

Antibacterial Activity of *Streptomyces* sp. NrASA6 Culture Extract Isolated from Nypa Palm Worm Substrate against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Aeromonas* sp. NrBF9

Henno Wisnu Putra¹, Rikhsan Kurniatuhadi^{1*}, Tri Rima Setyawati¹, Ari Hepi Yanti¹

¹Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak 78241, Kalimantan Barat, Indonesia;

Article History

Received: December 23th, 2023

Revised: January 06th, 2023

Accepted: January 23th, 2024

*Corresponding Author:

Rikhsan Kurniatuhadi,

Program Studi Biologi Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam, Universitas Tanjungpura,
Pontianak 78241, Indonesia;

Email:

rikhsan.kurniatuhadi@fmipa.untan.ac.id

Abstract: Aquaculture is an effort to maintain aquatic commodities aimed at increasing cultivation. Probiotics are one of the components needed to serve as food additives that can prevent pathogenic bacterial infections in animals. One of the *Actinomycetes* species that has the potential to be used as a probiotic is *Streptomyces* sp. These species are known to be able to inhibit pathogenic bacterial infections. The purpose of this research is to know about the antibacterial activity of the isolates *Streptomyces* sp. NrASA6 inhibiting the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Aeromonas* sp. NrBF9, as well as the optimal for the test bacteria. The methods used in the antibacterial test are the agar diffusion method with pits and the swabbing method on the surface of medium MHA. The test treatment included incubation on time for *Streptomyces* sp. NrASA6, divided into 10, 15, 20, and 25 days. The tests were conducted at incubating temperatures of 30 °C and the diameter of the clear zone for 24 and 48 hours. The results of this research were that *Streptomyces* sp. NrASA6 made slowly for the pathogenic bacterial *Aeromonas* sp. NrBF9 with a diameter of 16.97 ± 1.15 mm for 24 hours, while an inhibition zone did not form on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The characteristic inhibition of culture extract 15 days for *Streptomyces* sp. NrASA6 is bacteriostatic. The incubation period of *Streptomyces* sp. NrASA6 is influential in the stationary phase, namely 15th days after incubation.

Keywords: Aquaculture, antimicrobe, *Streptomyces* sp. NrASA6, nypa palm.

Pendahuluan

Akuakultur merupakan usaha budidaya komoditas perairan atau perikanan yang bertujuan untuk memenuhi permintaan pasar dan meningkatkan produksi komoditas ekonomi daerah. Kehidupan organisme atau hewan akuakultur berkaitan dengan kualitas air dan kesehatan hewan budidaya. Kualitas air yang buruk pada media budidaya dapat mengakibatkan tingkat pertumbuhan, proses metabolisme serta sintasan organisme budidaya menjadi terganggu. Penurunan kualitas air juga memicu timbulnya penyakit infeksi pada hewan budidaya. Munculnya

penyakit infeksi merupakan masalah serius yang sering terjadi dalam proses budidaya atau akuakultur dan dapat menyebabkan kematian yang berimbas kepada penurunan produksi (Afrianto, 2009).

Penyakit infeksius mikrob merupakan permasalahan yang mendominasi pada kegiatan budidaya produk perairan, seperti budidaya ikan dan udang (Aziz *et al.* (2017), serta cacing nipah (Setyawati *et al.*, 2020). Salah satu penyebab terjadinya infeksi adalah bakteri yang bersifat patogen. Beberapa bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan akuakultur diantaranya *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan

Aeromonas hydrophilla. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada usus ikan (Rahayu *et al.*, 2020). Menurut Maruka *et al.* (2017), *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang mudah menyebar di air melalui kotoran hewan atau manusia.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit pada kulit (Aziz, 2017). *Staphylococcus aureus* sering dijumpai pada kulit atau sisik, hati, usus, dan juga otot pada ikan (Ali (2013), sedangkan *Aeromonas hydrophilla* mengakibatkan bercak merah pada ikan dan menimbulkan kerusakan pada kulit, insang, dan organ dalam (Hardi, 2018). Lukistyowati *et al.*, (2015) menyatakan *Aeromonas hydrophilla* termasuk bakteri oportunistik yang dapat menimbulkan penyakit dalam jumlah infeksius. Oleh karena itu, diperlukan tindakan preventif terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen melalui pemanfaatan senyawa antibakteri.

