

LAPORAN PENELITIAN
I-MHERE
TAHUN ANGGARAN 2012



**BIODIVERSITAS ACTINOMYCETES PADA KAWASAN MANGROVE DESA
BULALO KECAMATAN KWANDANG DAN UJI POTENSI SEBAGAI
PENGHASIL ANTIBIOTIKA**

OLEH:

WIRNANGSI D. UNO, S.PD.,M.KES
YULIANA RETNOWATI, S.SI.,M.SI
DR. NOVRI KANDOWANGKO, MP

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO
November, 2012

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : **Biodiversitas Actinomycetes Pada Kawasan Mangrove Desa Bulalo Kecamatan Kwandang Dan Uji Potensial Sebagai Penghasil Antibiotika**
2. Ketua Peneliti
 - a. Nama Lengkap: : Wirnangsi D. Uno
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. NIP : 19690629 199403 2 002
 - d. Jabatan Struktural : -
 - e. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - f. Fakultas/Jurusan : FMIPA/Biologi
 - g. Pusat Penelitian : Lemlit UNG
 - h. Alamat : Jl. Jenderal Sudirman No. 6 Kota Gorontalo
 - i. Telpon/fax : -
 - j. Alamat rumah : Jl Taman Surya, Kel. Dembe Jaya, Kec. Kota Utara, Kota Gorontalo.
 - k. Telpon/fax/email : wina_uno@yahoo.com
3. Jangka waktu penelitian : 6 bulan
4. Pembiayaan :
Jumlah biaya yang diajukan : Rp. 30.000.000,-

Gorontalo, November 2012

Mengetahui

Dekan

Ketua Peneliti

Prof. Dr. Hj. Evi Hulukati, M. Pd.

NIP. 19600530 198603 2 001

Wirnangsi D. Uno, S.Pd.,M.Kes

NIP. 19690629 199403 2 003

Menyetujui

Ketua Lembaga Penelitian

Dr. Fitriane Lihawa, M.Si
NIP. 19691209 199303 2 001

IDENTITAS PENELITIAN

1. Judul Usulan : **Biodiversitas Actinomycetes Pada Kawasan Mangrove Desa Bulalo Kecamatan Kwandang Dan Uji Potensial Sebagai Penghasil Antibiotika**
2. Ketua Peneliti
 - a. Nama Lengkap : Wirnangsi D. Uno, S.Pd.,M.Kes
 - b. Bidang Keahlian : Mikrobiologi
 - c. Jabatan Struktural : Sekretaris Laboratorium Biologi
 - d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - e. Unit Kerja : Pendidikan Biologi
 - f. Alamat Surat : Jurusan Pend. Biologi
Jl. Jend. Sudirman No. 6 Kota Gorontalo
 - g. Telpon/fax :
 - h. Email : wina_uno@yahoo.com

3. Anggota Peneliti
Tim Peneliti

No	Nama dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1	Yuliana Retnowati, S.Si.,M.Si	Mikrobiologi	UNG	20 jam
2	Dr. Novri Kandowangko,MP	Fisiologi Tumbuhan	UNG	20 jam

4. Objek Penelitian
Actinomycetes sebagai penghasil antibiotik
5. Masa pelaksanaan Penelitian
 - Mulai : Mei 2012
 - Berakhir : Oktober 2012
6. Anggaran yang diusulkan : Rp. 30.000.000.
7. Lokasi penelitian : Laboratorium Mikrobiologi
8. Hasil yang ditargetkan
Diperoleh jenis-jenis actinomycetes dari kawasan Mangrove desa Bulalo sebagai penghasil antibiotik

ABSTRAK

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen penghasil antibiotik, khususnya actinomycetes mulai dikembangkan sejalan dengan meningkatnya kebutuhan akan antibiotik untuk melawan bakteri resisten, virus, fungi maupun anti tumor. Tujuan jangka panjang dari penelitian ini adalah menggali potensi mikroba di alam khususnya actinomycetes dari kawasan mangrove yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan antibiotik. Target capaian pada penelitian ini adalah mendapatkan actinomycetes dari rhizosfer maupun endofitik pada tanaman mangrove yang berpotensi menghasilkan antibiotik dan menguji kemampuan antibakterialnya pada beberapa bakteri uji serta mengidentifikasi jenis antibiotik yang dihasilkan. Metode pencapaian didasarkan pada metode eksperimen dan data dianalisa secara deskriptif. Tahapan pengumpulan data diawali dengan isolasi actinomycetes dari sampel sedimen, batang dan daun dari 3 jenis tegakan mangrove (*Avicenia* sp, *Rhizophora* sp dan *Sonneratia* sp) dengan medium Starch Casein Agar, dilanjutkan dengan pengamatan morfologi terhadap isolat actinomycetes. Isolat yang diperoleh dilakukan uji kemampuan antibakterial terhadap bakteri *E.coli*, *B.subtilis*, *S.aureus* dan *C. albicans*. Isolat actinomycetes terpilih dilakukan uji penghasilan antibiotik yang selanjutnya dilakukan isolasi antibiotik untuk penentuan MIC, aktivitas antibiotik dan identifikasi antibiotik menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kawasan mangrove desa Bulalo khususnya pada 3 tegakan diperoleh lima jenis isolat actinomycetes (isolat AAR-1, AAR-2, ASR-1, ASR-2, dan ARR) yang dicirikan dengan morfologi koloni yang berbeda. Hasil pengujian kemampuan antimikroba menunjukkan bahwa seluruh isolat tersebut tidak mempunyai kemampuan sebagai antimikroba dan tidak terdapat jenis antibiotik yang dihasilkan oleh masing-masing isolat actinomycetes.

Kata kunci : actinomycetes, mangrove, antibiotik

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
IDENTITAS PENELITIAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
ABSTRAK.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	Vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	2
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Urgensi Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
Ekosistem Mangrove.....	5
A. Kajian Tentang Aktinomycetes.....	9
B. Antibiotik.....	13
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	15
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	15
B. Objek Penelitian.....	15
C. Metode Penelitian.....	15
D. Bahan dan Alat.....	15
E. Teknik Pengumpulan Data.....	16
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
A. Hasil Penelitian.....	22
B. Pembahasan.....	33
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
A. Kesimpulan.....	36
B. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kondisi fisikokimia pada masing-masing tegakan mangrove di kawasan mangrove desa Bulalo.....	24
2. Jumlah isolat actinomycetes pada masing-masing tegakan mangrove.....	25
3. Hasil pengamatan terhadap pembentukan zona hambat di sekitar kertas cakram pada masing-masing isolat actinomycetes terhadap mikroba uji.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur kerja penelitian	21
2. Sampel batang dan daun tanaman mangrove. A. <i>Sonneratia</i> sp; B. <i>Rhizophora</i> sp; dan C. <i>Avicenia</i> sp.....	23
3. Morfologi actinomycetes yang diisolasi dari rhizozfer tegakan <i>Avicenia</i> sp. A. isolat AAR-1 dan B. isolat AAR-2	26
4. Morfologi actinomycetes yang diisolasi dari rhizozfer tegakan <i>Sonneratia</i> sp. A. Isolat ASR-1 dan B. isolat ASR- 2.....	27.
5. Morfologi actinomycetes yang diisolasi dari rhizozfer tegakan <i>Rhizophora</i> sp.....	28
6. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes AAR- 1 terhadap mikroba uji <i>Bacillus subtilis</i> (A), <i>E.coli</i> (B), <i>Candida albicans</i> (C) dan <i>S. aureus</i> (D).....	30
7. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes AAR- 2 terhadap mikroba uji <i>Bacillus subtilis</i> (A), <i>E.coli</i> (B), <i>Candida albicans</i> (C) dan <i>S. aureus</i> (D).....	31
8. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes ASR- 1 terhadap mikroba uji <i>Bacillus subtilis</i> (A), <i>E.coli</i> (B), <i>Candida albicans</i> (C) dan <i>S. aureus</i> (D).....	31
9. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes ARR terhadap mikroba uji <i>Bacillus subtilis</i> (A), <i>E.coli</i> (B), <i>Candida</i> <i>albicans</i> (C) dan <i>S. aureus</i> (D).....	32

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ekosistem pesisir merupakan lingkungan yang menyediakan sumber daya alam yang sebagian besar belum dimanfaatkan. Salah satu potensi dari bagian ekosistem pesisir adalah kawasan mangrove. Kawasan Mangrove yang terletak di Desa Bulalo Kecamatan Kwandang merupakan salah satu kawasan mangrove di Provinsi Gorontalo yang terdiri dari 10 spesies mangrove dan didominasi oleh spesies *Rhizophora apiculata* Blume dan *Rhizophora mucronata* Lamk (Katili, 2009).

Kondisi kawasan mangrove pada umumnya merupakan lingkungan yang kaya bahan organik dan merupakan habitat yang mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa literatur juga mendukung bahwa kawasan mangrove sangat potensial untuk isolasi mikroba khususnya actinomycetes jenis baru yang mempunyai aktivitas untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang berguna.

Actinomycetes merupakan bakteri gram positif yang mulai banyak dikaji setelah diketahui kemampuannya dalam menghasilkan senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologi (Bredhold *et al.* 2008). Actinomycetes juga sangat berpotensi menghasilkan antibiotik. Sekitar 80% antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh actinomycetes terutama *Streptomyces* dan *Micromonospora*. Disamping itu Actinomycetes juga menghasilkan obat-obatan terbaru, kosmetik, enzim, agen antitumor, enzim inhibitor dan vitamin. Hingga saat ini kebutuhan antibiotik baru masih sangat diperlukan, terutama antibiotik yang melawan bakteri

resisten, virus, fungi maupun anti tumor. Oleh karena itu eksplorasi isolat actinomycetes potensial terus menerus dilakukan untuk mendapatkan jenis baru.

