

**POTENSI METABOLIT SEKUNDER ANTIFUNGI AKTINOMISETES YANG DIISOLASI
DARI TANAH MANGROVE WONOREJO SURABAYA
TERHADAP *Trichophyton rubrum***

Fitria Febrianti

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; fitria0202.f0@gmail.com

Retno Sasongkowati

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; Retnosasongkowati123@gmail.com

Anita Dwi Anggraini³

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; Anita.anggraini40@yahoo.com

ABSTRACT

*Actinomycetes are gram-positive bacteria that have aerobic properties. Actinomycetes have the ability to produce antibiotic compounds. Actinomycetes are the second largest organisms that live in soil with a population of 1-10 million per gram of soil. Actinomycetes also make up 10-50% of the microbes in the soil. The purpose of this study was to determine the antifungal activity of actinomycetes isolates isolated from the soil of the Mangrove Wonorejo forest in Surabaya against the fungus *Trichophyton rubrum*. This type of research is an experimental laboratory with quantitative analysis. Actinomycetes isolates were taken from 3 different soil locations, pretreatment by heat treatment at 90°C for 15 minutes. Actinomycetes were isolated on casein starch agar medium which had been added with 0.002% Nystatin. Selection of antimicrobial compounds was based on the disc diffusion method which was characterized by the formation of a zone of inhibition around the disc. The results showed that from 3 locations of soil sampling, 8 actinomycetes isolates were obtained, but only 6 isolates were able to inhibit the fungus *Trichophyton rubrum*. showed that isolates C3-2, B3-1, C4-1, were categorized as having very strong inhibitory power. While isolates A5-1, A3-2 were categorized as having inhibitory power and isolates A4-1 and A4-2 were categorized as having moderate inhibitory power against the fungus *Trichophyton rubrum*.*

Keywords: Aktinomisetes; Antifungi; Jamur *Trichophyton rubrum*.

ABSTRAK

Aktinomisetes merupakan bakteri gram positif yang memiliki sifat aerob. Aktinomisetes mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa antibiotika. Aktinomisetes merupakan organisme kedua terbesar yang hidup di tanah dengan populasi sebanyak 1 – 10 juta per gram tanah. Aktinomisetes juga menyusun 10-50% mikroba dalam tanah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antifungi isolat aktinomisetes yang diisolasi dari tanah hutan Mangrove Wonorejo Surabaya terhadap Jamur *Trichophyton rubrum*. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan analisa kuantitatif. Isolat aktinomisetes diambil dari 3 titik lokasi tanah yang berbeda, dilakukan pretreatment dengan cara panas (heatshock treatment) pada suhu 90°C selama 15. Aktinomisetes diisolasi pada medium starch casein agar yang telah ditambahkan dengan Nystatin 0,002%. Seleksi isolate senyawa penghasil antimikroba berdasarkan metode difusi cakram yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan dari 3 lokasi pengambilan sampel tanah didapatkan 8 isolat aktinomisetes, namun hanya 6 isolat yang mampu menghambat jamur *Trichophyton rubrum*. menunjukkan bahwa isolat C₃-², B₃-¹, C₄-¹, dikategorikan mempunyai daya hambat yang sangat kuat. Sedangkan isolat A₅-¹, A₃-² dikategorikan mempunyai daya hambat kuat dan isolat A₄-¹ dan A₄-² dikategorikan mempunyai daya hambat sedang dalam menghambat jamur *Trichophyton rubrum*.

Kata kunci: Aktinomisetes; Antifungi; Jamur *Trichophyton rubrum*.

PENDAHULUAN

Trichophyton rubrum merupakan jamur jenis dermatofita. Jamur ini dapat menyebabkan dermatofitosis kronis. Beberapa penelitian menyebutkan jamur ini paling banyak ditemukan pada sampel rambut, kulit, kuku, kulit jari ⁽⁴⁾. Keadaan basah dan lembab menjadi faktor yang mempengaruhi infeksi dermatofita ini. Dermatofitosis sering ditemui di negara tropis, Indonesia salah satunya. Dermatofitosis superfisialis sangat sering ditemui dimana telah mengenai 20-25% populasi dunia ⁽⁵⁾. Di Indonesia prevalensi dermatofitosis cukup tinggi, di Sulawesi Selatan berkisar 53,2%, di Makasar 5,06% pada tahun 2009 dan mengalami kenaikan hampir tiga kali lipat pada tahun 2012 menjadi 14,60% ⁽¹⁾.