Senyawa antibakteri merupakan produk metabolit yang dapat dihasilkan oleh mikroba tertentu yang bersifat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen. Antibakteri merupakan bahan utama yang digunakan dalam bidang farmasi dalam mencegah penyakit infeksi. Antibakteri yang dihasilkan oleh mikroba lebih menguntungkan daripada yang dihasilkan dari tumbuhan karena waktu regenerasi pada antibakteri dari tanaman lebih lama dibandingkan waktu regenerasi mikroba yang singkat (Ambarwati, 2007). *Actinomyces* kelompok bakteri dengan hifa aerial yang dapat diisolasi dari sampel tanah kering (Lestari *et al.*, 2018), substrat tanah mangrove nipah (Fadila *et al.*, 2023), bahan organik yang telah membusuk, dan tubuh hewan (Yanti *et al.*, 2020). *Actinomyces* dapat ditemukan pada tubuh hewan seperti di dalam sel sitoplasma porifera (Herlina *et al.*, 2010), usus besar udang (Berna, 2015), dan cacing nipah (Yanti *et al.*, 2019).

Actinomyces hidup sebagai saprofit yang aktif dalam menguraikan bahan organik, sehingga dapat meningkatkan nutrisi hara tanah dengan bantuan aktivitas enzim. Enzim sebagai produk metabolit primer yang dilepaskan ke lingkungan melalui proses aktivitas enzim secara ekstra seluler

(Kurniatuhadi *et al.*, 2019). Penelitian Yanti *et al.* (2019) menunjukkan adanya aktivitas selulolitik, amilolitik, dan proteolitik pada bakteri *Streptomyces* spp. Selain itu, *Actinomyces* juga diketahui menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen (Fadilah *et al.*, 2023).

Actinomyces bakteri penghasil antibakteri, antitumor, enzim hidrolisis, inhibitor enzim, dan immunomodifer yang diterapkan dalam aplikasi di bidang pertanian dan industri obat-obatan (Budiyanto *et al.*, 2006). *Actinomyces* mampu menghasilkan antimikroba dan enzim hidrolase yang dapat menghambat aktivitas dari bakteri patogen (Berna *et al.*, 2015). Salah satu spesies *Actinomyces* yang berpotensi dijadikan sebagai probiotik yaitu *Streptomyces* sp. NrASA6 yang diisolasi dari substrat habitat cacing nipah (*Namalycastis rhodochorde*). Spesies tersebut diduga mampu menghambat infeksi bakteri patogen pada budidaya cacing nipah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri ekstrak kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 dalam menghambat bakteri patogen, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Aeromonas* sp. NrBF9 dan mengetahui waktu inkubasi kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 yang terbaik dalam meningkatkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Hasil penelitian ini dapat menjadi informasi ilmiah terkait potensi anti bakteri *Actinomyces* khususnya *Streptomyces* sp. NrASA9 dalam mengurangi pertumbuhan bakteri patogen pada akuakultur menggunakan senyawa antibakteri yang dihasilkan *Streptomyces* sp. NrASA9. Antibakteri ini dapat dimanfaatkan sebagai salah satu komponen formulasi pakan cacing nipah atau produk probiotik bagi akuakultur lainnya.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan September hingga Desember 2023. Proses pengujian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Hidrobiologi Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Terpadu

Universitas Tanjungpura Pontianak.

Persiapan Alat

Alat-alat gelas dan borosilikat yang digunakan pada penelitian dicuci dan dikeringkan. Setelah itu dilakukan pengemasan dengan plastik mika, lalu disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 30 menit (Waluyo, 2008).

Persiapan kultur *Streptomyces* dan bakteri uji

Persiapan kultur isolat *Streptomyces* sp. NrASA6 (Yanti *et al.*, 2020) mengacu pada metode Abdullah *et al.*, (2020) yaitu isolat murni *Streptomyces* sp. NrASA6 diinokulasikan ke media SCA (*Starch Casein Agar*) sebanyak dua ose. Suspensi *Streptomyces* sp. NrASA6 kemudian diinkubasi selama 8 × 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji yang terdiri dari bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Aeromonas* sp. NrBF9, masing-masing diambil sebanyak 1 (satu) ose lalu diinokulasikan ke media NA menggunakan metode gores yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri patogen dan *Streptomyces* sp. NrASA6

Isolat bakteri *Streptomyces* sp. NrASA6 dan bakteri uji masing-masing dimasukan ke dalam 9 ml larutan NaCl fisiologis steril dengan menggunakan kawat ose. Suspensi *Streptomyces* dan bakteri uji dihomogenkan dengan *vortex*, kemudian diukur nilai *optical density* (OD) 0.6 dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai ini setara dengan suspensi yang memiliki asumsi sel bakteri sebesar 1.5×10^8 CFU /mL (Mulyadi & Sulistiyani, 2012).

