



## Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder dan Skrining Aktivitas Antibakteri Isolat Actinomycetes Rizosfer Tanaman Tin (*Ficus carica*)

### *The Optimization of Secondary Metabolite Production Time and Screening Antibacterial Activity of Actinomycetes Isolate from Tin Plant Rizosfer (*Ficus carica*)*

Warsi<sup>1a\*</sup>, Nanik Sulistyani<sup>2b</sup>

<sup>1,2</sup> Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

<sup>a</sup> Email address: warsisuryatmoko@gmail.com

<sup>b</sup> Email address: do not have email

#### HIGHLIGHTS

- The second day was the best incubation time to harvest antibiotics

#### ARTICLE INFO

##### Article history

Received date : February 02<sup>nd</sup>, 2018

Revised date : February 28<sup>th</sup>, 2018

Accepted date : March, 27<sup>th</sup>, 2018

##### Keywords:

Actinomycetes  
*Ficus carica*  
 MRSA  
 Rhizosphere  
 Tin

#### ABSTRACT / ABSTRAK

Some Actinomycetes isolates of tin plant (*Ficus carica* L.) have been obtained, namely T24M, T18, T19, T24, T25, T34, T37, T41 and T43. The aim of this study were to optimize the production of secondary metabolites (antibiotics) and screening antibacterial activity against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from the Actinomycetes isolate of the tin rhizosphere. The study was performed with test an activity of the culture fluid from Actinomycetes isolate against MRSA by the well method. The result of optimization secondary metabolite production showed that the second day was the best incubation time to harvest antibiotics. The results showed that bacterial isolates of T24M produced antibiotics that could inhibit MRSA growth.

##### Kata Kunci:

Actinomycetes  
*Ficus carica*  
 MRSA  
 Rhizosphere  
 Tin

Telah dihasilkan beberapa isolat Actinomycetes rizosfer tanaman tin (*Ficus carica* L.) yaitu T24M, T18, T19, T24, T25, T34, T37, T41 dan T43. Tujuan penelitian ini adalah untuk optimasi produksi metabolit sekunder (antibiotik) dan skrining aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dari isolat Actinomycetes rizosfer tanaman tin. Penelitian dilakukan dengan menguji aktivitas cairan kultur isolat Actinomycetes terhadap MRSA dengan metode sumuran. Hasil optimasi produksi metabolit sekunder menunjukkan bahwa hari kedua merupakan waktu inkubasi terbaik untuk memanen antibiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri T24M menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan MRSA.

Copyright © 2018 Jurnal Teknologi Laboratorium.  
 All rights reserved

#### Corresponding Author:

Warsi  
 Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan  
 Jalan Prof. Dr. Soepomo, S.H., Janturan, Warungboto, Umbulharjo, Yogyakarta 55164  
 Email: warsisuryatmoko@gmail.com

## 1. PENDAHULUAN

Berbagai bakteri patogen yang multiresisten terhadap antibiotik menjadi problem utama dalam terapi klinis. Multiresistensi menyebabkan keparahan terhadap suatu penyakit dan dampak yang sering terjadi ialah pasien tidak terobati lagi. Berdasarkan angka kejadian tersebut sehingga perlu dilakukan eksplorasi supaya diperoleh antibiotik baru untuk mengatasi kondisi tersebut.<sup>1,2,3</sup> Produk alam dari mikroba telah menjadi salah satu sumber utama obat baru bagi industri farmasi dalam pengembangan antibiotik. Antibiotik yang telah ditemukan terdapat kurang lebih 70% berasal dari Actinomycetes.<sup>4</sup> Namun saat ini masih banyak senyawa-senyawa baru yang dapat dieksplorasi dari sumber alam, khususnya Actinomycetes.<sup>5</sup> Actinomycetes merupakan sumber utama senyawa antibiotik baru yang dapat dikembangkan menjadi obat.<sup>6</sup>

Actinomycetes adalah bakteri yang bersifat anaerobik atau fakultatif. Actinomycetes secara umum berbentuk batang dan merupakan bakteri gram positif. Morfologi Actinomycetes menunjukkan adanya *filament* yang lembut dan disebut hifa atau miselia. Actinomycetes berkembangbiak dengan cara pembelahan sel. Bakteri ini tahan terhadap zat antifungi namun resisten terhadap penisilin.<sup>7,8</sup>

Peneliti sebelumnya menyatakan bahwa problematika yang dihadapi dalam rangka skrining antibiotik selama ini ialah ditemukannya kembali senyawa yang sudah ada setelah melalui berbagai tahapan penelitian yang memerlukan waktu lama dan berkelanjutan.<sup>5,9</sup> Berdasarkan pengalaman peneliti sebelumnya, sehingga perlu penerapan kerangka berfikir analitis untuk mengidentifikasi dan menghilangkan molekul-molekul yang sudah dikenal dari proses penelitian sedini mungkin. Pendekatan analitis untuk mengatasi keterbatasan ini adalah melalui elusidasi struktur kimia senyawa aktifnya.

