Sedang

Dari Tabel 1 terlihat bahwa isolat Actinomycetes yang sudah diisolasi menghasilkan suatu senyawa yang dapat menghambat/mematikan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Isolat B, D, F, H, dan I dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur dengan kisaran potensi antimikrobia "sedang" – "kuat" (Gambar 1).



Gambar 1. Diameter zona hambat isolat Actinomycetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya yang telah berhasil mendapatkan isolat Actinomycetes dari material vulkanik Gunung Merapi erupsi tahun 2010. Langkah awal dalam penelitian ini yaitu subkultur 15 isolat Actinomycetes yang telah berhasil didapatkan oleh Rahayu dkk (2010). Kelima belas isolat Actinomycetes ditumbuhkan pada media *oatmeal agar* dengan metode gores (*streak plate methods*) menggunakan tusuk sate steril. Media *oatmeal agar* dibuat dengan penambahan nistatin yang bertujuan untuk menghindari kontaminasi oleh jamur, selanjutnya diinkubasi didalam oven inkubator suhu 27°C selama 21 hari. Dari 15 Actinomycetes yang disubkulturkan, diperoleh 10 isolat Actinomycetes yaitu strain A-J.

Actinomycetes merupakan organisme tanah (Rao, 1994), merupakan bakteri gram positif, filamentus (Jawetz *et al.*, 2001). Berdasarkan dari hasil subkultur dapat diketahui bahwa masing – masing Actinomycetes mempunyai karakteristik yang berbeda-beda. Menurut Burges dan Raw (1967) dan Holt *et al.* (1994) dalam Indriasari (2000), warna yang muncul pada koloni Actinomycetes terjadi karena pigmentasi sehingga diperoleh warna yang berbeda dari satu jenis dengan jenis lainnya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *agar block*, yaitu dengan meletakkan *agar block* Actinomycetes di atas permukaan media *nutrient agar* yang telah diinokulasi suspensi *Staphylococcus aureus*. Tabel 1 memperlihatkan bahwa isolat Actinomycetes mempunyai potensi antibiotik "sedang" dan "kuat". Dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk, terdapat lima (5) isolat yang mampu menghambat "kuat" terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Isolat

yang mempunyai zona hambat “kuat” yaitu strain B, D, F, H, dan I dengan diameter zona hambat sebesar 12,5 mm kecuali isolat F sebesar 13,7 mm.

Penentuan kekuatan atau potensi antibiotik suatu isolat berpotensi sangat kuat, kuat, sedang dan lemah didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh David Stoud (2003) dalam Hasyim yang menyatakan bahwa ketentuan kekuatan antibiotik antibakteri dapat ditentukan sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih memiliki potensi antibiotik “sangat kuat”, daerah hambatan 10 mm – 20 mm memiliki potensi antibiotik “kuat”, daerah hambatan 5 mm – 10 mm memiliki potensi antibiotik “sedang” dan daerah hambatan 5 mm atau kurang memiliki potensi antibiotik lemah.

Zona bening di sekitar *agar block* Actinomycetes menunjukkan adanya antagonisme senyawa yang dihasilkan isolat Actinomycetes terhadap bakteri uji. Semakin luas diameter zona hambatnya, maka semakin besar pula potensi antibiotik yang dihasilkan (Gambar 1).

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. aureus* sensitif antibiotik yang merupakan kelompok bakteri Gram positif. Apabila dibandingkan dengan penelitian Syafi (2013) yang juga menguji potensi antibiotik isolat Actinomycetes yang sama terhadap *S. aureus* resisten antibiotik terlihat bahwa semua isolat Actinomycetes lebih mudah mematikan pertumbuhan *S. aureus* yang sensitif antibiotik (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena pada bakteri yang resisten antibiotik sudah mengalami mutasi sehingga bakteri tersebut menjadi kebal atau sulit dimatikan oleh antibiotik.

Tabel 2. Perbandingan Diameter Zona Hambat Isolat Actinomycetes Strain A-J Terhadap *S. aureus* sensitif dan Resisten Antibiotik

Strain Actinomycetes	Diameter Zona Hambat (mm) <i>S. Aureus</i>	
	Sensitif Antibiotik	Resisten Antibiotik
A	6	6,6
B	12,5	10,6
C	9	7
D	12,5	7,3
E	6,5	6,6
F	13,7	9
G	8	7,3
H	12,5	10
I	12,5	9,6
J	10	7,6

Sumber : Syafi, M. 2013

Penggunaan antibiotik sebagai antiinfeksi yang berlebihan dan kurang terarah akan mendorong terjadinya perkembangan resistensi. Resistensi adalah salah satu sifat tidak terganggunya sel mikroba oleh antimikroba. Hal ini merupakan proses atau mekanisme alamiah yang dilakukan oleh mikroba untuk mempertahankan kehidupannya (Ganiswara, 1995 dalam Rahayu, 2006). Antibiotik merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang dalam jumlah kecil mampu menghambat pertumbuhan organisme lain (Pelczar dan Chan, 2007). Antibiotik memegang peranan penting khususnya dalam menanggulangi berbagai penyakit infeksi, tetapi dalam penggunaannya harus hati-hati.