Pembiakan suspensi *Streptomyces* sp. NrASA6

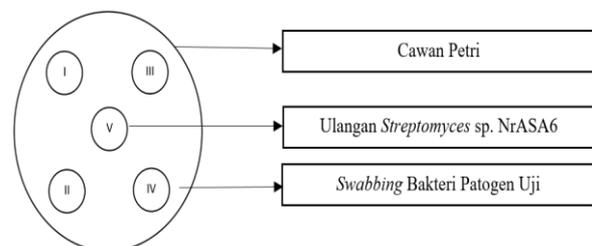
Suspensi Isolat *Streptomyces* sp. NrASA6 diambil sebanyak 10 ml kemudian dicampurkan dengan 90 ml media cair *Starch Casein* (SCB) pada botol vial 100 ml. Kultur isolat *Streptomyces* sp. NrASA6 pada empat botol vial dengan rincian perlakuan berdasarkan hari inkubasi. Medium diinkubasi dengan alat *shaker incubator* pada suhu 30°C selama 10, 15, 20, dan 25 hari. Setiap perlakuan hari dibuat dalam tiga ulangan suspensi (Abdulah *et al.*, 2020).

Pembuatan ekstrak kultur *Streptomyces* sp. NrASA6

Kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 di medium cair dipindah ke dalam tabung sentrifugasi dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Setelah proses sentrifugasi selesai, maka terbentuk dua bagian lapisan yakni supernatan (bagian atas) dan pelet (bagian bawah). Bagian supernatan diambil sebagai cairan ekstrak kultur *Streptomyces* berdasarkan perlakuan hari (10, 15, 20, dan 25 hari) untuk dilakukan pengujian antimikrobanya.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6 mengacu pada Abdullah *et al.*, (2020) menggunakan metode sumuran. Suspensi isolat bakteri patogen *Aeromonas* sp. NrBF9, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* di *swab* pada permukaan medium MHA menggunakan *cotton bud* steril secara merata, kemudian dibuat lima sumuran dengan ukuran 6 mm menggunakan *cork borer*. Ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6 dengan perlakuan waktu inkubasi dipipet sebanyak 25 µl, kemudian dimasukkan dalam sumuran agar. *Plate* agar diinkubasi selama 24 jam-48 jam berdasarkan waktu perlakuan inkubasi *Streptomyces* sp. NrASA6 yaitu 10, 15, 20, dan 25 hari suhu 30°C, kontrol positif menggunakan *Amoxycillin* dan kontrol negatif menggunakan aquades Selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam suhu 30°C. Diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong digital.



Gambar 1. Desain perlakuan antibakteri pada cawan petri

Kategori efektivitas dari aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh cairan kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 diketahui melalui kelompok nilai pengukuran zona bening yang terbentuk. Zona hambat (zona bening) dapat

dikategorikan sebagai berikut, untuk diameter < 5mm dikategorikan lemah, 6-10mm dikategorikan sedang, 11-20 mm dikategorikan kuat dan >21 mm dikategorikan sangat kuat (Susanto *et al.*, 2020).

Analisis data

Data diameter zona bening dianalisis dengan ANOVA satu jalur dengan bantuan *software* SPSS *Statistic* 25. Hasil yang menunjukkan perlakuan berbeda nyata dilakukan uji lanjut Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*). Analisis dilakukan pada nilai kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$) (Nurjismi dan Suryani, 2020).

Hasil dan Pembahasan

Pola pertumbuhan *Streptomyces* sp. NrASA6

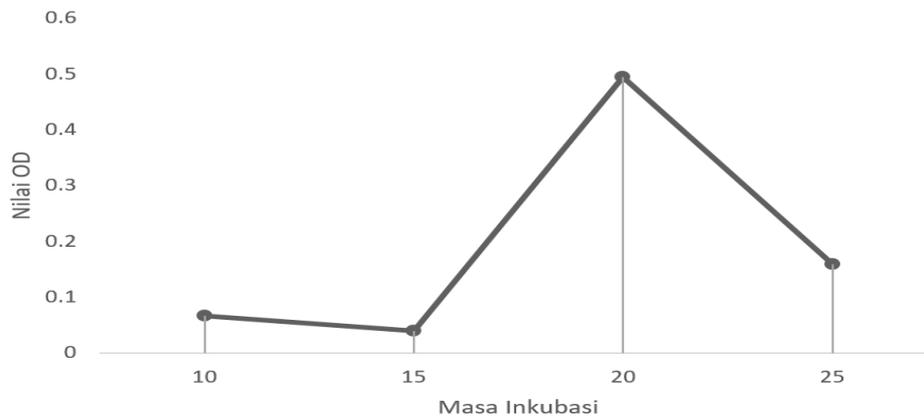
Pola pertumbuhan *Streptomyces* sp. NrASA6 memperlihatkan peningkatan secara signifikan pada hari ke-15 hingga hari ke-20. Setelah hari ke-20 memperlihatkan kecenderungan penurunan nilai OD hingga inkubasi hari ke-25. Pengamatan nilai OD (*Optical Density*) terhadap *Streptomyces* sp. NrASA6 (Gambar 1) dapat terlihat bahwa nilai OD mengalami peningkatan pada hari ke-10 (0,066), hari ke-15 (0,04), hari ke-20 (0,494) dan terjadi penurunan tajam pada hari ke-25 (0,159).