Salah satu strategi untuk mendapatkan antibiotik baru adalah dengan mengisolasi mikroba penghasil antibiotik dari tempat-tempat yang belum pernah dilakukan eksplorasi. Salah satu tempat yang belum pernah dieksplorasi adalah rizosfer tanaman tin (*Ficus carica* L.). Rizosfer tanaman tin merupakan tanah di sekitar perakaran tanaman tin. Peneliti sebelumnya telah melakukan isolasi actinomycetes dari rizosfer tanaman tin di daerah Klaten dan diperoleh beberapa isolat yang menghasilkan antibiotik penghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.<sup>10</sup> Dalam penelitian ini, dilakukan uji aktivitas isolat-isolat tersebut terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## 2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

### 2.1. Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan ialah: isolat Actinomycetes T24M, T18, T19, T24, T25, T34, T37, T41 dan T43 koleksi peneliti sebelumnya.<sup>10</sup> Bahan-bahan lain adalah: bakteri MRSA (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM), media Starch Nitrat Broth (SNB), media Brain Heart Infusion (BHI) dan NaCl 0,9%. Peralatan yang digunakan yaitu: ose, *rotary shaker*, sentrifuge, tabung konikal, tabung Eppendorf.

### 2.2. Tahapan penelitian

#### 2.2.1. Preparasi metabolit sekunder

Sebanyak 50 mL media SNB yang sudah ditanami Actinomycetes 2 plug diinokulasi dalam Erlenmeyer 250 mL, diinkubasi dalam *rotary shaker* pada suhu kamar dengan kecepatan 200-250 rpm selama 5 hari. Kultur ini disebut kultur *starter*. Selanjutnya, dilakukan optimasi produksi metabolit sekunder dengan cara membuat kultur lanjutan dari kultur *starter* sebanyak 20 mL dalam 200 mL SNB. Campuran diinkubasi dalam *rotary shaker* selama 14 hari pada suhu kamar. Kultur kemudian disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh disebut sebagai sumber metabolit sekunder.

#### 2.2.2. Penyiapan suspensi bakteri MRSA

Satu ose bakteri disuspensikan dalam 1 mL media cair BHI, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Sebanyak 100 µL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam 1 mL BHI. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 4-8 jam. Bakteri MRSA kemudian diencerkan dengan NaCl 0,9 % sampai kekeruhannya sebanding dengan standar Mc Farland ( $10^8$  CFU/mL). Cairan yang terbentuk disebut suspensi bakteri.

### 2.2.3. Uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran

Biakan bakteri MRSA dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/mL ditanamkan ke Media Agar Mueller Hinton atau Agar Darah. Media dibuat sumuran diameter 6 mm. Sumuran yang telah dibuat dimasukkan supernatan cairan kultur sebanyak 50  $\mu$ L. Sumuran diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambatnya kemudian diukur [11]. Isolat Actinomycetes dianalisis berdasarkan munculnya zone steril pada kultur bakteri uji di media padat. Zone steril tersebut menunjukkan adanya senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh isolat Actinomycetes.

### 2.2.4. Optimasi waktu produksi metabolit sekunder

Isolat Actinomycetes dimasukkan ke dalam media SNB dan diinkubasi pada suhu kamar 5 hari dengan penggojogan sebagai *starter*. Starter disubkultur dalam media SNB dan diinkubasi lagi selama 8 hari. Setiap hari diambil (dipanen) 1 ml dan dimasukkan ke tabung Eppendorf dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Masing-masing supernatan kemudian diuji aktivitas antibakterinya dengan metode sumuran.