B. Rumusan Masalah

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen penghasil antibiotik, khususnya actinomycetes mulai dikembangkan sejalan dengan meningkatnya kebutuhan akan antibiotik untuk melawan bakteri resisten, virus, fungi maupun anti tumor. Actinomycetes yang merupakan kelompok mikroba dengan habitat alami di tanah mulai di eksplorasi dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa antimikroba baru. Salah satu sumber actinomycetes yang mulai dikaji adalah ekosistem mangrove, yang merupakan ekosistem dengan kondisi fisikokimia yang spesifik. Berdasarkan hal tersebut maka permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana diversitas actinomycetes pada kawasan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang?
2. Apakah actinomycetes tersebut memiliki potensi sebagai antimikroba?
3. Metabolit sekunder apakah yang dihasilkan oleh Actinomycetes tersebut?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui diversitas actinomycetes di kawasan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang
2. Mengetahui potensi antimikroba aktinomycetes terhadap beberapa mikroba uji

3. Mengetahui jenis metabolit sekunder (antibiotika) yang dihasilkan oleh isolat actinomycetes dari kawasan mangrove desa Bulalo

D. Urgensi Penelitian

Ekosistem pesisir merupakan lingkungan yang menyediakan sumber daya alam yang sebagian besar belum dimanfaatkan. Salah satu potensi dari bagian ekosistem pesisir adalah kawasan mangrove, yang merupakan hutan lahan basah pesisir yang terdapat pada zona intertidal pada estuari, delta, anak sungai, laguna, rawa-rawa, lumpur khususnya di daerah tropis dan subtropis. Daerah spesifik dimana tanaman mangrove tumbuh dinamakan sebagai ekosistem mangrove. Ekosistem mangrove adalah suatu sistem di alam tempat berlangsungnya kehidupan yang mencerminkan hubungan timbal balik antara makhluk hidup dengan lingkungannya dan diantara makhluk hidup itu sendiri, terdapat pada wilayah pesisir, terpengaruh pasang surut air laut, dan didominasi oleh spesies pohon atau semak yang khas dan mampu tumbuh pada perairan asin/payau (Santosa, 2000 dalam Erna Rochana, 2012).

Sementara itu kondisi ekosistem mangrove yang kaya bahan organik merupakan habitat yang mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme. Keberadaan mikroorganisme pada ekosistem mangrove erat kaitannya dengan kestabilan ekosistem dimana mikroorganisme berperan dalam siklus biogeokimia. Beberapa literatur juga mendukung bahwa sediment laut termasuk juga kawasan mangrove sangat potensial untuk isolasi mikroba khususnya actinomycetes jenis baru yang mempunyai aktivitas untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang berguna.

Actinomycetes adalah bakteri gram positif aerobik yang membentuk filamen bercabang atau hifa (biasanya 0,5-1.0 μ m) dan spora aseksual. Actinomycetes memegang peran sangat penting dalam ekosistem alami dan mereka juga penghasil antibiotik, agen antitumor, enzim, inhibitor enzim dan imunomodifier yang banyak diaplikasikan dalam bidang industri, pertanian, kehutanan dan industri obat-obatan. Lebih dari 70% dari antibiotik yang dikenal dihasilkan oleh actinomycetes. Antibiotik adalah agen antimikroba, yang diproduksi oleh beberapa mikro-organisme untuk menghambat atau membunuh banyak mikro-organisme termasuk bakteri yang berbeda, virus dan sel eukariotik. Banyak produk-produk alami merupakan senyawa obat komersial penting dengan berbagai keperluan terapeutik.

Disamping itu Actinomycetes juga menghasilkan obat-obatan terbaru, kosmetik, enzim, agen antitumor, enzim inhibitor dan vitamin. Menurut Solingen *et al.* (2001) mikroorganisme khususnya actinomycetes yang tumbuh pada lingkungan perairan laut mampu menghasilkan senyawa aktif yang pada dasarnya digunakan untuk mekanisme adaptasi pada lingkungan ekstrem. Hingga saat ini kebutuhan antibiotik baru masih sangat diperlukan, terutama antibiotik yang melawan bakteri resisten, virus, fungi maupun tumor. Oleh karena itu eksplorasi isolate actinomycetes potensial terus menerus dilakukan untuk mendapatkan jenis baru.

Beberapa penelitian terdahulu berhasil mengeksplorasi actinomycetes dari beberapa kawasan mangrove dan membuktikan bahwa mikroba tersebut memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri bahkan anti tumor.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Ekosistem Mangrove

Mangrove merupakan hutan lahan basah pesisir yang terdapat pada zona intertidal pada estuari, delta, anak sungai, laguna, rawa-rawa, lumpur khususnya didaerah tropis dan subtropis. Daerah spesifik dimana tanaman mangrove tumbuh dinamakan sebagai ekosistem mangrove (Sahoo *et al.* 2008). Sebagai salah satu ekosistem pesisir, hutan mangrove merupakan ekosistem yang unik dan rawan. Ekosistem ini mempunyai fungsi ekologis dan ekonomis. Fungsi ekologis hutan mangrove antara lain : pelindung garis pantai, mencegah intrusi air laut, habitat (tempat tinggal), tempat mencari makan (*feeding ground*), tempat asuhan dan pembesaran (*nursery ground*), tempat pemijahan (*spawning ground*) bagi aneka biota perairan, serta sebagai pengatur iklim mikro. Sedangkan fungsi ekonomisnya antara lain : penghasil keperluan rumah tangga, penghasil keperluan industri dan penghasil bibit.

Hutan mangrove adalah sebutan umum yang digunakan untuk menggambarkan suatu varietas komunitas pantai tropik yang didominasi oleh beberapa spesies pohon-pohon yang khas atau semak-semak yang mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada perairan asin. Hutan mangrove meliputi pohon-pohon dan semak yang tergolong ke dalam 8 famili, dan terdiri atas 12 genera tumbuhan berbunga : *Avicennia*, *Sonneratia*, *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Ceripos*, *Xilocarpus*, *Lumnitzera*, *Laguncularia*, *Aegiceras*, *Aegiatilis*, *Suaeda* dan *Conocarpus* (Bengen, 2000 dalam Erna Rochana, 2012).

Ekosistem mangrove adalah suatu sistem di alam tempat berlangsungnya kehidupan yang mencerminkan hubungan timbal balik antara makhluk hidup dengan lingkungannya dan diantara makhluk hidup itu sendiri, terdapat pada wilayah pesisir, terpengaruh pasang surut air laut, dan didominasi oleh spesies pohon atau semak yang khas dan mampu tumbuh pada perairan asin/payau (Santosa, 2000 dalam Erna Rochana, 2012).

Struktur dan fungsi ekosistem mangrove, komposisi dan distribusi spesies, serta pola pertumbuhan organisme mangrove sangat tergantung pada faktor-faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi mangrove dalam jangka panjang adalah fluktuasi pasang surut dan ketinggian rata-rata permukaan laut. Adapun keseluruhan faktor yang mempengaruhi ekosistem mangrove mencakup: topografi dan fisiografi pantai, tanah, oksigen, nutrien, iklim, cahaya, suhu, curah hujan, angin dan gelombang laut, pasang-surut laut, serta salinitas.

Ekosistem mangrove yang terdapat di Desa Bulalo Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara Provinsi Gorontalo terdiri dari 10 spesies yakni *Rhizophora apiculata* Blume, *Rhizophora mucronata* Lamk., *Ceriops tagal* (Perr) C.B.Rob, *Bruguiera parviflora* (Roxb) W & A, *Bruguiera gymnorrhiza* (L) Lamk, *Sonneratia alba* J.E. Smith, *Sonneratia caseolaris* (L) Eng, *Xylocarpus granatum* Koen (niri), *Avicennia alba* Blume dan *Avicennia marina* (Forsk) Vierh. Selaian itu kawasan ini didominasi oleh spesies *Rhizophora apiculata* Blume dan *Rhizophora mucronata* Lamk dengan pola zonasi yakni jenis *Rhizophora* (*Rhizophora mucronata* Lamk dan *Rhizophora apiculata* Blume) pada lapisan terluar. Selanjutnya zona *Sonneratia* yang didampingi oleh jenis *Bruguiera* dan *Ceriops*

tagal, dan lapisan terakhir adalah zona *Avicennia* dan zonasi *Xylocarpus granatum* Koen (Katili, 2009).

Kajian mengenai biodiversitas mikroba masih sangat sulit dilakukan tetapi sangat penting untuk mempelajari tentang biogeografi, kajian komunitas dan proses ekologi sehingga diperlukan untuk isolasi dan identifikasi mikroorganisme baru dan memiliki potensi dalam menangani senyawa rekalsitran (Sahoo *et al.* 2008). Mikroorganisme yang mampu tumbuh pada ekosistem mangrove adalah :

1. Bakteri

Kemelimpahan dan aktivitas bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor fisik dan kimia seperti tanin, sampah mangrove yang tercuci pada ekosistem mangrove. Peningkatan konsentrasi tanin berhubungan dengan penurunan jumlah mikroba. Hal tersebut terjadi karena tanin tidak hanya menyebabkan jumlah bakteri menurun tetapi juga menurunkan aktivitas patogen berbahaya. Bakteri yang umumnya sangat berperan dalam ekosistem mangrove dan terlibat dalam siklus biogeokimia adalah bakteri fiksasi nitrogen, bakteri pelarut fosfat, bakteri pereduksi sulfat, bakteri anoksigenik fotosintetik dan bakteri metagenik. Disamping itu juga terdapat bakteri penghasil enzim L-asparaginase yang berguna untuk terapi leukemia lymphoblastic pada anak-anak (Sahoo *et al.* 2008)

2. Fungi

Area mangrove merupakan habitat untuk kelompok fungi yang disebut sebagai manglicolus fungi. Organisme ini sangat penting untuk siklus nutrient pada habitat tersebut dan mampu mensintesis semua enzim penting yang diperlukan untuk biodegradasi lignin, selulosa dan komponen tanaman lain. Hifa fungi pada umumnya ditemukan pada dekomposisi daun dan batang mangrove. Beberapa fungi

yang berperan dalam degradasi selulosa dan lignin adalah *Cladospororium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Cirrenalia basiminuta* dan *Halophytophthora vesicula* yang diisolasi dari daun *Rhizophora apiculata* yang juga menunjukkan aktivitas pektinolitik, proteolitik dan amilolitik. Banyak fungi juga mampu menghasilkan senyawa yang menarik, misalnya fungi tanah menghasilkan eksoenzim modifikasi dari lignoselulosa seperti laccase, sedangkan *Preussia aurantiaca* mampu mensintesis senyawa antimikroba (Sahoo *et al.* 2008)

3. Actinomycetes

Actinomycetes memegang peran sangat penting dalam ekosistem alami dan mereka juga penghasil antibiotik, agen antitumor, enzim, inhibitor enzim dan imunomodifier yang banyak diaplikasikan dalam bidang industri, pertanian, kehutanan dan industri obat-obatan. Densitas populasi actinomycetes pada lingkungan laut pada umumnya lebih sedikit dibandingkan lingkungan terestrial. Beberapa aktinomycetes yang berhasil diisolasi dari ekosistem mangrove diketahui mempunyai aktivitas sebagai antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Sahoo *et al.* 2008). Ravikumar *et al.* (2011) berhasil mengisolasi 17 actinomycetes endofitik dari tanaman *Avicennia marina*, *Bruguiera cylindrica*, *Rhizophora mucronata*, *Salicornia brachiata* dan *Suaeda monoica* dari ekosistem mangrove Karangkadu dan 10 isolat diantaranya menunjukkan aktivitas antibakteri. Ravikumar *et al.*(2011) juga berhasil menunjukkan bahwa diversitas actinomycetes pada daerah rhizosfer khususnya tanaman *Achrostichum aereum* lebih besar daripada daerah di luar rhizosfer khususnya pada ekosistem mangrove di Manakkudi India. Ari Kurniati (2011)

berhasil mengisolasi 16 jenis actinomycetes halotoleran dari kawasan mangrove Segara Anakan Cilacap.