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat *Rare Actinomycetes* yang diisolasi dari material vulkanik Gunung Merapi DIY erupsi tahun 2010 mempunyai kemampuan antibiotik “sedang” dan “kuat” terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Isolat B, D, H, I mempunyai kemampuan antibiotik “kuat” dengan diameter zona hambat 12,5 mm, sedangkan isolat F zona hambatnya 13,7 mm.

Perlu dilakukan eksplorasi untuk mendapatkan isolat *Rare Actinomycetes* karena potensial menghasilkan senyawa antibiotik.



DAFTAR PUSTAKA

- Fiedler, H.P., Bruntner, C., Bull, A.T., Ward, A.C., Goodfellow, M., Potterat, O., Puder, C dan Mihm, G. 2005. Marine Actinomycetes as a Source of Novel Secondary Metabolites. *Jurnal Antonie van Leeuwenhoek*.ISSN 0003-6072.
- Jadambaa, N. 2006. *Identification of Rare Species of Actinomycetes in Soils of Mongolia*. Lab Microbiology. Mongolia : Biology Institute of the Mongolian Academy of Sciences.
- Jiputro. 2010. *Pasir dan Abu Vulkanik Baik Bagi Tanah dan Bernilai Jual*.<http://jiputro.net/top-news/pasir-dan-abu-vulkanik-baik-bagi-tanah-dan-bernilai-jual>.Diakses 9 Januari 2011.
- Nasution, A. 2010. *Sisi Lain Letusan Merapi Pasir dan Abu Vulkanik Bernilai Ekonomi*.<http://sains.kompas.com/read/2010/11/08/06534541/Pasir.dan.Abu.Vulkanik.Bernilai.Ekonomi>. Diakses 9 Januari 2011.
- Pisano, M.A., Somer, M.J., Lopez, M.M., 1986. Application of Treatment for the Isolation of Bioactive Actinomycetes from Marine sediments, *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, ISSN 0175-7598
- Rahayu, T. dan Isnaini, S. N, 2010, Isolasi *Rare Actinomycetes* dari Pasir Pantai Depok Daerah Istimewa Yogyakarta Yang Berpotensi Antibiotik Terhadap *P. acnes*, Skripsi. Surakarta : Fakultas Farmasi,Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahayu, T. dan Mulyono, H. N. S, 2010, Isolasi *Rare Actinomycetes* dari Pasir Pantai Depok Daerah Istimewa Yogyakarta Yang Berpotensi Antibiotik Terhadap *S. aureus* Multiresisten, *Skripsi*, Surakarta :Fakultas Farmasi,Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahayu, T. dan Ristrianto, D, 2010, Isolasi *Rare Actinomycetes* dari Pasir Pantai Depok Daerah Istimewa Yogyakarta Yang Berpotensi Antibiotik Terhadap *E. coli* Multiresisten, *Skripsi*, , Surakarta: Fakultas Farmasi,Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahayu, T. dan Astuti, D.S., 2013, *rare actinomycetes* dari material vulkanik merapi sebagai sumber antibiotik baru : isolasi dan karakterisasi , Laporan penelitian, LP2M, UMS, Surakarta.
- Srivibool, R., Kurakami, K., Suckotiratana,M., dan Tokuyama, S., 2004, Coastal Soil Actinomycetes : Thermotolerant Strains Producing N-Acylamino Acid racemase. *ScienceAsia*. 30:123-126.
- Syafi, M. 2013., Potensi Antibiotik Isolat Actinomycetes Dari Material Vulkanik Gunung Merapi Erupsi Tahun 2010 terhadap Bakteri *S. aureus* Multiresisten Antibiotik., Skripsi, UMS, Surakarta
- Zakharova OS, Zenova GM, Zviagintsev DG, 2003, Selective Isolation of Actino of the Genus Actinomadura from Soil, *Mikrobiologiia*, 72:126-30.
- Zotchev, S.B., 2004. Isolation of Antibiotic Producers from the Trondheim Fjord. *BIOPROSP* 2004. Department of Biotechnology, NTNU, Trondheim.

DISKUSI

Penanya 1 : Wiwik Haryatik

Pertanyaan :

Di daerah Bondowoso ada kawah ijen yang merupakan daerah ekstrim sebagai sampel untuk pengambilan Actinomycetes, bagaimana cara isolasinya? Bagaimana treatment yang dilakukan dan dengan medium apa?

Jawaban :

Sampel ditreatment 120⁰C selama 1 jam kemudian diinokulasi pada medium strach casein.

Penanya 2 : Noer Endah Pracoyo

Pertanyaan :

Ada pembanding/kontrol uji antibiotik Actinomycetes tidak? Strain S.aureus apa? Umur strain S.aureus berapa yang digunakan untuk uji?

Jawaban :

Strain S aureus ATBG umur 24 jam.