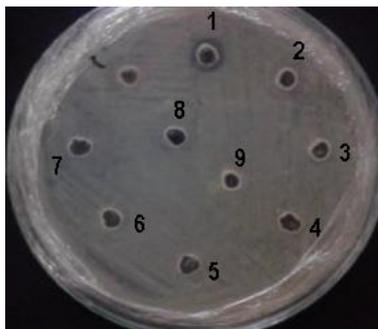
## 2.3. Analisis data

Data optimasi waktu produksi metabolit sekunder (antibiotik) yang berupa diameter zone hambatan tiap waktu pemanenan, diukur diameternya dan dibandingkan dengan masing-masing waktu pemanenan. Waktu optimal adalah waktu pemanenan yang menghasilkan diameter zone hambatan terbesar. Isolat Actinomycetes yang dinyatakan aktif ialah isolat yang menghasilkan antibiotik dan dapat menghambat pertumbuhan MRSA.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan uji aktivitas terhadap mikroorganisme uji, terlebih dahulu isolat Actinomycetes dibuat kultur *starter*. Dalam penelitian ini SNB digunakan sebagai media dalam pembuatan kultur *starter*. Hal ini karena dalam media tersebut terkandung karbon dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan maupun aktivitas bakteri.<sup>11</sup> Sumber karbon media SNB berasal dari *soluble starch* yang mengandung sejumlah C yang beragam dari pati dan gliserol.<sup>12</sup> Sumber nitrogen anorganik (NO<sub>3</sub>-) berasal dari KNO<sub>3</sub>, mineral-mineral yang berasal dari magnesium, natrium, besi, kalium yang merupakan komposisi dari media SNB. Kultur starter pada penelitian ini diinkubasi pada suhu ruangan dengan pengadukan menggunakan termoline. Hal ini karena suhu optimum untuk pertumbuhan Actinomycetes ini adalah sekitar 25-37°C,<sup>13</sup> sedangkan fungsi dari pengadukan media selama inkubasi dengan termoline adalah agitasi dapat mempengaruhi aerasi dan pencampuran nutrient dalam media fermentasi, sehingga hasil metabolit dapat ditingkatkan melalui peningkatan agitasi tersebut.<sup>14</sup> Adapun untuk proses inkubasi dilakukan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Hal ini dilakukan untuk mengantisipasi apabila senyawa yang terkandung dalam *starter* tersebut mudah terdegradasi. Semua alat yang digunakan sebelumnya telah disterilkan terlebih dahulu dan kondisi pada saat pembuatan *starter* ini diusahakan dalam keadaan steril. Hal ini untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

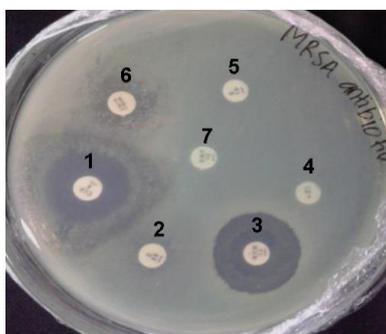
Skrining aktivitas antibakteri terhadap MRSA, pada penelitian ini, dilakukan terhadap 9 isolat Actinomycetes (T24M, T18, T34, T24, T25, T19, T37, T41 dan T43). Isolat-isolat tersebut merupakan koleksi peneliti sebelumnya [10]. Isolat-isolat tersebut terlebih dahulu dilakukan kultur *starter* 5 hari.<sup>15</sup> Dari 9 isolat yang uji, ternyata yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan MRSA hanya 1 yaitu isolat T24M sebagaimana tersaji pada Gambar 1. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka penelitian dilanjutkan hanya menggunakan isolat T24M.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas isolat-isolat Actinomycetes terhadap MRSA: T24M (1), T18 (2), T34 (3), T24 (4), T25 (5), T19 (6), T37 (7), T41 (8), T43 (9)

Sumber: Data Primer (2017)

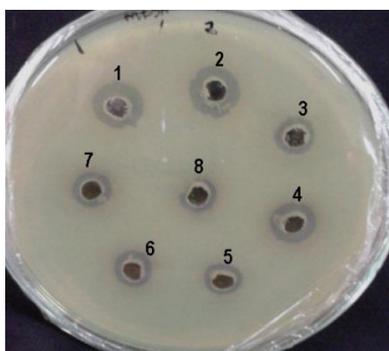
Adapun bakteri MRSA yang digunakan untuk skrining dalam penelitian ini bersifat resisten terhadap beberapa antibiotik. Hasil uji menunjukkan bahwa bakteri MRSA resisten terhadap kloramfenikol, penisilin, eritromisin dan ampisilin. Hasil uji resistensi dalam penelitian ini tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji resistensi MRSA terhadap antibiotik: Ciprofloxacin (1), Chloramphenicol (2), Meropenem (3), Penisilin (4), Eritromisin (5), Tetrasiklin (6), Ampisilin (7)