B. Kajian Tentang Actinomycetes

Actinomycetes merupakan bakteri gram positif yang memiliki G+C content tinggi (> 55%) didalam DNA mereka. Actinomycetes pada awalnya merupakan kelompok intermediet antara bakteri dan fungi tetapi sekarang dimasukkan kedalam organisme prokaryotik. Actinomycetes tersebar di alam baik secara alami maupun lingkungan buatan manusia dan memegang peran penting dalam biodegradasi bahan organik. Mereka juga dikenal sebagai penghasil antibiotik dan molekul bioaktif yang sangat penting dalam dunia industri. Ketika mulai diterapkan teknik isolasi konvensional, kebanyakan isolat yang berhasil diisolasi melalui agar plate dan diidentifikasi sebagai genus *Streptomyces*, merupakan genus yang dominan di tanah. Beberapa faktor yang harus diperhatikan untuk tujuan skrining molekul bioaktif baru adalah : pemilihan sumber skrining, perlakuan awal, medium selektif, dan kondisi kultur (Sateesh *et al.* 2011)

Actinomycetes penting sebagai penghasil antibiotik, hampir tiga perempat dari antibiotik yang ada merupakan produksi dari actinomycetes, khususnya adalah *Streptomyces* merupakan genus yang paling produktif dan dapat menghasilkan metabolit sekunder aktif yang lainnya. Hampir sekitar 80% dari total antibiotik adalah produksi dari kelompok *Streptomyces*. Selanjutnya kelompok *Micromonospora* juga merupakan penghasil antibiotik tetapi tidak sebanyak *Streptomyces* (Sateesh *et al.*, 2011). Disamping antibiotik, actinomycetes juga mampu menghasilkan metabolit sekunder lain yaitu agen anti tumor, agen immunosupresif dan enzim. Metabolit tersebut juga potensial sebagai antibakteri,

antifungi, neuritogenik, antikanker, antialga, anti malaria dan memiliki aktivitas antiinflamasi (Ravikumar *et al.* 2011). Karena kepentingannya yang sangat besar, maka mulai difokuskan untuk melakukan isolasi jenis actinomycetes yang baru dari lingkungan terestrial. Disamping itu mulai juga dikembangkan isolasi actinomycetes dari lingkungan lain, khususnya lingkungan yang ekstrem, misalnya perairan laut.

1. Actinomycetes asli laut

Bukti awal yang mendukung keberadaan actinomycetes laut berasal dari adanya dekskripsi *Rhodococcus marinonascene* yang merupakan spesies actinomycetes pertama yang berhasil dikarakterisasi. Data terbaru menunjukkan adanya beberapa genera actinomycetes yang asli dari laut yaitu : Dietzia, Rhodococcus, Streptomyces, Salinispora, Arinophilus, Solwaraspora, Salinibacterium, *Aeromicrobium marinum*, *Williamsia maris* dan *Verrucosispora* (Kin S Lam, 2006).

Grossart *et al.* (2004) menggambarkan bahwa kurang lebih 10% dari jumlah actinomycetes mampu membentuk koloni dengan bakteri laut membentuk agregat organik dan aktivitas antagonistik berpengaruh dalam degradasi dan mineralisasi bahan organik. Selanjutnya, actinomycetes merupakan komponen aktif pada komunitas mikroba laut. Mereka membentuk populasi yang stabil, persisten dalam berbagai ekosistem laut. Hasil observasi lain menunjukkan bahwa senyawa baru dengan aktivitas biologi berhasil diisolasi dari actinomycetes laut, hal tersebut mengindikasikan bahwa actinomycetes laut merupakan sumber penting untuk penemuan metabolit sekunder baru.

2. Actinomycetes laut sebagai sumber antimikroba terbaru

Lebih dari 70% dari permukaan bumi adalah tertutup oleh air. Actinomycetes terdiri sekitar 10% bakteri menjajah agregat laut, dan dapat diisolasi dari sedimen laut, termasuk yang diperoleh pada kedalaman 10.898 m dari bagian terdalam dari Palung Mariana. Meskipun berlimpah, namun, sedimen laut dan invertebrata laut yang relatif belum dimanfaatkan untuk sumber sekunder baru metabolit (Baltz, 2007).

Baru-baru ini berhasil diisolasi metabolit sekunder baru termasuk abyssomicin C dan A. Salinosporamide Abyssomicin C diproduksi oleh strain *Verrucosipora* terisolasi dari Laut Jepang pada kedalaman 289 M. Antibiotik poliketida polisiklik ini bertindak dengan menghambat biosintesis asam para-aminobenzoic dalam jalur asam folat. Salinosporamide adalah inhibitor untuk β -lactone- λ -lactam proteosome yang diproduksi oleh obligat baru laut actinomycetes *Salinispora tropica*. Senyawa ini dalam uji coba fase-I klinis untuk mengobati tumor padat dan limfoma yang sedang disponsori oleh Nereus Farmasi dari dan Diego, California (Baltz, 2007).

Eksplorasi terhadap actinomycetes laut telah berhasil menemukan metabolit sekunder. Beberapa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari actinomycetes laut adalah:

- a. Abyssomicin C yang merupakan antibiotik poliketida polisiklik baru yang dihasilkan oleh strain *Verrucosipora*. Antibiotik tersebut potensial menghambat biosintesis asam para-aminobenzoic dan menghambat biosintesis asam folat pada tahap awal. Abyssomicin C berpotensi untuk menghambat bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, sehingga antibiotik ini potensial

untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri untuk melawan patogen resisten obat-obatan.

- b. Diazepinomicin yang dihasilkan oleh *Micromonospora* yang potensial sebagai antibakteri, antiinflamasi dan aktivitas antitumor.
- c. Salinosporamide A yang merupakan β -lactone- λ -lactam yang diisolasi dari *Salinispora tropica* (Kin S Lam, 2006).

Tumor research berhasil mengidentifikasi 5 metabolit sekunder yang dihasilkan oleh 2 actinomycetes endofitik tanaman mangrove, yaitu *Streptomyces cinerochromogenes* dan *Strptomyces parvus var. marinus*. Kelima metabolit sekunder tersebut menunjukkan adanya aktivitas sebagai antitumor. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekosistem mangrove merupakan sumber untuk penemuan actinomycetes baru yang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang potensial untuk anti tumor.

Awalul fatiqin juga berhasil mengisolasi 7 actinomycetes dari tanah rhizozfer mangrove Wonorejo Selatan yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. Hasil identifikasi terhadap antibiotik yang dihasilkan oleh jenis actinomycetes *Streptomyces lavendulae* menunjukkan kemiripan sifat dengan antibiotik streptothricin (Awalul Fatiqin, 2012).

Kui Hong *et al.* (2009) berkesimpulan bahwa habitat mangrove merupakan lingkungan yang sangat potensial untuk mengeksploitasi actinomycetes yang mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas anti infeksi, anti tumor dan agen untuk perlakuan penyakit neurodegeneratif dan diabetes. Senyawa untuk perlakuan diabetes tersebut dihasilkan khususnya oleh 2 genus actinomycetes, *Micromonospora* dan *Streptomyces*.

C. Antibiotika

Antibiotik adalah agen antimikroba, yang diproduksi oleh beberapa mikroorganisme untuk menghambat atau membunuh banyak mikroorganisme lainnya termasuk bakteri yang berbeda, virus dan sel eukariotik. Antibiotik merupakan metabolit sekunder (Abass *et al.* 2010). Antibiotik yang digunakan pada saat ini selain dihasilkan oleh mikroorganisme juga telah ditemukan antibiotik sintetik. Sehingga istilah antibiotik disebut juga sebagai antimikroba, yaitu senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan secara sintetik. Mekanisme kerja antimikroba dengan cara menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, misalnya terikat pada protein atau organel sel dan merusak fungsi penting yang berhubungan dengan pertumbuhan ataupun bentuk adaptasi mikroorganisme. Antimikroba dapat bersifat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Atlas *et al.* 1997). Penggunaan antibiotika khususnya berkaitan dengan pengobatan penyakit infeksi, meskipun dalam bioteknologi dan rekayasa genetika juga digunakan sebagai alat seleksi terhadap mutan atau transforman. Antibiotika bekerja seperti pestisida dengan menekan atau memutus satu mata rantai metabolisme, hanya saja targetnya adalah bakteri. Antibiotika berbeda dengan desinfektan karena cara kerjanya. Desinfektan membunuh kuman dengan menciptakan lingkungan yang tidak wajar bagi kuman untuk hidup.

Kebanyakan senyawa antimikroba digunakan untuk perlakuan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang dikategorikan berdasarkan prinsip kerja mereka. Terdapat 4 kategori aksi kerja senyawa antimikroba : (1) gangguan pada

sintesis dinding sel, (2) menghambat sintesis protein, (3) mengganggu sintesis asam nukleat, (4) menghambat jalur metabolisme (Tenover, 2006).

Senyawa antibakterial yang kerjanya dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri meliputi β -lactam, seperti penicillin, cephalosporin, carbapenems, dan monobactam, dan glikopeptida meliputi vancomycin dan teicoplanin. Senyawa β -lactam menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui penghambatan terhadap enzim yang dibutuhkan untuk sintesis lapisan peptidoglikan. Vancomycin dan teicoplanin juga menghambat sintesis dinding sel dengan cara terikat pada residu D-alanin terminal pada rantai nascent-peptidoglikan sehingga menghambat cross-linkage pada biosintesis dinding sel (Tenover, 2006).

Makrolida, aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, streptogramins, dan oxazolidinones menghasilkan efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis protein. Makrolida, aminoglikosida, dan tetrasiklin terikat pada subunit 30S ribosom, sedangkan kloramfenikol mengikat subunit 50S (Tenover, 2006).