Aktivitas antibakteri ekstrak kultur cair isolat *Streptomyces* sp. NrASA5 terhadap *Aeromonas* sp. NrBF9, *E. coli*, dan *S. aureus*

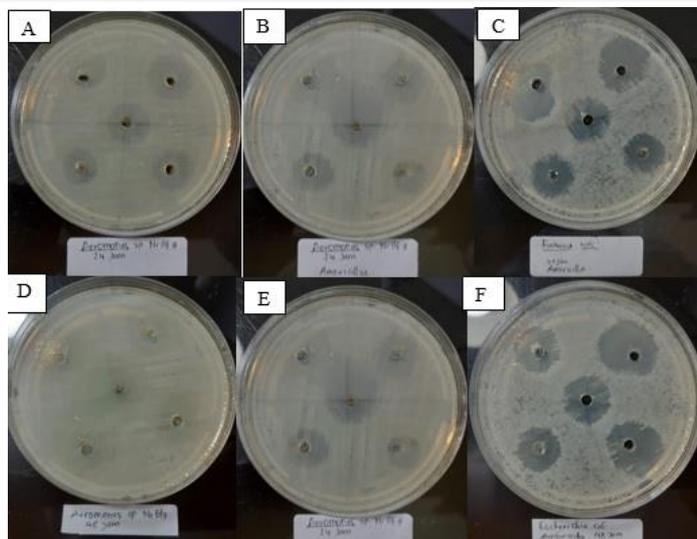
Hasil pengujian ekstrak kasar atau cairan kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 diketahui bahwa *Streptomyces* sp. NrASA6 dengan masa inkubasi 15 hari merupakan ekstrak kultur cair

menghambat pertumbuhan *Aeromonas* sp. NrBF9. Ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6 hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas* sp. NrBF9 ditandai terbentuknya zona bening pada media uji (Gambar 3). Rata-rata dari ukuran zona bening pada media yang diinokulasikan dengan *Aeromonas* sp. NrBF9 pada hari ke-15 serta pengamatan selama 24 jam yaitu (16.97 ± 1.15) mm. Perlakuan kontrol positif *Amoxycillin* hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Aeromonas* sp. NrBF9 dengan rata-rata diameter hambat (20.77 ± 1.47) mm dan (17.87 ± 1.74) mm.

Hasil uji lanjut perlakuan ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6 dengan masa inkubasi 15 hari terhadap *Aeromonas* sp. NrBF9 menunjukkan perlakuan tersebut tidak berbeda signifikan dengan *Amoxycillin* pada inkubasi 24 jam (Tabel 1). Hal ini ditunjukkan dengan persamaan huruf notasi antara dua perlakuan tersebut. Rerata diameter zona bening terbentuk pada media *swabbing* *Aeromonas* sp. NrBF9 pada hari ke-15 serta pengamatan selama 48 jam mengalami penurunan sebesar 0,93 mm dibandingkan inkubasi 24 jam. Perlakuan kontrol positif *Amoxycillin* yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Aeromonas* sp. NrBF9 mengalami penurunan dengan rata-rata diameter hambat 3,27 mm dan 3,42 mm. Hasil statistik menunjukkan *Aeromonas* sp. NrBF9 perlakuan cairan kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 pada hari ke 15 pada 48 jam berbeda signifikan dengan *Amoxycillin*. Hal ini ditunjukkan dengan notasi antara dua perlakuan tersebut.



Gambar 2. Diagram Nilai OD (*Optical Density*) *Streptomyces* sp. NrASA6



Gambar 3. Hasil pengujian ekstrak kasar *Streptomyces* sp. NrASA6 dengan waktu inkubasi hari ke-15 terhadap *Aeromonas* sp. NrBF9 pada 24 dan 48 jam (A dan D); pengujian *Amoxycillin* terhadap *Aeromonas* sp. NrBF9 24 dan 48 jam (B dan E); serta pengujian *Amoxycillin* terhadap *Escherichia coli* 24 dan 48 jam (C dan F).

Tabel 1. Diameter zona bening ekstrak kultur *Streptomyces* sp. NrASA6 terhadap bakteri *E.coli*, *S. aureus*, dan *Aeromonas* sp. NrBF9 dengan lama inkubasi 24-48 jam

Waktu Inkubasi (hari) <i>Streptomyces</i> sp. NrASA6	Rata-rata Diameter Hambat (mm)					
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Aeromonas</i> sp. NrBF9	
	Waktu Pengamatan (Jam)					
	24	48	24	48	24	48
10	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	16.97±1.15 ^a	16.04±0.87 ^a
20	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
Kontrol :						
Positif <i>Amoxycillin</i>	20.77±1.47	17.50±1.05	0	0	17.87±1.74 ^a	14.45±1.04 ^b
Negatif Akuades	0	0	0	0	0	0

Keterangan: Huruf notasi yang sama mengindikasikan hasil yang tidak berbeda signifikan antar perlakuan dan sebaliknya.