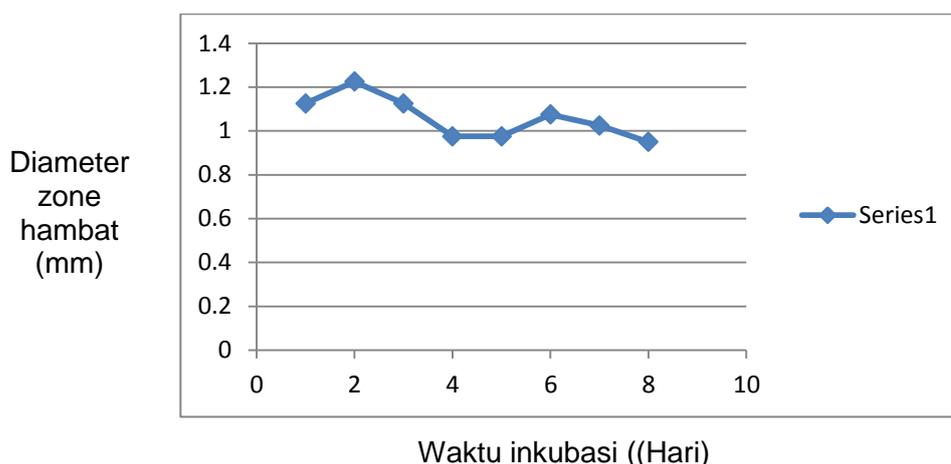
Sumber: Data Primer (2017)

Untuk persiapan kultur, dilakukan terlebih dahulu optimasi waktu produksi metabolit. Optimasi diperlukan untuk mengetahui lama waktu inkubasi yang diperlukan agar dapat dipanen antibiotik. Optimasi dilakukan dengan pengambilan kultur setiap hari, kemudian masing-masing diuji aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Hasil uji aktivitas sebagaimana tercantum pada Gambar 3 dan Gambar 4, menunjukkan bahwa cairan kultur sudah mampu menghambat pertumbuhan MRSA sejak hari pertama inkubasi. Hasil optimasi menunjukkan bahwa hari kedua merupakan hari inkubasi terbaik untuk memanen antibiotik.



Gambar 3. Hasil optimasi waktu produksi metabolit sekunder: 1-8 (hari)

Sumber: Data Primer (2017)



Gambar 4. Kurva hasil optimasi waktu produksi metabolit sekunder  
Sumber: Data Primer (2017)

Untuk preparasi kultur uji, kultur *starter* tersebut dimasukkan dalam media yang baru untuk peremajaan media. Hal ini karena media yang baru mengandung nutrisi yang banyak sehingga diharapkan bakteri dapat berkembang biak dengan baik. Selama inkubasi kultur uji, setiap hari dilakukan pengambilan 1 mL cairan kultur, kemudian disimpan di freezer. Tujuan dari penyimpanan cairan kultur dalam freezer untuk mengantisipasi agar senyawa yang terkandung di dalam kultur tidak terdegradasi, karena sebelumnya belum diketahui kestabilannya. Dalam melakukan preparasi kultur uji ini juga dilakukan di ruang *Laminar Air Flow* (LAF) untuk meminimalkan terjadinya kontaminasi.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa pada hari ke lima media SNB berwarna kecoklatan. Perubahan warna tersebut terjadi hingga inkubasi hari terakhir. Perubahan warna media terjadi karena *Actinomyces* mengeluarkan pigmen [16].

Tabel 1. Hasil pengamatan warna cairan kultur isolat T24M

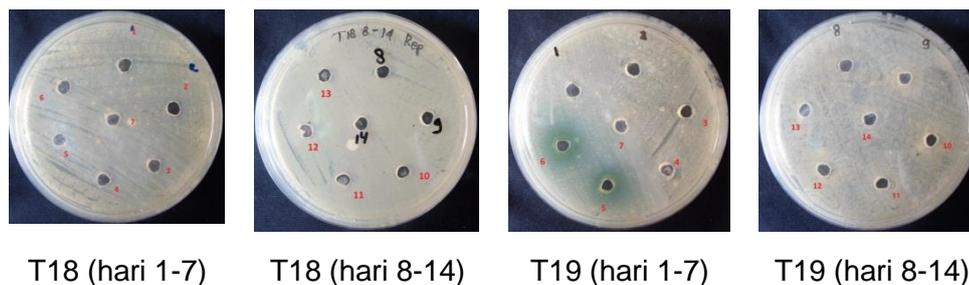
Hari ke-	Warna
1	Putih
2	Putih
3	Putih
4	Putih
5	Putih
6	Kecoklatan
7	Kecoklatan
8	Kecoklatan