Obat yang digunakan sebagai terapi dermatofitosis antara lain adalah golongan alilamin (terbinafin), golongan triazole (ittrakonasol dan flukonazol), golongan imidazol (ketokonazol), dan griseofulvin⁽²⁾. Selain itu kasus resistensi terhadap obat anti jamur juga sudah ditemukan. Berdasarkan data pasien baru dermatofitosis di Divisi Mikologi URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama bulan Januari sampai dengan Juni 2014 yang mendapat terapi ketokonazol 21 dari 78 (26,9%) orang membutuhkan waktu terapi lebih dari 2 minggu. Hasil tersebut disebabkan oleh berbagai faktor antara lain kemungkinan adanya resistensi ketokonazol terhadap spesies dermatofit sehingga diperlukan waktu penyembuhan yang lebih lama⁽²⁾.

Muncul dan berkembangnya resistensi antibiotika dapat disebabkan oleh kesalahan penggunaan antibiotika dalam pengobatan⁽³⁾. Karena adanya kasus resistensi terhadap antibiotik, maka diperlukan alternatif lain dalam upaya mengobati penyakit dermatofitosis. Salah satu sumber metabolit sekunder yang bersifat antibiotika dapat berasal dari aktinomisetes. Sekitar 70% antibiotika yang telah ditemukan dihasilkan oleh Actinomycetes terutama dari genus Streptomyces⁽³⁾. Bakteri kelas actinobacteria dapat menghasilkan metabolisme sekunder dimana metabolisme sekunder merupakan hal yang menarik karena aktivitas biologi yang beragam seperti antibakteri, antifungi, antioksidan, antitumor dan antivirus⁽⁶⁾.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yang merupakan suatu penelitian untuk mengetahui apakah terdapat aktinomisetes yang dapat diisolasi dari lingkungan hutan Mangrove Wonorejo Surabaya. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya Jalan Karangmenjangan no. 18A Surabaya pada bulan Januari 2021 hingga Mei 2021. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh Aktinomisetes yang terdapat pada Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat Aktinomisetes yang terdapat pada Hutan Mgrove Wonorejo Surabaya dan memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri terhadap mikroorganisme uji yaitu jamur *Trichophyton rubrum*.

Prosedur Kerja

Isolasi dan Direct Screening Aktinomisetes

Sampel yang telah diambil dilakukan pengenceran dari sampel sampai 10^{-5} . Masing-masing tiap pengenceran diambil 1 ml dan diinokulasikan secara duplo pada medium SCA. Media yang sudah diinokulasi diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang.

Identifikasi Aktinomisetes

Identifikasi Aktinomisetes dilakukan dengan cara yaitu makroskopis, pewarnaan gram dan uji katalase. Pengamatan morfologi secara makroskopis yaitu dengan cara mengamati secara langsung ciri-ciri koloni yang meliputi bentuk, tepi ukuran tekstur dan warna koloni. Koloni aktinomisetes dikenali dari penampakannya yang mencengram agar. Uji pewarnaan Gram isolat Actinomycetes dilakukan dengan mengambil isolat menggunakan ose kemudian diletakkan pada cairan akuades diatas kaca preparat, dan dilakukan fiksasi. Kristal violet ditambahkan dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas menggunakan akuades dan dikeringkan. Setelah itu iodin ditambahkan dan diamkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Alkohol 96% ditambahkan dan didiamkan 20 detik lalu bilas menggunakan akuades setelah kering ditambahkan safranin didiamkan 20 detik lalu dibilas menggunakan akuades dan dikeringkan. Kemudian diamati menggunakan mikroskop. Uji kataase dilakukan dengan cara yaitu koloni aktinomisetes diambil satu ose secara aseptis dan diinokulasikan pada object glass. H_2O_2 3% diteteskan pada object glass sebanyak satu tetes.