Fluoroquinolones memberi efek antibakteri mereka dengan mengganggu sintesis DNA dan menyebabkan terhentinya replikasi untai ganda DNA, sedangkan sulfonamid dan trimetoprim (TMP) memblokir jalur untuk sintesis asam folat, yang pada akhirnya menghambat sintesis DNA (Tenover, 2006).

Gangguan terhadap struktur membran bakteri ditimbulkan oleh polymyxins melalui efek penghambatan terhadap peningkatan permeabilitas membran bakteri, menyebabkan kebocoran membran. Daptomycin lipopeptide siklik memasukkan ekor lipid ke dalam membran sel bakteri, sehingga terjadi depolarisasi membran yang menyebabkan kematian bakteri (Tenover, 2006).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel berlokasi di kawasan hutan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara. Dilanjutkan analisis di laboratorium mikrobiologi dan biokimia Jurusan Biologi FMIPA UNG. Penelitian berlangsung selama 6 bulan.

B. Objek Penelitian

Yang menjadi objek penelitian adalah isolat actinomycetes yang berhasil diisolasi dari kawasan mangrove khususnya pada tiga tegakan yaitu tegakan *Avicenia* sp, *Soneratia* sp dan *Rhizophora* sp dalam hubungannya dengan kemampuan sebagai antimikroba dan penghasil antibiotik.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dan data di analisis secara deskriptif yang menggambarkan biodiversitas actinomycetes pada kawasan mangrove Desa Bulalo Kecamatan Kwandang, kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan metabolit sekunder dan analisis potensinya sebagai antimikroba.

D. Bahan dan Alat

1. Bahan yang digunakan : sedimen rhizozfer, akar dan daun tanaman mangrove jenis *Avicennia*, *Rhizophora* dan *Soneratia*, medium starch casein agar, Nystatin, air laut, 70% etanol, *B.subtilis*, *E.coli*, *S. aureus*,

Nutrient Agar, Nutrient Broth, Ethyl acetat, buffer fosfat (pH 7.0), medium Muller Hilton Agar, Streptomycin, medium fermentasi,

2. Alat yang digunakan : oven, inkubator, autoclave, Erlenmeyer, mikropipet, tabung reaksi, spektrofotometer, kromatografi lapis tipis (KLT), sentrifuge, shaker incubator, colony counter, water bath, pH-meter, salinometer,

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Koleksi sampel

Sampel untuk isolasi actinomycetes diperoleh dari sedimen daerah rhizosfer, akar dan daun tanaman mangrove jenis *Avicennia*, *Rhizophora* dan *Sonneratia*. Sampel ditempatkan dalam botol steril kemudian dibawa ke laboratorium untuk pengamatan selanjutnya.

2. Analisis fisikokimia sedimen

Analisis fisikokimia terhadap sampel sedimen meliputi pH, suhu, salinitas.

3. Isolasi dan pengamatan morfologi Actinomycetes

a. Isolasi dari sedimen rhizosfer tanaman mangrove

Teknik isolasi actinomycetes dari sampel sedimen rizosfer tanaman mangrove diawali dengan pembuatan seri pengenceran sampel (Ravikumar *et al.* 2011). Sampel sedimen basah sebanyak 1 gram ditambahkan kedalam 5 ml air laut steril (pengenceran 10^{-1}). Pengenceran dilakukan sampai taraf 10^{-4} . Prosedur pengenceran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan. Masing-masing ulangan diambil suspensi sampel sedimen sebanyak 1 ml dan dilakukan penanaman pada medium Starch Casein Agar dengan metode surface. Medium disuplementasi dengan $25\mu\text{g.ml}^{-1}$ Nystatin

untuk mencegah pertubuhan fungi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 – 10 hari.

b. Isolasi actinomycetes endofitik

Sampel akar dan daun masing-masing tanaman mangrove dilakukan sterilisasi permukaan dengan menggunakan 70% etanol dan dikering-anginkan di dalam laminar air flow. Permukaan terluar sampel akar dibuang dengan menggunakan pisau steril dan jaringan dalam sampel akar selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan mortar steril. Demikian juga dengan sampel daun dihaluskan dengan mortar steril. Sampel yang sudah halus kemudian dilakukan serangkaian pengenceran sampai pada taraf 10^{-4} . Pengenceran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan. Masing-masing ulangan ditanam pada medium Starch Casein Agar dengan metode surface. Kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 – 10 hari (Ravikumar et al. 2010).

c. Pengamatan morfologi mikroba

Morfologi koloni actinomycetes dipelajari dengan cara menginokulasikan isolate actinomycetes pada medium Nutrient Agar dan diinkubasikan pada suhu 27°C selama 7 hari. Actinomycetes yang tumbuh diamati karakter morfologinya meliputi karakteristik koloni, jenis areal hifa, pertumbuhan hifa vegetatif dengan menggunakan mikroskop dan hasil pengamatan didokumentasikan sebagai data morfologi (Nanjwade et al. 2010). Pengamatan morfologi sel didasarkan pada metode pewarnaan menggunakan pewarnaan gram.

4. Seleksi Kemampuan Antibakterial

Semua isolat actinomycetes yang berhasil diisolasi diuji untuk aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri uji *B.subtilis*, *E.coli*, *S. aureus*. Aktivitas antibakteri didasarkan pada *streak plate method* (Sateesh *et al.* 2011) pada medium Nutreint Agar (NA). Isolat actinomycetes ditumbuhkan dengan cara menggoreskan pada permukaan medium, dan diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 3 – 4 hari. Setelah terjadi pertumbuhan actinomycetes kemudian bakteri uji ditumbuhkan dengan cara menggoreskan disekitar pertumbuhan isolat actinomycetes, kemudian diinkubasi pada suhu 28⁰C. Zona penghambatan yang ditunjukkan dengan zona bening diukur setelah inkubasi 24-48 jam.

5. Uji penghasilan metabolit sekunder atau antibiotik

Uji penghasilan antibiotika dilakukan dengan tahapan :

a. Kultivasi isolate dalam medium cair

Isolat actinomycetes yang menunjukkan kemampuan penghambatan tinggi selanjutnya digunakan untuk uji kemampuan penghasilan senyawa antibiotik. Isolat actinomycetes ditumbuhkan pada agar miring pada suhu 28⁰C selama 2 minggu, kemudian spora dewasa diinokulasikan dalam medium fermentasi sebanyak 100 ml (dextrosa 2 g, soya bean meal 2 g, soluble starch 0.5 g, peptone 0.5 g, corn steep liquor 0.25 g, (NH₄)₂ SO₄ 0.25 g, MgSO₄.7H₂O 0.25 g, K₂HPO₄ 0.002 g, NaCl 0.4 g, CaCO₃ 0.2 g, air laut 50%) dan diinkubasi pada suhu 30⁰C pada rotary shaker (200rpm) selama 216 jam (Baskaran *et al.* 2011). Selanjutnya dilakukan isolasi metabolit antibakterial atau antibiotika.

b. Isolasi metabolit antibakterial (antibiotika)

Senyawa antibiotika dilepaskan dari filtrat melalui metode ekstraksi solven mengikuti metode yang dijelaskan oleh Sateesh *et al.* (2011). Ethyl acetat ditambahkan kedalam filtrat dengan rasio 1:1 (v/v) dan di shaker selama 1 jam. Fase ethyl acetat yang mengandung antibiotik dipisahkan dari fase cair. Kemudian dievaporasi untuk mengeringkan air didalam water bath ada 80 – 90⁰C dan residu yang tertinggal ditimbang (fase padat) (Satesh *et al.* 2011).

Untuk mendapatkan antibiotik fase cair, medium cair yang sudah terfermentasi disentrifugasi pada 10.000 rpm suhu 4⁰C selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan dikoleksi sebagai sampel antibiotik (Baskaran *et al.* 2011). Sampel antibiotik kemudian digunakan untuk penentuan aktivitas antimikroba dan minimum inhibitory concentration.

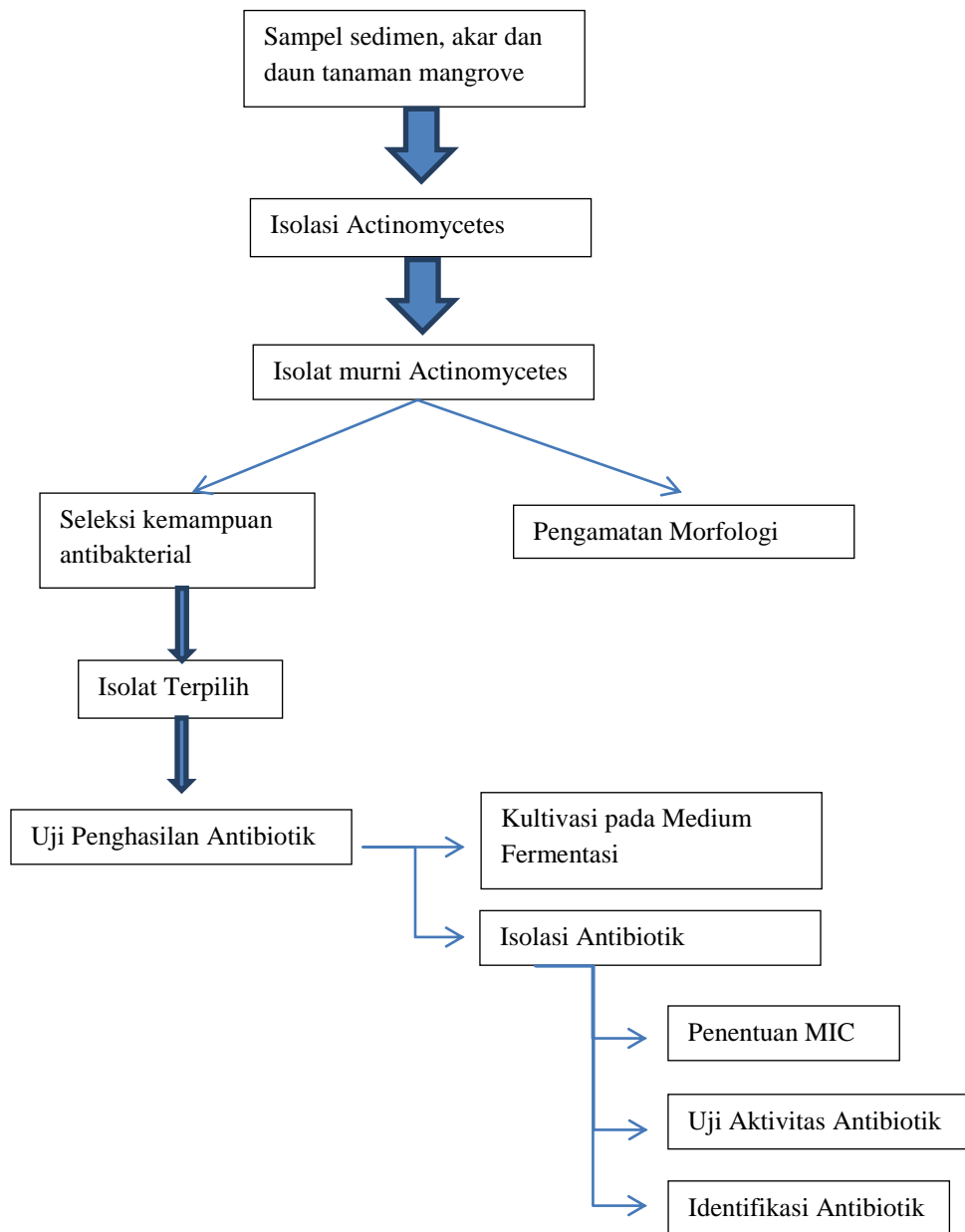
6. Penentuan aktivitas antimikroba dan MIC