Sumber: Data Primer (2017)

Hasil optimasi tersebut digunakan untuk proses pembuatan kultur produksi. Mengingat hasil uji aktivitas cairan kultur yang dilakukan sebelumnya hanya positif terhadap T24M, maka dilakukan uji aktivitas lagi terhadap isolat yang lain dengan melakukan uji aktivitas cairan kultur yang dipanen tiap hari selama 14 hari fermentasi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kemungkinan dihasilkannya antibiotik dalam cairan kultur *Actinomyces* selama rentang hari fermentasi.

### Isolat T18 dan T19

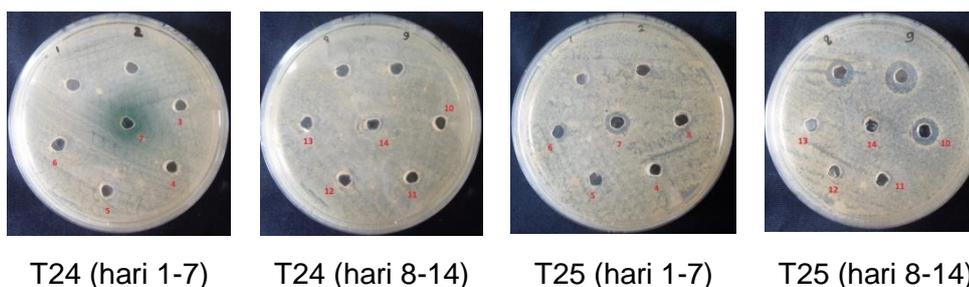
Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat *Actinomyces* T18 dan T19 tersaji pada Gambar 5. Hasil uji menunjukkan bahwa baik isolat T18 maupun T19 tidak menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA, karena tidak ada zone jernih di sekitar sumuran. Pada isolat T19, hari ke-5 dan 6 ada zone berwarna, namun tidak ada pengurangan pertumbuhan MRSA di tempat tersebut. Zone berwarna tersebut kemungkinan disebabkan karena metabolit sekunder berupa pigmen yang dihasilkan oleh isolat T19 pada hari tersebut.



Gambar 5. Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat T18 dan T19  
Sumber: Data Primer (2017)

### Isolat T24 dan T25

Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat Actinomycetes T24 dan T25 tersaji pada Gambar 6. Hasil uji menunjukkan bahwa baik isolat T24 tidak menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA karena tidak ada zone jernih di sekitar sumuran. Pada isolat T24 hari ke-7 ada zone berwarna, namun tidak ada pengurangan pertumbuhan MRSA di tempat tersebut. Zone berwarna tersebut kemungkinan disebabkan karena metabolit sekunder berupa pigmen yang dihasilkan oleh isolat T24 pada hari tersebut.

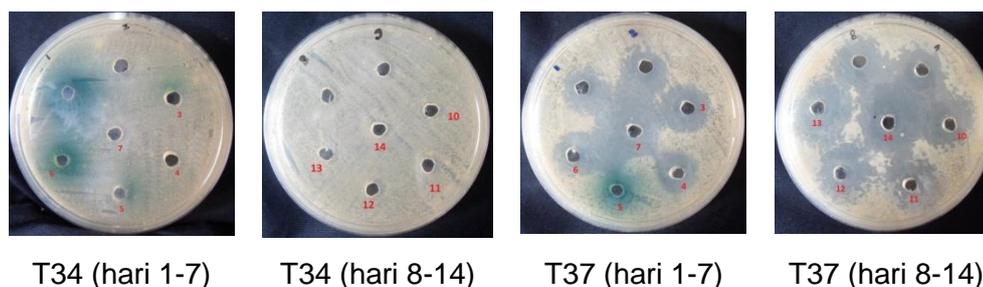


Gambar 6. Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat T24 dan T25  
Sumber: Data Primer (2017)