Produksi Metabolit Sekunder yang Berpotensi sebagai Antifungi

Aktinomisetes yang telah berhasil diperoleh dari medium isolasinya selanjutnya dilarutkan dalam medium NaCl 0,90% sebanyak 5 ml. Kemudian diinkubasi diatas Shaker Orbital dengan kecepatan 200 rpm selama 5 hari.

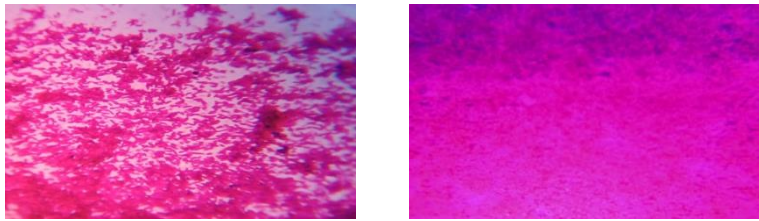
Uji Aktivitas Antifungi terhadap Jamur Uji

Ekstrak diteteskan pada kertas cekram sebanyak 50 μL , kemudian dibiarkan selama 20 menit. Kertas cakram tersebut ditempatkan pada cawan petri yang sudah diinokulasikan jamur uji. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu optimal jamur *Trichophyton rubrum*.

HASIL

Hasil screening awal pengambilan tanah pada hutan Mangrove Wonorejo Surabaya diperoleh sebanyak 40 isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi. Hasil ini didapatkan dari direct screening secara makroskopis berdasarkan pengamatan koloni aktinomisetes yang mencekram agar, serta memiliki pgmen berwarna putih susu

dengan permukaan tidak rata. Dari 40 isolat hanya 8 isolat yang menunjukkan hasil pewarnaan gram positif berhifa.

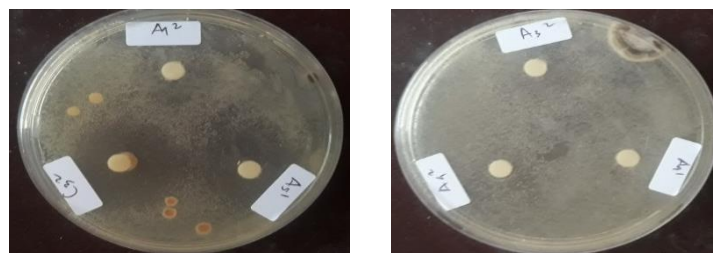


Gambar 1 . Aktinomisetes pada pengamatan secara mikroskopis pewarnaan gram basil positif berhifa

Gambar 1 menunjukkan bahwa sebanyak 8 isolat yang telah dilakukan direct screening aktinomisetes dilakukan uji aktivitas antifungi dengan menggunakan metode difusi cakram. Sedangkan, hasil uji antifungi aktinomisetes terhadap jamur *Trichophyton rubrum* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2 sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil uji antifungi aktinomisetes terhadap jamur *Trichophyton rubrum*

Kode Plate	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)
1	C ₃ ⁻²	24
	A ₅ ⁻¹	20
	A ₄ ⁻²	10
2	B ₃ ⁻¹	30
	C ₄ ⁻¹	30
	A ₄ ⁻¹	6
3	A ₄ ⁻²	6
	A ₃ ⁻²	10
4	C ₃ ⁻²	18
	A ₅ ⁻¹	16
	A ₄ ⁻²	10
5	B ₃ ⁻¹	26
	C ₄ ⁻¹	24
	A ₄ ⁻¹	Negatif
6	A ₄ ⁻²	Negatif
	A ₃ ⁻²	28



Gambar 2. Gambar (a) menunjukkan adanya daya hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening aktinomisetes terhadap jamur *Trichophyton rubrum*, gambar (b) tidak menunjukkan adanya zona bening.