a. Aktivitas antimikroba menggunakan agar well method (sen et al. 1995 dalam Sateesh et al. 2011). Ekstrak yang dimurnikan secara bertahap yang diperoleh melalui evaporasi pada ekstrak ethyl acetat dilarutkan dalam 1 ml 0.2M buffer fosfat (pH 7.0). Kemudian 100µl sampel antibiotik dimasukkan kedalam sumuran dan organisme uji (*E.coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus*) yang sebelumnya ditumbuhkan pada medium cair, ditanam dengan metode surface plate pada medium Muller Hinton Agar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18 – 24 jam. Diameter zone bening diukur untuk menentukan pembentukan zona hambat.

- b. Penentuan MIC dilakukan dengan pembuatan pengenceran berseri untuk antimikroba dalam nutrient broth yang didalamnya sudah dimasukkan bakteri uji. Penentuan MIC didasarkan pada tingkat kekeruhan dengan metode kolorimetri.

7. Identifikasi antibiotik

Penentuan jenis antibiotik yang dihasilkan oleh isolat actinomycetes menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Disiapkan Silika gel plates ukuran 10 x 20 cm dan ketebalan 1 mm dan diaktivasi pada suhu 150⁰C selama 30 menit. Fraksi ethyl acetat sebanyak 10µl dan antibiotik marker (Streptomycin) ditempatkan pada plate dan chromatogram dikembangkan menggunakan chloroform : methanol (4:1) sebagai sistem solven. Plate di running sebanyak 2 kali ulangan. Spot yang dibentuk pada chromatogram divisualisasi dalam iodine vapour chamber dan UV chamber.



Gambar 1 : Alur kerja penelitian

BAB IV

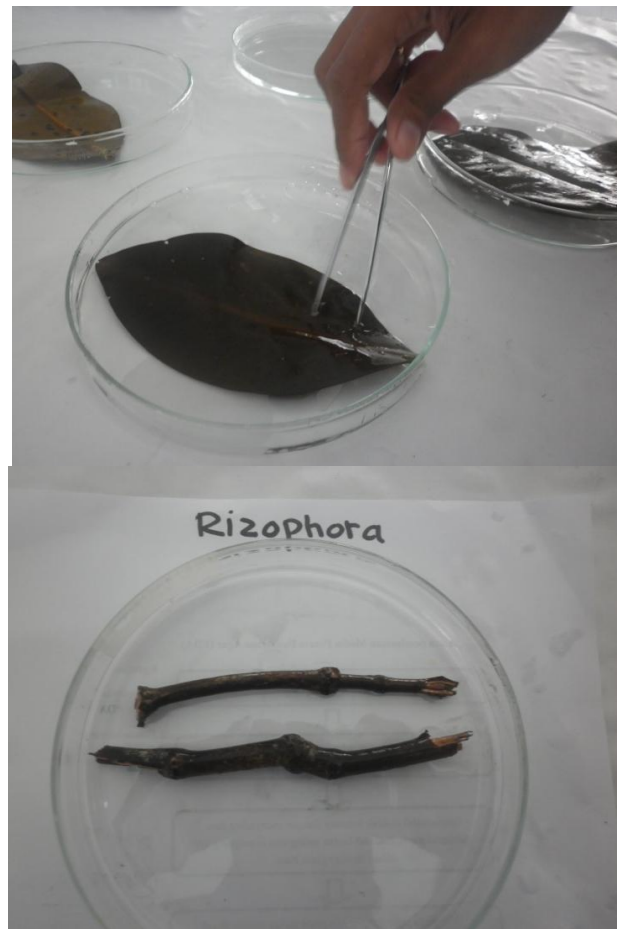
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

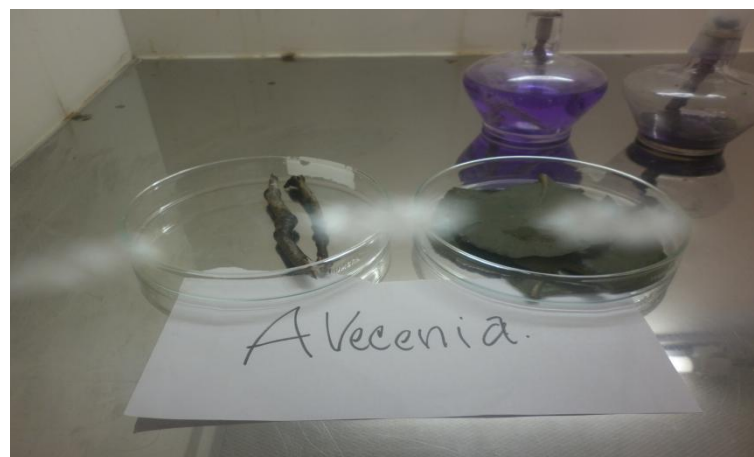
Penelitian dengan tujuan untuk mendapatkan aktinomycetes dari tegakan mangrove (*Rhizophora* sp, *Sonneratia* sp dan *Avicenia* sp) pada kawasan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara dan menguji potensi antimikroba telah dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA UNG. Sampel yang berupa sedimen rhizosfer masing-masing tegakan mangrove, batang dan daun dikumpulkan dengan metode menjelajah pada kawasan mangrove sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.



A



B



C

Gambar 2 : Sampel batang dan daun tanaman mangrove. A. Soneratia sp;
B. Rhizophora sp; dan C. Avicenia sp.

Kawasan mangrove desa Bulalo sebagai habitat dari ketiga tanaman mangrove menunjukkan kondisi fisikokimia yang berbeda pada masing-masing tegakan (tabel 1).

Tabel 1. Kondisi fisikokimia pada masing-masing tegakan mangrove di kawasan mangrove desa Bulalo

No	Tegakan Mangrove	Kondisi Fisikokimia			
		Kelembaban tanah	pH	Salinitas	Suhu
1	<i>Rhizophora sp</i>	59	6	26,98	34
2	<i>Soneratia sp</i>	55	4,5	27,2	35
3	<i>Avicenia sp</i>	56	6	26,73	32

Keadaan fisikokimia pada masing-masing tegakan merupakan faktor yang berpengaruh terhadap keanekaragaman mikroba khususnya actinomycetes pada kawasan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara.

1. Hasil Isolasi Aktinomycetes Pada Tegakan Mangrove

Penelitian berhasil mendapatkan 4 jenis aktinomycetes yang diisolasi dari 3 tegakan mangrove khususnya pada sampel tanah rhizosfer yang terdiri atas 2 isolat diisolasi dari tegakan *Avicenia sp* dan 2 isolat dari tegakan *Soneratia sp* dan 1 isolat dari tegakan *Rhizophora sp*. Sedangkan pada sampel batang dan daun pada ketiga tegakan tidak diperoleh aktinomycetes endofit (tabel 2). Berdasar pengamatan morfologi koloni terdapat kemiripan morfologi pada isolat aktinomycetes dari rhisosfer tegakan *Soneratia sp* dan tegakan *Rhizophora sp*.

Tabel 2. Jumlah isolat actinomycetes pada masing-masing tegakan mangrove

No	Tegakan Mangrove	Jumlah actinomycetes pada sampel		
		Rhizosfer	Batang	Daun
1	Avicenia sp	2	-	-
2	Rhizophora sp	1	-	-
3	Soneratia sp	2	-	-

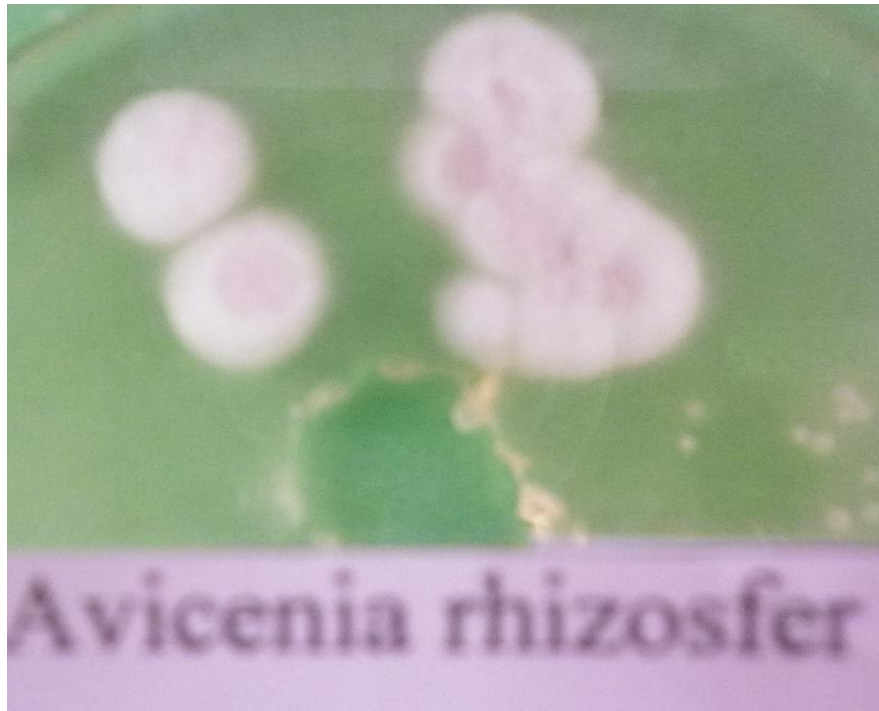
a. Tegakan Avicenia sp

Hasil isolasi actinomycetes pada rhizosfer tegakan Avicenia sp diperoleh 2 isolat selanjutnya disebut sebagai isolat AAR-1 dan AAR-2 (gambar 2). Kedua isolat menunjukkan perbedaan morfologi koloni yang ditandai dengan perbedaan warna koloni. Morfologi koloni isolat AAR-1 ditandai dengan koloni berwarna putih, ditengah koloni berwarna abu-abu, sedangkan morfologi koloni isolat AAR-2 ditandai dengan koloni berwarna putih, ditengah koloni berwarna coklat muda.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa sampel batang dan daun tegakan Avicenia sp tidak diperoleh isolat actinomycetes yang bersifat endofit.