Tidak terdeteksi adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6 terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal yang sama terjadi pada kontrol positif *Amoxycillin* terhadap *S. aureus*, namun masih memperlihatkan aktivitas penghambatan terhadap *E. coli*.

Pembahasan

Pertumbuhan *Streptomyces* sp. NrASA6

Pertumbuhan *Streptomyces* sp. NrASA6 menggambarkan pola pertumbuhan sigmoid yang memperlihatkan tiga fase teridentifikasi sebagai fase adaptasi, logaritmik, kematian dipercepat. Berdasarkan (Gambar 2) fase lag ditunjukkan pada hari ke-0 sampai hari ke-10,

Fase log pada hari ke-10 sampai 15, fase stasioner hari ke-15 sampai 20 dan fase kematian hari ke-20 sampai hari ke-25. Penelitian Abdullah *et al.*, (2020) juga memperlihatkan pola yang sama pada pertumbuhan *Nocardia* sp. ATS4.1 yang memperlihatkan peningkatan pertumbuhan pada hari ke-15 sebagai puncak fase logaritmiknya. Mikroorganisme memiliki tahap fase pertumbuhan yaitu fase lag (pembentukan koloni), fase log (pertumbuhan dipercepat), fase stasioner (laju pertumbuhan tetap) dan fase kematian (pertumbuhan lebih lambat dan beberapa sel mati), hal ini juga terjadi pada bakteri dari kelompok *Actinomycetes* (Rosa *et al.*, 2021).

Aktivitas antibakteri ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6, Kontrol *Amoxycillin*, dan Akuades

Ekstrak kultur cair *Streptomyces* sp. NrASA6 hanya mampu menghambat bakteri patogen jenis *Aeromonas* sp. NrBF9 dengan hasil pengukuran zona bening yaitu pada 24 jam diperoleh rata-rata 16.97mm dan 48 jam diperoleh rata-rata 16.04 mm. *Streptomyces* sp. NrASA6 dikategorikan kuat dalam menghambat *Aeromonas* sp. NrBF9. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Susanto *et al.*, (2020) bahwa zona hambat (zona bening) yang memiliki ukuran diameter sekitar 11-20 mm dikategorikan kuat.

Antibakteri ekstrak *Streptomyces* sp. NrASA6 dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas* sp. NrBF9 karena adanya senyawa-senyawa antibakteri yang diproduksi oleh *Streptomyces* sp. NrASA6, khususnya pada inkubasi hari ke-15, meskipun inkubasi hari ke-20 dan 25 tidak memperlihatkan adanya aktivitas penghambatan. Penelitian yang dilakukan oleh Abdullah *et al.*, (2020) juga memperlihatkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji ketika *Nocardia* diinkubasi hingga hari ke-14. Penelitian Vijayakumar *et al.*, (2012) pada *Streptomyces afghaniensis* juga memperlihatkan optimalisasi penghambatan terhadap bakteri uji dengan kisaran waktu inkubasi 7-15 hari. Beberapa senyawa yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp. pada waktu inkubasi tersebut berupa streptomisin, eritromisin, dan tetrasiklin. Senyawa-senyawa tersebut dapat mengganggu fungsi normal bakteri target seperti menghambat sintesis dinding sel bakteri atau mengganggu replikasi DNA (Qiting *et al.*, 2022).

Tabel 1 memperlihatkan adanya bakteri yang tidak dipengaruhi oleh ekstrak kasar *Streptomyces* sp. NrASA6 yaitu bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* yang tidak merespon ekstrak kultur cair *Streptomyces* dan *Amoxycillin* diduga telah mengalami resistensi. Hal ini diperkuat dengan informasi bahwa *S. aureus* yang digunakan merupakan pafasa lebih dari 10 dan banyak digunakan pada penelitian-penelitian antibakteri sebelumnya. Hal ini berbeda dengan *E. coli*, meskipun tidak merespon terhadap ekstrak kultur cair *Streptomyces*, *E. coli* tetap sensitif terhadap *Amoxycillin*. *Aeromonas* merupakan bakteri uji yang merespon perlakuan (ekstrak kultur cair *Streptomyces* dengan waktu inkubasi 15 hari)

dan kontrol antibiotik. Hal ini dikarenakan *Aeromonas* sp. NrBF9 merupakan bakteri patogen yang belum pernah diujikan terhadap senyawa antibakteri dan diisolasi langsung dari feses cacing nipah pada tahun 2020 (Setyawati *et al.*, 2020)