Adapun isolat T25, mulai hari ke-6 sampai 10 muncul zone hambat terhadap pertumbuhan MRSA. Mulai hari ke 6 hingga 9 diameter zone hambatnya semakin besar, kemudian hari ke 10 sudah menunjukkan penurunan. Hal ini berarti aktivitas penghambatan terhadap MRSA hanya terjadi selama 5 hari dan hari ke-10 aktivitasnya mengalami penurunan. Pada hari ke-11 sudah tidak ada aktivitas penghambatan pertumbuhan MRSA lagi. Tidak munculnya aktivitas cairan kultur setelah fermentasi hari ke-10 dapat disebabkan tidak stabilnya senyawa aktif yang menghambat pertumbuhan MRSA. Ketidakstabilan senyawa aktif dapat disebabkan antara lain karena proses oksidasi atau degradasi pada senyawa tersebut atau karena sifat zat yang termolabil sehingga tidak stabil pada penyimpanan suhu kamar.

### Isolat T34 dan T37

Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat Actinomycetes T34 dan T37 tersaji pada Gambar 7. Hasil uji menunjukkan bahwa baik isolat T34 tidak menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA, karena tidak ada zone jernih di sekitar sumuran. Pada isolat T34, hari ke-5, 6 dan 7 ada zone berwarna sebagaimana isolat T24, juga tidak ada pengurangan pertumbuhan MRSA di tempat tersebut.

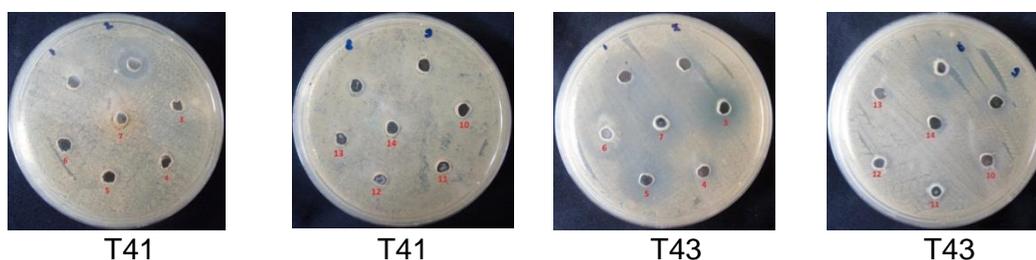


Gambar 7. Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat T34 dan T37  
Sumber: Data Primer (2017)

Adapun isolat T37, mulai hari ke-1 sampai 4 muncul zone hambat terhadap pertumbuhan MRSA, namun hari ke-5 tidak aktif dan hari ke-6 sudah aktif lagi. Mulai hari ke-6 hingga 14 diameter zone hambatnya muncul relatif besar hingga hari ke-14. Namun demikian, zone hambat yang muncul merupakan zone iradikal dan ada kecenderungan tepi zone hambat yang tidak rata.

### Isolat T41 dan T43

Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat Actinomycetes T41 dan T43 tersaji pada Gambar 8. Hasil uji menunjukkan bahwa baik isolat T41 maupun T43 tidak menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA karena tidak ada zone jernih di sekitar sumuran. Pada isolat T43 nampak seperti muncul zone hambat diawal-awal fermentasi, namun sesungguhnya tidak ada pengurangan pertumbuhan MRSA di sekitar sumuran. Zone tersebut muncul karena ada difusi dari metabolit yang dihasilkan oleh isolat T43, namun metabolit tersebut tidak menghambat pertumbuhan MRSA, sehingga hanya nampak sebagai zone difusi saja. Metabolit tersebut bukan pigmen sebagaimana terjadi pada isolat T19 dan isolat T24, karena tidak ada difusi warna ke dalam media.



Gambar 8. Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat T41 dan T43  
Sumber: Data Primer (2017)

Diameter zone jernih di sekitar sumuran hasil uji aktivitas cairan kultur isolat Actinomycetes secara keseluruhan dirangkum pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas harian cairan kultur isolat Actinomycetes 14 hari fermentasi terhadap MRSA