A



B

Gambar 3 : Morfologi actinomycetes yang diisolasi dari rhizozfer tegakan Avicenia sp. A. isolat AAR-1 dan B. isolat AAR-2

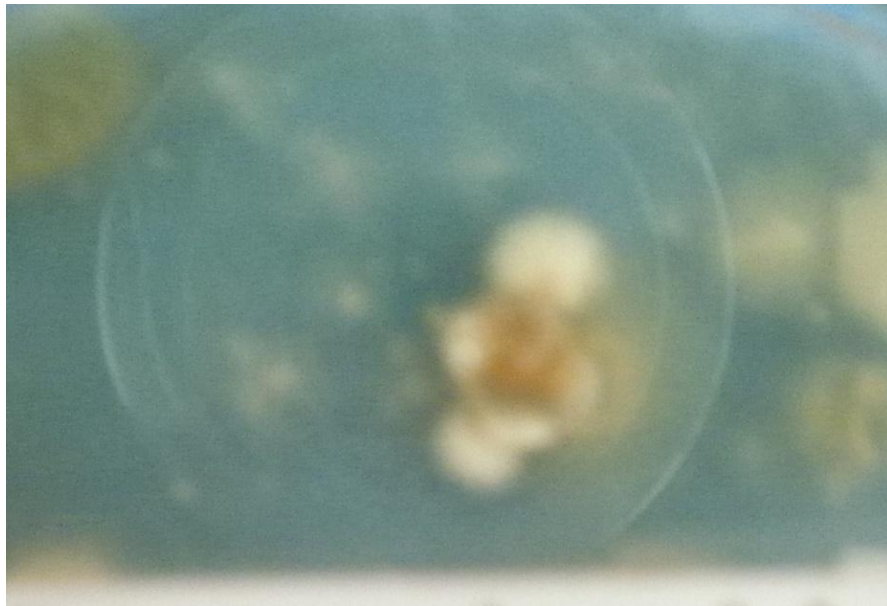
b. Tegakan Soneratia sp

Hasil isolasi actinomycetes pada rhizozfer tegakan Soneratia sp diperoleh 2 isolat selanjutnya disebut sebagai isolat ASR-1 dan ASR-2 (Gambar 3). Kedua isolat menunjukkan perbedaan morfologi koloni yang ditandai dengan perbedaan warna koloni. Isolat ASR-1 ditandai dengan morfologi koloni berwarna coklat sedangkan isolat ASR-2 ditandai dengan morfologi koloni berwarna putih tengah coklat.

Hasil pengamatan terhadap isolasi mikroba pada sampel batang dan daun tegakan Avicenia sp tidak diperoleh isolat actinomycetes.



A

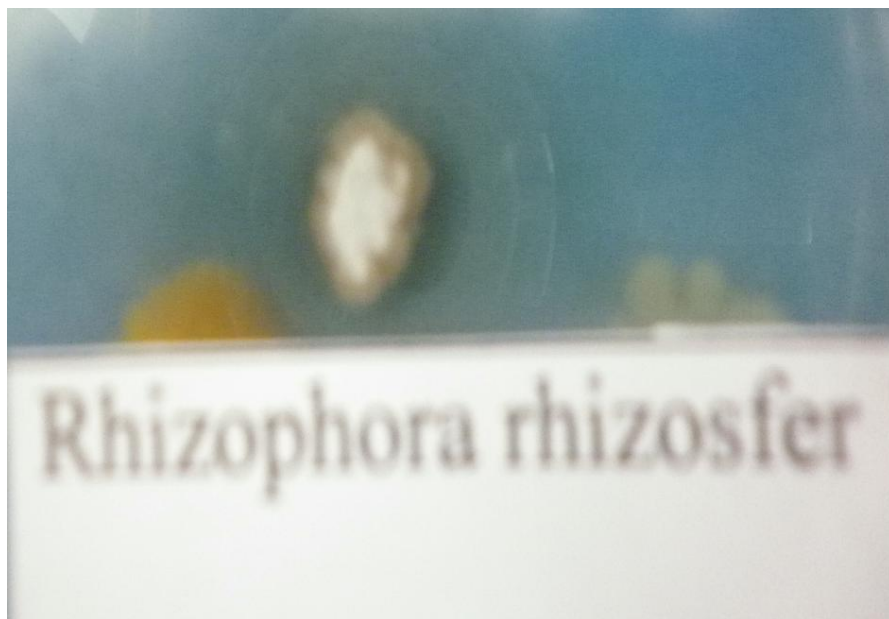


B

Gambar 4 : Morfologi actinomycetes yang diisolasi dari rhizozfer tegakan Soneratia sp. A. Isolat ASR-1 dan B. isolat ASR-2

c. Tegakan *Rhizophora* sp

Hasil isolasi actinomycetes pada rhizosfer tegakan *Rhizophora* sp diperoleh 1 isolat selanjutnya disebut sebagai isolat ARR (gambar 4). Isolat ARR ditandai dengan morfologi koloni berwarna coklat tengah berwarna coklat. Sedangkan isolasi pada sampel batang dan daun tegakan *Rhizophora* sp tidak ditemukan isolat actinomycetes.



Gambar 5 : Morfologi actinomycetes yang diisolasi dari rhizosfer tegakan *Rhizophora* sp

2. Seleksi Kemampuan Antimikrobia

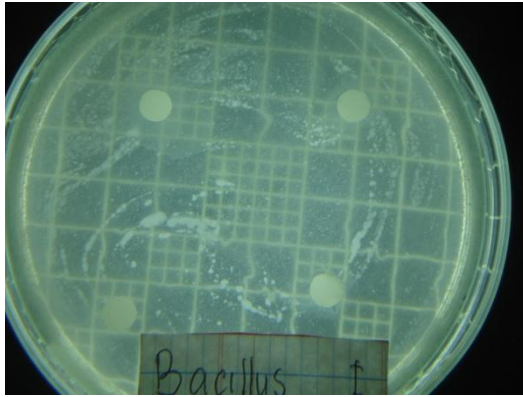
Uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes didasarkan pada metode paper disk dimana isolat mikroba dikatakan mempunyai kemampuan antimikroba apabila terbentuk zona hambat di sekitar kertas cakram pada masing-masing bakteri uji antara lain *Echerichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

Hasil pengamatan terhadap kemampuan antimikroba masing-masing isolat actinomycetes diperoleh bahwa seluruh isolat yang diisolasi dari masing-masing tegakan mangrove tidak memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap mikroba uji. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram setelah diinkubasi selama 24-48 jam. Hasil pengamatan terhadap pembentukan zona hambat pada masing-masing iaolat actinomycetes dapat dilihat pada tabel 3.

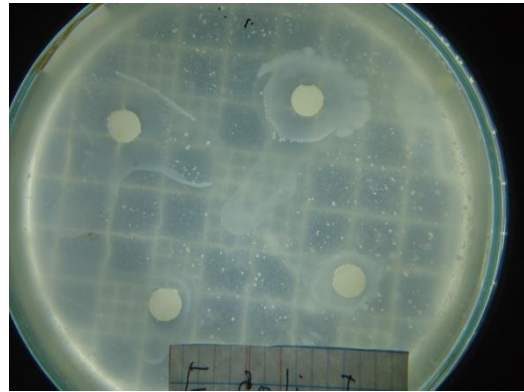
Tabel 3 : Hasil pengamatan terhadap pembentukan zona hambat di sekitar kertas cakram pada masing-masing isolat actinomycetes terhadap mikroba uji.

No	Nama Isolat	Mikroba Uji			
		<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1	AAR-1	-	-	-	-
2	AAR-2	-	-	-	-
3	ASR-1	-	-	-	-
4	ASR-2	-	-	-	-
5	ARR	-	-	-	-

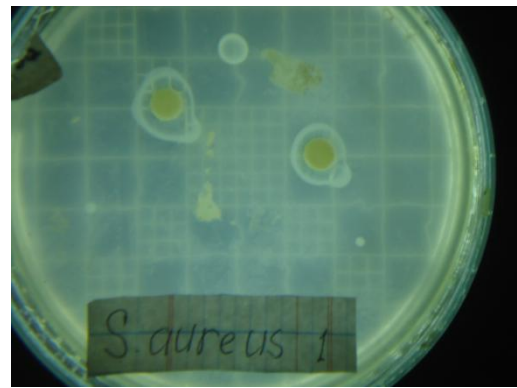
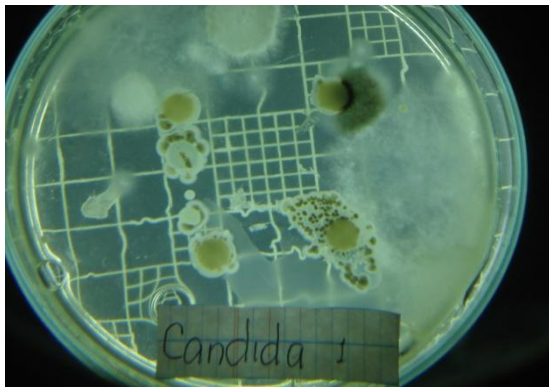
Hasil pengamatan terhadap kemampuan antimikroba masing-masing isolat actinomycetes ditunjukkan pada Gambar 5 - 8. Gambar tersebut menunjukkan bahwa seluruh isolat actinomycetes yang diisolasi dari tegakan *Avicenia* sp, *Rhizophora* sp dan *Soneratia* sp tidak mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji. Gambar menunjukkan adanya pertumbuhan isolat actinomycetes bersamaan dengan mikroba uji tanpa saling mempengaruhi satu sama lain.