Berdasarkan penelitian Safia *et al.*, (2022), beberapa faktor yang menyebabkan bakteri patogen memiliki daya tahan terhadap antibakteri diantaranya adalah mutasi genetik, permeabilitas membran sel, produksi enzim inaktif, peningkatan efusi antibiotik, dan pembentukan biofilm. Mutasi genetik yaitu terjadi pada bakteri yang dapat mengubah atau menghambat target yang biasanya diserang oleh antibiotik dengan menyisipkan gen yang mengkode enzim target sehingga dapat membuat antibiotik menjadi tidak efektif. Permeabilitas membran sel pada bakteri dapat mengubah sifat membran sel untuk menghambat atau memperlambat masuknya antibiotik ke dalam sel. Proses tersebut dapat dilakukan dengan mengubah komposisi membran sel atau dengan mengaktifkan sistem pompa yang mengeluarkan antibiotik yang masuk.

Penelitian Martin *et al.*, (2019) beberapa bakteri mampu menghasilkan enzim yang dapat menginaktifkan antibiotik sebelum antibiotik tersebut dapat mencapai targetnya di dalam sel. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan enzim beta-laktamase yang dapat menghancurkan antibiotik golongan beta-laktam, seperti penisilin dan sefalosporin yang dihasilkan *Streptomyces* sp. *Escherichia coli* menghasilkan enzim yang mampu menginaktifkan senyawa antimikroba, misalnya beberapa enzim beta-laktamase yang memecah molekul-molekul antibiotik golongan beta-laktam seperti penisilin yang mungkin diproduksi *Streptomyces* sp. NrASA6 (Safia *et al.*, 2022).

Bakteri dapat mengaktifkan sistem pompa yang memompa antibiotik keluar dari sel sebelum antibiotik tersebut dapat berinteraksi dengan targetnya. Hal ini membuat konsentrasi antibiotik di dalam sel menjadi tidak efektif untuk membunuh bakteri. Beberapa bakteri termasuk *Staphylococcus aureus* dapat membentuk biofilm yang melindungi bakteri dari paparan antibiotik. Biofilm adalah lapisan lendir yang terdiri dari bakteri yang melekat pada permukaan dan membentuk matriks pelindung. Biofilm bisa menjadi tempat perlindungan bagi

bakteri seperti dari antibiotik (Annalisa *et al.*, 2007).

Perlakuan kontrol Positif *Amoxycillin* hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Aeromonas sp.* NrBF9 dengan rata-rata diameter hambat 20.77 mm dan 17.87 mm selama 24 jam. Ketika 48 jam terjadi pengurangan luas area zona bening yaitu 17.5 mm *Escherichia coli* dan 14,45 mm *Aeromonas sp.* NrBF9. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya kandungan enzim Beta-laktamase dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Aeromonas sp.* NrBF9 sebagai mekanisme pertahanan terhadap antibiotik beta-laktam seperti *Amoxycillin*. Produksi beta-laktamase menyebabkan inaktivasi *Amoxycillin* sehingga mengurangi kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Perlakuan kontrol Positif *Amoxycillin* dalam penelitian ini tidak menghambat *Staphylococcus aureus*. Hal ini diduga sifat resisten telah terjadi pada bakteri tersebut. *Staphylococcus aureus* memiliki kombinasi faktor resistensi yang melibatkan produksi beta-laktamase, perubahan pada *penicillin-binding proteins* (PBP), peningkatan pompa efluks, dan pembentukan biofilm (Annalisa *et al.*, 2007). Kombinasi faktor ini dapat menyebabkan resistensi yang lebih kuat terhadap *Amoxycillin*.

Kontrol negatif aquades tidak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen uji dikarenakan Aquades tidak memiliki senyawa antibakteri yang mampu menghambat bakteri patogen. Berdasarkan pengamatan terhadap inkubasi *Streptomyces sp.* NrASA6 adanya peningkatan pertumbuhan yang ditunjukkan pada hari ke-0 sampai hari ke-10 yang ditandai dengan meningkatnya kekeruhan medium kultur dan nilai OD, sedangkan pada hari ke-10 sampai 15 terjadi penurunan nilai OD (*optical density*) pada grafik, pada hari ke-15 sampai 20 terjadi peningkatan signifikan dan hari ke- 20 sampai hari ke 25 terjadi kembali penurunanpenurunan nilai OD (*optical density*) pada grafik (Gambar 2.). Hasil penelitian yang dilakukan, antibakteri yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp.* NrASA6 muncul pada masa inkubasi hari ke- 15. Dengan adanya hasil tersebut, kemungkinan pada hari ke-15 telah memasuki fase stasioner. Menurut Rosa *et al.* (2021), fase stasioner merupakan fase ketika mikrob mampu menghasilkan metabolit sekunder dan sel yang tumbuh jumlahnya sama

dengan sel yang mati sehingga hasil metabolit sekunder tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Waktu inkubasi yang diperlukan bagi *Streptomyces sp.* untuk menghasilkan senyawa antibakteri yang efektif dapat bervariasi tergantung pada berbagai faktor (Geniloud, 2017).