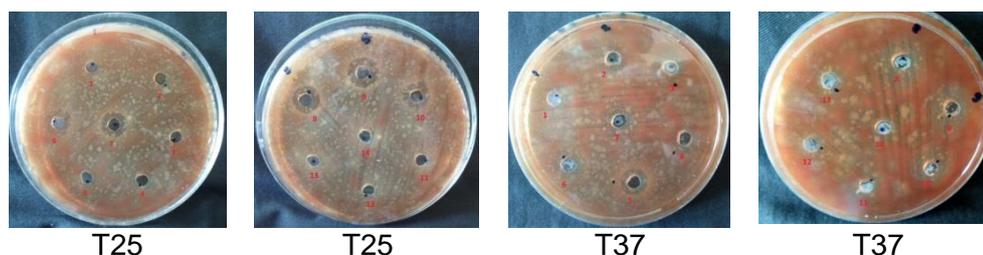
Hari ke	Diameter hambatan terhadap MRSA (mm)							
	T18	T19	T24	T25	T34	T37	T41	T43
1	-	-	-	-	-	22,2	-	-
2	-	-	-	-	-	23,2	13,2	-
3	-	-	-	-	-	23,4	-	-
4	-	-	-	-	-	10,5	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	7,0	-	22,1	-	-
7	-	-	-	10,5	-	25,6	8,0	-

Hari ke	Diameter hambatan terhadap MRSA (mm)							
	T18	T19	T24	T25	T34	T37	T41	T43
8	-	-	-	12,0	-	24,0	9,0	-
9	-	-	-	18,0	-	26,0	-	-
10	-	-	-	12,0	-	24,5	-	-
11	-	-	-	-	-	25,2	-	-
12	-	-	-	-	-	24,8	-	-
13	-	-	-	-	-	26,2	-	-
14	-	-	-	-	-	26,5	-	-

catatan : diameter terukur adalah termasuk diameter sumuran (5 mm)  
Sumber: Data Primer (2017)

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa cairan kultur isolat Actinomycetes yang nampak menghasilkan aktivitas penghambatan pertumbuhan MRSA adalah isolat T25, T37 dan T41. Namun pada isolat T25 dan T41 aktivitasnya kecil dan berumur pendek (aktivitas hanya bertahan selama 2-4 hari, sehingga kurang menguntungkan apabila senyawa diisolasi lebih lanjut (kemungkinan senyawa aktif mudah teroksidasi).

Adapun pada isolat T37, zone yang terbentuk merupakan zone iradikal, namun hambatannya nampak relatif besar. Untuk memastikan aktivitas isolat T37, maka perlu diuji dengan media lain yaitu agar darah. Sebagai perbandingan, maka juga diuji terhadap T25. Hasil uji aktivitas terhadap MRSA pada media agar darah tersaji pada Gambar 9 dan Tabel 3.



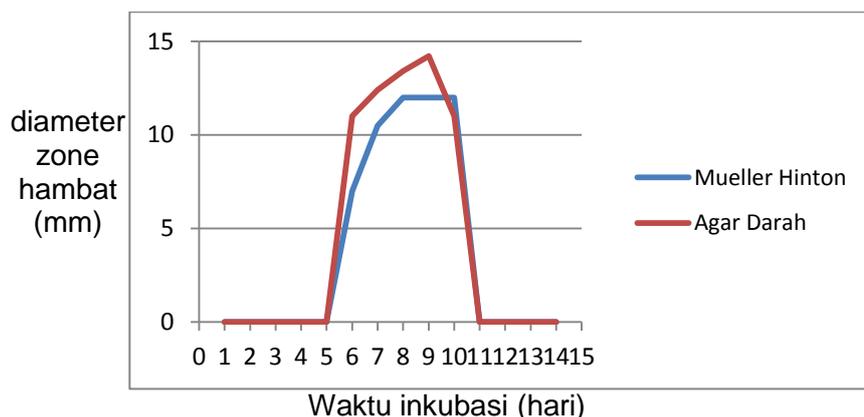
Gambar 9. Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat T25 dan T37 pada media agar darah  
Sumber: Data Primer (2017)

Tabel 3. Hasil uji aktivitas harian cairan kultur isolat T25 dan T37 pada media agar darah

Kode	Diameter zone hambat (mm) pada hari ke													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
T25	-	-	-	-	-	11	12,4	13,4	14,2	11	-	-	-	-
T37	8	-	-	11	11,8	-	-	13,6	17,4	16	-	-	-	12

Sumber: Data Primer (2017)

Berdasarkan tabel tersebut, nampak bahwa zone hambat secara konsisten muncul pada isolat T25 yaitu menunjukkan penghambatan MRSA pada hari ke-6 hingga 10. Hasil ini sama dengan hasil sebelumnya ketika menggunakan media Mueller Hinton. Perbandingan hasil tersebut sebagaimana tersaji pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil uji aktivitas harian isolat T25 terhadap MRSA pada media Agar Mueller Hinton dan Agar Darah

Sumber: Data Primer (2017)