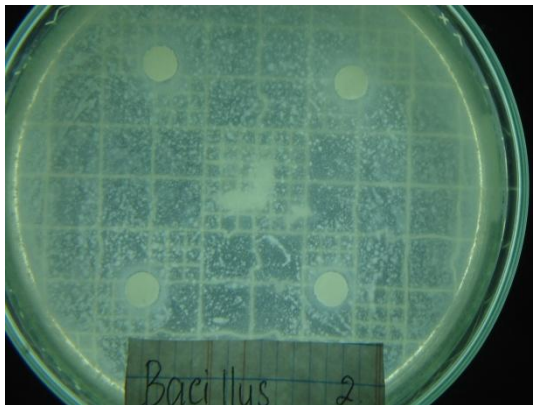
A



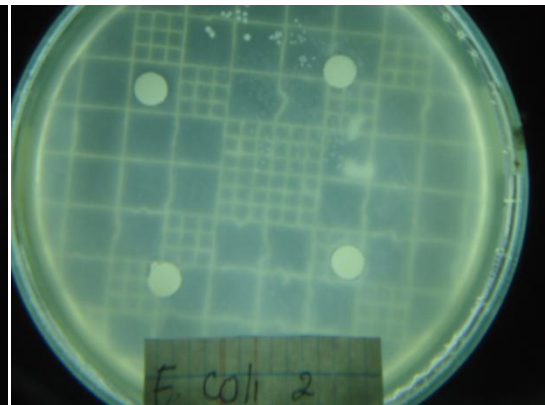
B



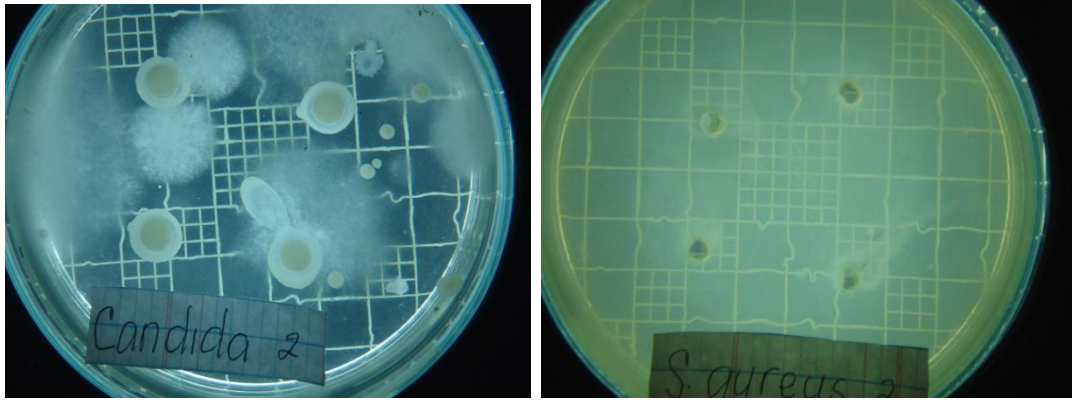
Gambar 6. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes AAR-1 terhadap mikroba uji *Bacillus subtilis* (A), *E.coli* (B), *Candida albicans* (C) dan *S. aureus* (D).



A



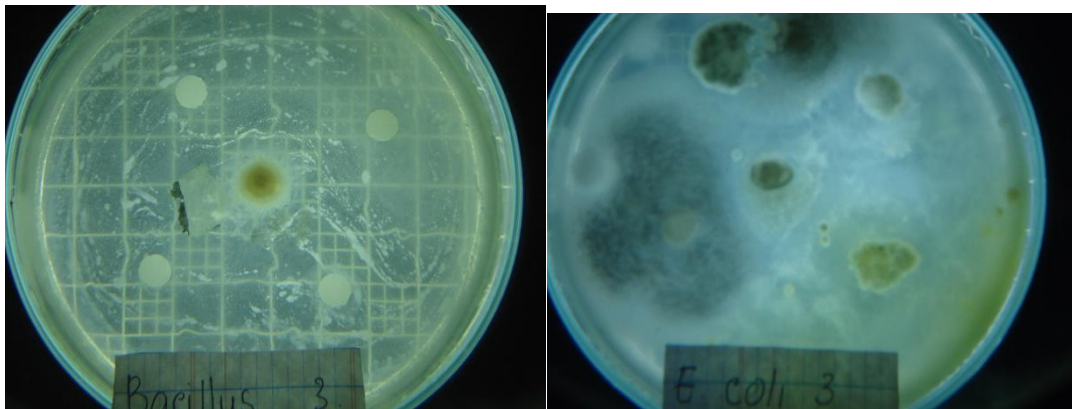
B



C

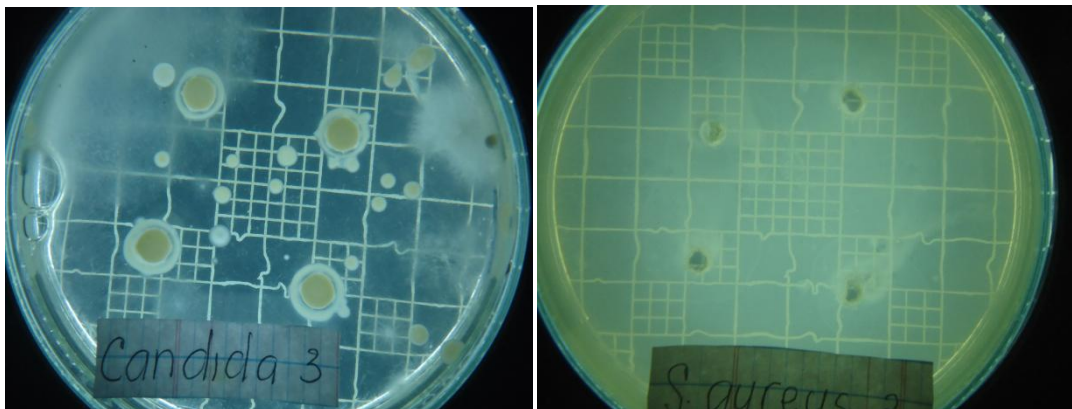
D

Gambar 7. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes AAR-2 terhadap mikroba uji *Bacillus subtilis* (A), *E.coli* (B), *Candida albicans* (C) dan *S. aureus* (D).



A

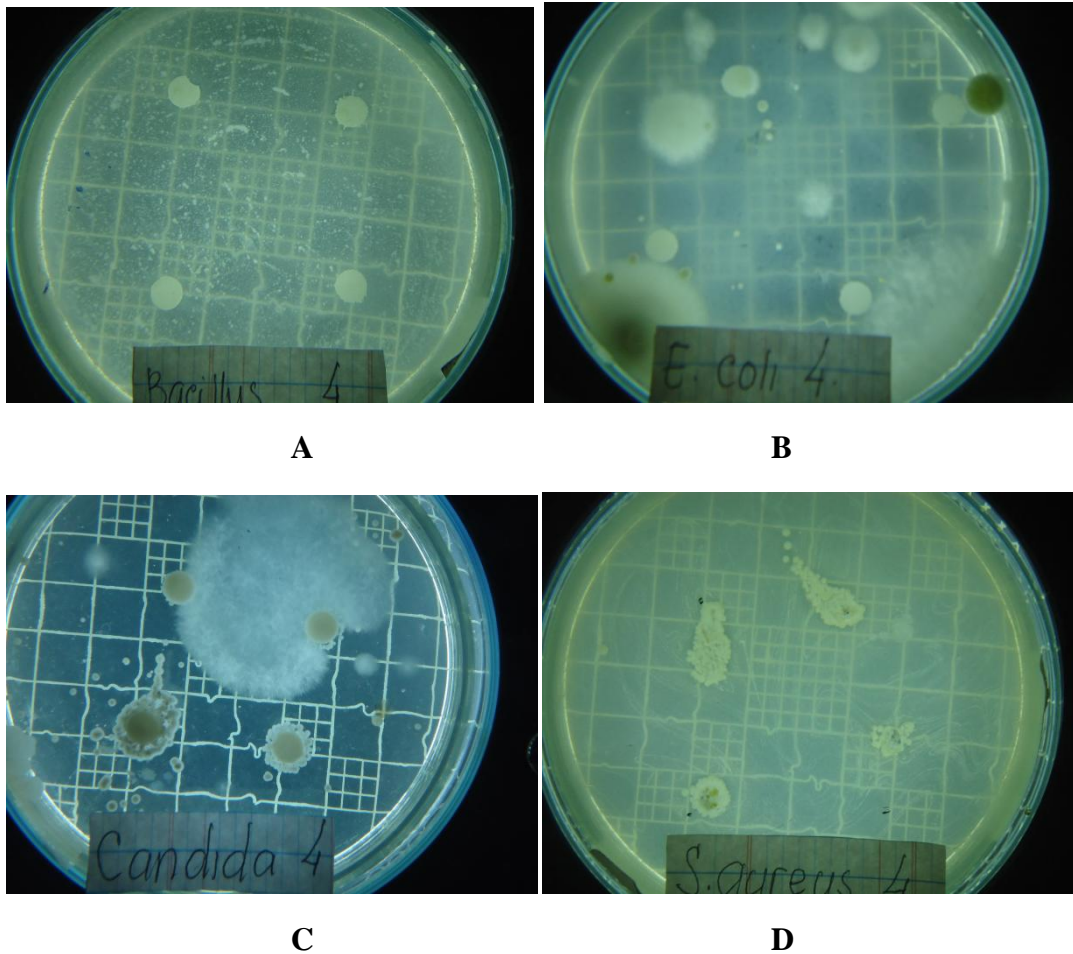
B



C

D

Gambar 8. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes ASR-1 terhadap mikroba uji *Bacillus subtilis* (A), *E.coli* (B), *Candida albicans* (C) dan *S. aureus* (D).



Gambar 9. Hasil uji kemampuan antimikroba isolat actinomycetes ARR terhadap mikroba uji *Bacillus subtilis* (A), *E.coli* (B), *Candida albicans* (C) dan *S. aureus* (D).

3. Uji penghasilan metabolit sekunder atau antibiotik

Uji penghasilan antibiotik oleh isolat actinomycetes didasarkan pada hasil seleksi kemampuan antibakterial, dimana isolat actinomycetes yang menunjukkan kemampuan antimikroba selanjutnya diuji kemampuan penghasilan antibiotik. Hasil pengamatan terhadap uji kemampuan antimikroba diperoleh bahwa tidak ada satupun isolat actinomycetes yang menunjukkan penghambatan terhadap mikroba

uji, hal tersebut berarti isolat actinomycetes diduga tidak memiliki kemampuan menghasilkan antibiotik.