Pada tabel 1 menunjukkan hasil daya hambat aktinomisetes terhadap jamur *Trichophyton rubrum*, dari 8 isolat yang digunakan sebagai uji antifungi terdapat 6 isolat yang dapat menghambat jamur *Trichophyton rubrum*. Dari zona hambat yang terbentuk yang menghasilkan zona hambat dengan kategori sangat kuat adalah kode isolat C₃⁻², B₃⁻¹, C₄⁻¹.

PEMBAHASAN

Setelah dilakukan direct screening aktinomisetes hasil isolasi diperoleh sebanyak 30 isolat. Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan pewarnaan gram terdapat 8 isolat yang diketahui berbentuk batang bercabang, berwarna ungu dan termasuk gram positif yang termasuk ciri-ciri dari aktinomisetes. Sedangkan 22 isolat lainnya menunjukkan pewarnaan gram positif, kokus negatif tetapi tidak ditemukan hifa. Setelah itu koloni yang diduga aktinomisetes dimurnikan pada media SCA (Strach M-Protein Agar). Hal ini dilakukan untuk memperoleh koloni murni.

Uji aktivitas antifungi terhadap jamur *Trichophyton rubrum* dilakukan di media SDA (Saboroud Dextrose Agar). Metode yang digunakan adalah difusi cakram, sebelumnya media SDA ditanami dengan biakan murni jamur *Trichophyton rubrum* yang telah diencerkan dengan NaCl 0,9% dan diinkubasi diatas shaker orbital selama 12 jam. Inkubasi ini berfungsi untuk memicu isolat aktinomisetes menghasilkan metabolit sekunder. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh 6 dari 8 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan pada jamur *Trichophyton rubrum*. Aktinomisetes dapat menghasilkan zat-zat antimikroba dan asam amino. Antibiotik dimiliki aktinomisetes dapat menghambat bahkan mematikan patogen, sehingga pertumbuhan diameter koloni jamur patogen terhambat, karena adanya zat-zat dimiliki aktinomisetes mampu merusak dinding sel dan sitoplasma dari pathogen ⁽⁶⁾.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi dan dilakukan identifikasi dari sampel tanah hutan Mangrove Wonorejo Surabaya sebanyak 8 isolat. Dari 8 isolat yang telah dilakukan identifikasi dan direct screening secara makroskopis, mikroskopis, dan uji katalase didapatkan 6 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum*. Dengan 3 isolat menghasilkan daya hambat yang sangat kuat, 2 isolat menghasilkan daya hambat kuat dan 2 isolat lagi menghasilkan daya hambat yang sedang. Sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan oleh aktinomisetes dapat digunakan sebagai alternatif untuk menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum*. Diharapkan bagi peneliti selanjutnya untuk mengetahui kandungan senyawa antifungi yang terkandung dalam isolate aktinomisetes yang digunakan sebagai antifungi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abd.Gafur. Determinan Kejadian Dermatitis Di Puskesmas Rappokalling Kota Makassar. Window of Health. 2018
2. Anggarini. Uji Kepekaan Griseofulvin, Ketokonazol, Itrakonazol, dan Terbinafin terhadap Spesies Dermatofit dengan Metode Mikrodilusi . BIKKK - Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin - Periodical of Dermatology and Venereology. 2015.
3. Kumiati. ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI ACTINOMYCETES BERASOSIASI DENGAN KORAL. Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2019: 46-51.
4. Khusnul. UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS (*Alpinia galanga* L) TERHADAP PERTUMBUHAN *Trichophyton rubrum* SECARA in vitro. jurnal kesehatan bakti tunas husada, 2017.
5. Napitupulu. PREVALENSI DAN FAKTOR RISIKO TERJADINYA TINEA PEDIS PADA POLISI LALU LINTAS KOTA SEMARANG. jurnal kedokteran diponegoro. 2016.
6. Queendy. AKTIVITAS ANTIFUNGI ISOLAT AKTINOMISETES ARBORETUM UNIVERSITAS RIAU TERHADAP JAMUR *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* DAN *Ganoderma boninense*. AL-KAUNIYAH : Journal of Biology. 2019.