Adapun pada isolat T37, hasil ujinya cenderung tidak konsisten dengan hasil uji menggunakan media Mueller Hinton (MH). Bahkan hari ke-5 yang sebelumnya (MH) tidak muncul zone hambat, menjadi muncul zone hambat ketika menggunakan media Agar Darah. Hal ini menimbulkan keraguan tentang aktivitas isolat T37. Oleh karena itu, dilakukan kultur ulang terhadap T37 dan uji terhadap MRSA kembali. Mengingat aktivitas terbesar diperoleh adalah pada hari ke-9, maka dilakukan fermentasi isolat T37 selama 9 hari. Namun demikian, setelah dilakukan fermentasi ulang terhadap isolat T37 tersebut, hasil uji aktivitas yang dihasilkan berbeda dengan uji sebelumnya. Cairan kultur hari 1-9 tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap MRSA. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa isolat T37 tidak dapat menghambat MRSA. Hasil uji ditampilkan pada Gambar 11.



Gambar 11. Aktivitas harian cairan kultur ulang T37 terhadap MRSA hari ke 1-9  
Sumber: Data Primer (2017)

#### 4. SIMPULAN DAN SARAN

Hasil optimasi produksi metabolit sekunder menunjukkan bahwa hari kedua merupakan waktu inkubasi terbaik untuk memanen antibiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat T24M *Actinomyces ramosus* tanaman tin (*Ficus carica* L.) menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan MRSA

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini atas hibah Riset Pembinaan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Kedokteran.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Oskay M, Tamer A, Azeri C. Antibacterial Activity of some Actinomycetes Isolated from Farming Soil of Turkey. *African J Biotechnol.* 2004;3(9):441-446.
2. Parungao M, Maceda E, Villano M. Screening of Antibiotic-Producing Actinomycetes from Marine, Brackish and Terrestrial Sediments of Samal Island, Philippines. *J Res Sci Comput Eng.* 2007;4(3):29-38.
3. Sulistyani N, Muhlis M, Kustanti N, Erinto E, Aquina H, Zainab. Studi Resistensi *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari Limbah Cair Beberapa Rumah Sakit terhadap Antibiotika. In: *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan Lingkungan Untuk Mewujudkan Sehat Jasmani Rohani Bagi Anak Bangsa.* ; 2009.
4. Ogunmwonyi I., Mazomba N, Mabinya L, et al. Studies on the culturable marine actinomycetes isolated from the Nahoon beach in the Eastern Cape Province of South Africa. *Afr J Microbiol Res.* 2010;4(21):2223-2230.
5. Genilloud O, González I, Salazar O, Martín J, Tormo JR, Vicente F. Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2011;38(3):375-389. doi:10.1007/s10295-010-0882-7
6. Berdy J. Bioactive microbial metabolites. *A Pers view J Antibiot.* 2005;58(1):1-26.
7. Rollins D, Joseph S. Actinomycetes. University of Maryland.
8. Ambarwati, Gama A. Isolasi Actinomycetes Dari Tanah Sawah Sebagai Penghasil Antibiotik. *J Penelit Sains Teknol.* 2009;10(2):101-111.
9. Busti E, Monciardini P, Cavaletti L, et al. Antibiotic-producing ability by representatives of a newly discovered lineage of actinomycetes. *Microbiology.* 2006;152:675-683.
10. Kurniasari R, Sulistyani N. Anactinomycetes (Isolate T34) as Antibiotic Producer Againsts, *Staphylococcus aureus* and Bioautography Analysis. In: *Proceeding of International Safety Management of Central Cytotoxic Reconstitution.* ; 2013:83-88.
11. Todar K. *Nutrition and Growth of Bacteria in Todar's Online Textbook of Bacteriology.*; 2007.
12. Ali A. Title Skrining dan karakterisasi parsial senyawa antifungi dari Actinomycetes asal limbah padat sagu terdekomposisi. *Berk Penel Hayati.* 2009;14:219-225.
13. Hamid A, Ariffin S, Mohamad S. Identification And Optimal Growth Conditions Of Actinomycetes Isolated From Mangrove Environment. *Malaysian J Anal Sci.* 2015;19(4):904-910.
14. Augustine S, Bhavsar S, Kapadis B. Production of growth dependent metabolite active againsts dermatophytes by *Streptomyces rochei* Ak 39. *Indian J Med.* 2005;121:164-170.
15. Oskay M. Antifungal and antibacterial compounds from *Streptomyces* strains. *African J Biotechnol.* 2009;8(13):3007-3017.