Beberapa faktor yang dapat memengaruhi waktu inkubasi dan produksi senyawa antibakteri yang efektif oleh *Streptomyces sp.* Meliputi strain *Streptomyces sp.* NrASA6, media kondisi pertumbuhan, kompleksitas senyawa antibakteri, dan ketersediaan bahan substrat. Setiap strain *Streptomyces sp.* NrASA6 dapat memiliki karakteristik dan waktu inkubasi yang berbeda dalam menghasilkan senyawa antibakteri. Komposisi media dan kondisi pertumbuhan seperti suhu, pH, kelembaban, dan aerasi dapat memengaruhi waktu inkubasi dan produksi senyawa antibakteri oleh *Streptomyces sp.* NrASA6 kondisi optimal yang mendukung pertumbuhan dan produksi senyawa antibakteri harus diatur dengan baik untuk mendapatkan hasil yang optimal. *Streptomyces sp.* memerlukan sumber nutrisi yang tepat untuk pertumbuhan dan produksi senyawa antibakteri. Jika bahan substrat yang diperlukan tidak cukup tersedia, maka dapat memengaruhi waktu inkubasi dan produksi senyawa antibakteri yang ada (Geniloud, 2017).

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa *Streptomyces sp.* NrASA6 mampu menghambat bakteri patogen *Aeromonas sp.* NrBF9 dengan diameter zona hambat (zona bening) berkisar antara 11-20 mm dan tergolong di kategori kuat. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* bersifat resisten oleh cairan ekstrak kultur *Streptomyces sp.* NrASA6 yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar sumuran uji. Aktifitas Antibakteri yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp.* NrASA6 terjadi pada masa inkubasi hari ke 15 yang memberikan efek hambatan hanya terhadap bakteri *Aeromonas sp.* NrBF9.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam melalui pendanaan penelitian Riset Tim Cacing Nipah Prodi Biologi FMIPA UNTAN dan Laboratorium Zoologi dan Mikrobiologi Universitas Tanjungpura atas dukungan finansial dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.

Referensi

- Abdullah, Almuhardi, I., Antoni, & Rahmawati (2020). Aktivitas Antibakteri *Actinomycetes* Asal Desa Cempaka Kapuas Hulu Kalimantan Barat Terhadap Enteropatogenik Gastroenteritis. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(1):20-30. DOI: <https://doi.org/10.15408/kauniah.v13i1.1731>
- Abdullah, Rahmawati, & Kurniatuhadi, R. (2020). Aktivitas Antifungi Ekstrak Isolat *Nocardia* sp. ATS-4.1 Terhadap Jamur *Candida albicans* InaCC-Y116. *Jurnal Ilmu Hayati*. 19 (3A): 327-334. DOI: <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v19i3A.3868>
- Afrianto, E. & Liviawaty, E. (2009). *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan*. Kanisus: Yogyakarta.
- Ali, H.H. (2013). Isolation and Identification of *Staphylococcus* Bacteria from Fish of Fresh Water and Its Antibiotics Sensitivity in Mosul City. *Basrah Journal of veterinary Research*. 13(1):33-42. DOI: <https://doi.org/10.33762/bvetr.2014.88123>
- Ambarwati (2007). Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biodiversitas*, 8(3): 320-325. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d080415>
- Annalisa, P., Andraea, S., & Monica, M. (2007). Mechanisms of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Future Microbiology*. 2(3): 323-343. DOI: <https://doi.org/10.2217/17460913.2.3.323>
- Aziz, G. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Ekstrak Etil Asetat Kapang Endofit Daun Tanaman Bakung Rawa (*Crinum jagus* (*J. Thomps*) Dandy). Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah: Jakarta
- Berna, M.G., Campa-Córdova ángel, I., Saucedo, P.E., González, M.C., Marrero, R.M., & Mazón-Suástegui, J.M. (2015). Isolation and in Vitro selection of *Actinomycetes* Strains as Potential Probiotics for Aquaculture. *Journal of Veterinary World*, 8(2): 170–176. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.170-176>
- Budiyanto, M. & Muhtadi, F. (2012). Peranan Bakteri *Actinomycetes* dalam Industri Antibiotik, *Journal online Biosains*. 1:71-85.
- Fadilah, A. (2023). Komposisi Jenis dan Potensi *Actinomycetes* Sebagai Antibakteri yang Diisolasi dari Serasah Nipah (*Nypa fruticans*) di Muara Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya. Skripsi. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Genilloud, O. (2017). *Actinomycetes*: Still a Source of Novel Antibiotics. *Critical Reviews in Biotechnology*. 37(6): 1-25. DOI: <https://doi.org/10.1039/c7np00026j>
- Hardi, E.H. (2018). Bakteri Patogen pada Ikan Air Tawar *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens*. Skripsi. Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Herlina, Rante, Wahyono, Yosi, Murti, B., & Gemini, A. (2010). Purifikasi dan Karakterisasi Antibakteri dari *Actinomycetes* Asosiasi Spons Terhadap Bakteri Patogen Resisten. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 21(3): 158-165.
- Kurniatuhadi, R., Setyawati, T.R., & Yanti, A.H. (2019). Aktivitas Enzimatis *Streptomyces* spp. yang Diisolasi dari Usus dan Feses Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*). *Pros. SemNas. Peningkatan Mutu Pendidikan*. 1(1):125-130.
- Lestari, S., Mukarlina, & Kurniatuhadi, R. (2019). Identifikasi dan Deteksi Aktiitas Daya Hambat Bakteri *Actinomycetes* yang Diisolasi dari Tanah Gambut di Desa Tajok Kayong Kalimantan Barat. *Protobiont*, 8(1): 13-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v8i1.30843>
- Lukistiyowati, I., & Kurniasih (2010). Pelacakan Gen *Aerolysin* dari *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner* 13(1): 43-50.