B. Pembahasan

Kawasan mangrove merupakan kawasan dengan kondisi fisikokimia yang ekstrim yang disebabkan oleh adanya pengaruh pasang surut air laut. Kawasan mangrove desa Bulalo yang terletak d Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo dihuni oleh beberapa tegakan diantaranya adalah Tegakan *Rhizopora* sp, *Avicenia* sp dan *Soneratia* sp. Berdasar hasil penelitian terhadap kondisi fisikokimia kawasan mangrove khususnya pada masing-masing tegakan diperoleh kondisi yang bervariasi dengan pH paling rendah pada tegakan *Soneratia* sp yaitu 4,5. Sementara parameter suhu, kelembaban tanah dan salinitas tidak berbeda jauh. Keadaan yang demikian merupakan faktor pembatas untuk diversitas mikroba yang tumbuh pada masing-masing tegakan dimana faktor lingkungan merupakan faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada masing-masing tegakan khususnya pada sampel rhizosfer diperoleh jenis actinomycetes yang berbeda yang ditunjukkan dengan morfologi koloni yang berbeda pada masing-masing jenis. Mikroorganisme khususnya actinomycetes memerlukan syarat tumbuh yang spesifik pada masing-masing jenis. Pada tegakan *Soneratia* yang dibatasi dengan kondisi pH sedimen yang asam memungkinkan hanya jenis actinomycetes yang mampu beradaptasi pada kondisi pH asam yang tumbuh. Sehingga kedua jenis isolat actinomycetes ASR-1 dan ASR-2 tidak dijumpai pada tegakan *Rhizophora* dan Tegakan *Avicenia*.

Disamping pengaruh faktor lingkungan sebagai salah satu faktor pembatas pertumbuhan mikroba di lingkungan, faktor lain yang sangat berpengaruh adalah hubungan atau asosiasi antara mikroba dengan jenis tegakan sebagai habitat pertumbuhannya. Mikroba rhizozfer merupakan mikroba yang tumbuh didaerah sistem perakaran tanaman. Jumlah, diversitas dan jenisnya sangat dipengaruhi oleh eksudat/senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman. Mikrobia rhizozfer pada dasarnya mendapatkan nutrient untuk pertumbuhannya dari senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman khususnya rambut akar dan sel epidermis disamping senyawa organik yang berada di lingkungan.

Actinomycetes penting sebagai penghasil antibiotik, hampir tiga perempat dari antibiotik yang ada merupakan produksi dari actinomycetes, khususnya adalah *Streptomyces* merupakan genus yang paling produktif dan dapat menghasilkan metabolit sekunder aktif yang lainnya. Hampir sekitar 80% dari total antibiotik adalah produksi dari kelompok *Streptomyces*. Selanjutnya kelompok *Micromonospora* juga merupakan penghasil antibiotik tetapi tidak sebanyak *Streptomyces* (Sateesh *et al*, 2011). Karena kepentingannya yang sangat besar, maka mulai difokuskan untuk melakukan isolasi jenis actinomycetes yang baru dari lingkungan terestrial. Disamping itu mulai juga dikembangkan isolasi actinomycetes dari lingkungan lain, khususnya lingkungan yang ekstrem. Berdasar hal tersebut maka dilaksanakan penelitian untuk menguji kemampuan actinomycetes yang berhasil diisolasi dari kawasan mangrove desa Bulalo sebagai antimikroba terhadap mikroba uji *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

tidak satupun dari isolat actinomycetes pada tiga tegakan mangrove desa Bulalo yang menunjukkan kemampuan sebagai antimikroba. Hal tersebut berarti jenis actinomycetes tersebut kemungkinan tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder atau antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji.

Kemampuan suatu mikroba dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder khususnya dipengaruhi oleh kemampuan fisiologi masing-masing jenis mikroba. Pembentukan metabolit sekunder diatur oleh nutrisi, penurunan kecepatan pertumbuhan, *feedback control*, inaktivasi enzim, dan induksi enzim. Keterbatasan nutrisi dan penurunan kecepatan pertumbuhan akan menghasilkan sinyal yang mempunyai efek regulasi sehingga menyebabkan diferensiasi kimia (metabolit sekunder) dan diferensiasi morfologi (morfogenesis) (Demain 1998 dalam Noviani, 2008). Signal ini adalah suatu induser dengan berat molekul rendah yang berkerja sebagai kontrol negatif sehingga pada keadaan normal (pertumbuhan cepat dan cukup nutrisi) mencegah pembentukan metabolit sekunder dan morfogenesis.

Disamping itu juga terdapat beberapa hambatan yang ditemui dalam sintesis metabolit sekunder di laboratorium. Beberapa mikroba yang hidup bersimbiosis dengan mahluk hidup di laut sulit dikulturkan di laboratoium. Beberapa mikroba penghasil metabolit sekunder dapat juga kehilangan kapasitas menghasilkan metabolit sekunder setelah penyimpanan dalam waktu singkat (Tabarez 2005). Penyebab hal ini adalah tidak terpenuhinya kebutuhan nutrisi atau strain penghasil metabolit sekunder tidak berada dalam keadaan stres serta bisa juga disebabkan oleh lingkungan abiotik (Noviani, 2008).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasar hasil penelitian maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Isolasi actinomycetes pada kawasan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara diperoleh lima isolat actinomycetes masing-masing satu isolat ARR pada tegakan *Rhizophora* sp, isolat ASR-1 dan ASR-2 pada tegakan *Sonneratia* sp dan Isolat AAR-1 dan AAR-2 pada tegakan *Avicennia* sp.
2. Seluruh isolat actinomycetes yang berhasil diisolasi tidak menunjukkan kemampuan sebagai antimikroba
3. Tidak terdapat antibiotik yang dihasilkan oleh isolat actinomycetes yang diisolasi dari ketiga tegakan mangrove.

B. Saran

1. Ekosistem mangrove merupakan ekosistem yang kompleks dengan mikroorganisme penyusun yang sangat bervariasi disamping actinomycetes. Untuk itu perlu dilakukan eksplorasi untuk jenis fungi dan bakteri jenis lain.
2. Produksi metabolit sekunder pada mikroorganisme khususnya actinomycetes yang dilaksanakan di laboratorium sangat dipengaruhi oleh banyak faktor pembatas, sehingga perlu dilakukan uji lebih lanjut dengan memperhatikan faktor-faktor penghambat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, S., M. Subhan, F. Durrani, S. Mehmood, H. Khan and A. Hameed. 2010. Biosynthesis of antibiotic through metabolism of actinomycetes strain MH-9 through shake flask fermentation. *Sarhad J. Agric.* Vol. 26(1). Pp. 7-18.
- Ari Kurniati. 2011. Isolasi actinomycetes halotoleran dari kawasan managrove Segara Anakan Cilacap yang berpotensi sebagai sumber senyawa antibakteri. *Abstrak online*. <http://bio.unsoed.ac.id>
- Atlas R.M. 1997. Principles of Microbiology. 2nd ed. Wm.C. Brown Publishers. Pp. 468
- Baltz R.H. 2007. Antomicrobilas from actinomycetes : Back to the future. *Microbe*. Vol. 2 (3), pp. 125-131
- Baskaran R, R. Vijayakumar and P.M Mohan. 2011. Enrichment method for the isoation of bioactive actinomycetes from mangrove sediment of Andaman Island, India. *Malaysian journal of Microbiology*, Vol 7(1), pp. 26-32
- Erna Rochana. 2012. Ekosistem mangrove dan pengelolaannya Di indonesia. www.irwantoshut.com
- Gossart H.P, A. Schlingloff, M. Bernhard, M. Simon, and T. Brinkhoff. 2004. Antagonistic activity of bacteria isolated from organic aggregates of the German Wadden Sea. *FEMS Microbial Ecol.* Vol. 47: 387-396
- Katili A.S. 2009. Struktur Vegetasi Mangrove di Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara, Provinsi Gorontalo. *Jurnal Pelangi Ilmu*, Vol.2 (6). Pp.
- Kin S lam. 2006. Discovery of novel metabolites from marine actinomecetes. *Current Opinion in Microbiology*, Vol. 9: 245-251
- Kui Hong, An-Hui Gao, Qing-Yi Xie, Hao Gao, Ling Zhuang, Hai-peng Lin, Hai-Ping Yu, Jia Li, Xin-Sheng Yao, Michael Goodfellow and Ji-Sheng Ruan. 2009. Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China. *Marine Drugs*. Vol. 7, p. 24 – 44.
- Nanjwade B.K, S. Chandrashekhara, A.M Shamarez, P.S Goudanavar, and F.V Manvi. Isolation and Morphological Characterization of Antibiotic Producing Actinomycetes. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 9 (3): 231-236

- Noviani R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*. 10 (2). P. 120-125
- Ravikumar. S, S.J Ibaneson, M. Uthiraselvam, S. R. Priya, A. Ramu ang M.B Banerjee. 2011. Diversity of endophytic actinomycetes from Karangkadu mangrove ecosystem and its antibacterial potential againts bacterial pathogens. *Journal of Pharmacy Research*. Vol. 4(1), 294-296
- Ravikumar S, M. Fredimoses, and R. Gokulakrishnan. 2011. Biodiversity of actinomycetes in Manakkudi mangrove ecosystem, Southwest coast of India. *Annals of Biological Research*. Vol. 2(1), pp. 76-82
- Sahoo. K and N.K Dhal. 2008. Potential microbial diversity in mangrove ecosystema : A review. *Indian Journal of marine Science*. Vol. 38 (2), pp. 249-256.
- Sateesh V.N and J.L Rathod. 2011. Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. *Journal of Ecobiotechnology*, 3(10):48-53
- Tenover F.C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine*. Vol. 119 (6A), pp. S3-S10.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi pengambilan sampel di kawasan mangrove desa Bulalo Kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara



Gambar 8. Kawasan mangrove desa Bulalo kecamatan Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara sebagai lokasi pengambilan sampel



Gambar 9. Sedimen pada tegakan mangrove sebagai sampel



Gambar 10. Salah satu mahasiswa melakukan pengambilan sampel sedimen pada tegakan *Rhizophora* sp



Gambar 11. Salah satu mahasiswa melakukan pengambilan sampel sedimen pada tegakan *Avicennia* sp



Gambar 11. Penjelajaran didalam hutan mangrove untuk menemukan lokasi tegakan mangrovve