- Martin, V., Dorte, F., & Hanne, I. (2019). Antibiotic Resistance and The MRSA Problem. *Journal of American Society for Microbiology* 7(2). DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.c.gpp3-0057-2018>
- Maruka, Safriyanto, S., Gatot, S. & Rostiati D.R. (2017). Identifikasi Cemaran Bakteri *Escherichia coli* pada Ikan Layang (*Decapterus ruselli*) Segar di Berbagai Pasar Kota Palu. *Jurnal Mitra Sains*. 5 (1): 84-89.
- Mulyadi & Sulistyani, N. (2013). Aktivitas Cairan Kultur 12 Isolat *Actinomyces* terhadap Bakteri Resisten. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7(2): 55-112. DOI: <http://dx.doi.org/10.12928/kesmas.v7i2.1043>
- Nurjasmii, R. & Suryani (2020). Uji Antagonis *Actinomyces* terhadap Patogen *Colletotrichum capsici* Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Rawit. *Jurnal Ilmiah Respati* 11(1): 1–12.
- Qiting, L., Ganxing, L., Zheng, G., Yuting, W., Zhongheng, X., Yuxian, R., Qingzhong, Z., Miao, C., Xingqing, Z., & Delin, X. (2022). Application of Potential Probiotic Strain *Streptomyces* sp. SH5 on anti-Aeromonas Infection in Zebrafish Larvae. *Journal of Fish and Shellfish Immunology*, 127: 375-385. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.06.049>
- Rahayu, W., Hardi, E.H. & Saptiani, G. (2020). Patogenesitas Bakteri *Enterobacteriaceae* pada Ikan Zebra (*Danio rerio*) sebagai Hewan Model. *Jurnal Veteriner*. 21 (4): 512-518. DOI: <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2020.21.4.512>
- Rosa, S.R., Endah, S., Nisma, N. & Achmad, A. (2021). Identifikasi Isolat *Streptomyces hygroscopicus* INACC A497 sebagai Anti Malaria: Uji Pendahuluan. *Journal of Biology*. 8(2): 115-122.
- Safia, A., Hanif, U. & Jizu, Z. (2022). Antimicrobial Drug Resistance against *Escherichia coli* and Its Harmful Effect on Animal Health. *Journal of Veterinary Medicine Science* 8(4): 1780–1786. DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.825>
- Setyawati, T.R., Yanti, A.H., and Kurniatuhadi, R. (2020). Pathogenicity Profile of Indigenous Bacetria Isolated from Gastrointestinal Tracts and Fecal Pellets of Nipah Worm (*Namalycastis rhodochorde*). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 550 012016. DOI 10.1088/1755-1315/550/1/012016
- Susanto, D., Sudrajat & Ruga, R. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Mulawarman Scientifie*, 11(2): 181-190.
- Vijayakumar, R., Panneerselvam, K., Muthukumar, C., Thajuddin, N., Panneerselvam, A., Saravanamuthu, R. (2012). Optimization of Antimicrobial Production by a Marine Actinomyces *Streptomyces afghaniensis* VPTS3-1 Isolated from Palk Strait, East Coast of India. *Indian J Microbiol.* 52(2):230-9. doi: 10.1007/s12088-011-0138-x
- Waluyo, L. (2008). *Teknik Analisis Mikrobiologi*. UMS Press. Solo.
- Yanti, A.H., Setyawati, T.R., & Kurniatuhadi, R. (2019). Composition and Characterizations of *Actinomyces* Isolated from Nipah Mangrove Sediment, Gastrointestinal and Fecal Pellets of Nipah Worm (*Namalycastis rhodhocorde*). *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 550. DOI 10.1088/1755-1315/550/1/012016