Jurnal Penelitian Inovatif (JUPIN)
Vol. 6, No. 5, November 2026, Hal. 4027-4036
https://jurnal-id.com/index.php/jupin

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Aktinomisetes terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Metode Difusi Cakram

Tamina Melindah[1*], Ega Delva[2], Ni Ny Wedarthani Achintya A[3], Nurul Azizah[4], Diah Astini Paramita[5]

[1,5] Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Makassar, Indonesia
[2] Departemen Mikrobiologi,Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Makassar, Indonesia
[3,4] Departemen Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Makassar, Indonesia
*email: tamina.melindah@unm.ac.id

Abstrak

Resistensi bakteri terhadap antimikroba mendorong eksplorasi sumber senyawa antibakteri baru, termasuk metabolit sekunder aktinomisetes. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi aktivitas antibakteri metabolit sekunder aktinomisetes yang diekstraksi menggunakan etil asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Lima isolat aktinomisetes (A2.01, B1.06, B3.13, C2.18, dan C2.20) yang diisolasi dari tanah Arboretum Universitas Riau dikultivasi dalam medium Starch Casein Broth, kemudian metabolit sekundernya diekstraksi menggunakan etil asetat. Aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan metode difusi cakram dengan pengukuran diameter zona hambat dengan jumlah pengujian sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil menunjukkan adanya variasi aktivitas antibakteri antar-isolat. Diameter zona hambat terhadap *P. aeruginosa* berkisar 7,6 ± 0,1–25,1 ± 0,6 mm, sedangkan terhadap *S. aureus* berkisar 8,3 ± 0,2–15,0 ± 0,7 mm. Isolat B1.06 menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap *P. aeruginosa* (25,1 ± 0,6 mm) dan *S. aureus* (15,0 ± 0,7 mm). Temuan ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder aktinomisetes memiliki aktivitas antibakteri yang bervariasi. Isolat B1.06 menunjukkan aktivitas penghambatan tertinggi dalam pengujian skrining awal menggunakan metode difusi cakram terhadap kedua bakteri uji.

Kata kunci: *aktinomisetes; metabolit sekunder; aktivitas antibakteri; Pseudomonas aeruginosa; Staphylococcus aureus*

Abstract

Bacterial antimicrobial resistance has driven the exploration of new sources of antibacterial compounds, including secondary metabolites produced by actinomycetes. This study aimed to investigate the antibacterial activity of actinomycete secondary metabolites extracted using ethyl acetate against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. Five actinomycete isolates (A2.01, B1.06, B3.13, C2.18, and C2.20), isolated from soil in the Arboretum of Universitas Riau, were cultured in Starch Casein Broth medium, followed by extraction of their secondary metabolites using ethyl acetate. Antibacterial activity was determined using the disc diffusion method by measuring the diameters of inhibition zones. Each antibacterial assay was performed in triplicate. The results showed variations in antibacterial activity among the isolates. The inhibition zone diameters against P. aeruginosa ranged from 7.6 ± 0.1 to 25.1 ± 0.6 mm, whereas those against S. aureus ranged from 8.3 ± 0.2 to 15.0 ± 0.7 mm. Isolate B1.06 exhibited the highest activity against both P. aeruginosa (25.1 ± 0.6 mm) and S. aureus (15.0 ± 0.7 mm). These findings indicate that actinomycete secondary metabolites exhibit varying levels of antibacterial activity. Isolate B1.06 demonstrated the highest inhibitory activity in the preliminary screening using the disc diffusion method against both test bacteria.

Keywords: *actinomycetes; secondary metabolites; antibacterial activity; Pseudomonas aeruginosa; Staphylococcus aureus*

1. PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba merupakan tantangan penting dalam pengendalian infeksi bakteri karena dapat mengurangi efektivitas terapi antimikroba yang tersedia. Kondisi ini mendorong pencarian sumber senyawa antibakteri baru, termasuk senyawa yang berasal dari produk alam. Salah satu kelompok mikroorganisme yang banyak dieksplorasi adalah aktinomisetes, yaitu bakteri yang memiliki kapasitas

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

biosintetik untuk menghasilkan beragam metabolit sekunder dengan aktivitas biologis, termasuk aktivitas antimikroba. Keragaman metabolit yang dihasilkan dan potensi ditemukannya senyawa yang belum teridentifikasi menjadikan aktinomisetes tetap relevan dalam penelitian penemuan kandidat antibakteri (Ngamcharungchit et al., 2023; Dashti & Errington, 2024).

Aktinomisetes diketahui memiliki berbagai *biosynthetic gene clusters* yang berperan dalam pembentukan metabolit sekunder dengan struktur kimia beragam. Sejumlah kajian menunjukkan bahwa metabolit dari kelompok ini memiliki aktivitas terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif. Namun, potensi tersebut tidak selalu seragam pada setiap isolat karena profil metabolit dapat dipengaruhi oleh karakteristik genetik isolat, habitat asal, serta kondisi kultivasi dan ekstraksi. Oleh karena itu, skrining terhadap isolat yang berbeda tetap diperlukan untuk memperoleh gambaran awal mengenai variasi aktivitas antibakterinya (Yi et al., 2025; Dashti & Errington, 2024).

Penelitian mengenai aktinomisetes yang berasal dari Arboretum Universitas Riau telah dilakukan oleh Rahayu et al. (2016). Penelitian tersebut memperoleh 30 isolat dari empat lokasi pengambilan sampel tanah dan menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode potongan agar *disc method*. Isolat C2.20 menghasilkan zona hambat terbesar, yaitu 21,29 mm. Temuan tersebut memberikan dasar bahwa tanah Arboretum Universitas Riau merupakan sumber isolat aktinomisetes yang layak dieksplorasi lebih lanjut. Meskipun demikian, penelitian Rahayu et al. (2016) menguji aktivitas isolat secara langsung terhadap satu bakteri uji, yaitu *S. aureus*. Dengan demikian, penelitian tersebut belum menjelaskan aktivitas fraksi metabolit sekunder yang diperoleh melalui ekstraksi pelarut organik maupun aktivitasnya terhadap bakteri Gram-negatif. Perbedaan bahan uji dan pendekatan pengujian tersebut menjadi dasar perlunya evaluasi lanjutan menggunakan ekstrak metabolit sekunder dan lebih dari satu kelompok bakteri uji.

Dalam penelitian ini, lima isolat aktinomisetes, yaitu A2.01, B1.06, B3.13, C2.18, dan C2.20, dievaluasi untuk mengetahui variasi aktivitas antibakteri metabolit sekundernya. Kelima isolat tersebut berasal dari koleksi isolat hasil eksplorasi tanah Arboretum Universitas Riau yang dilaporkan oleh Rahayu et al. (2016). Metabolit sekunder diproduksi melalui kultivasi isolat dalam medium, kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji menggunakan metode difusi cakram. Dengan pendekatan ini, pengujian diarahkan pada aktivitas komponen yang dapat terekstraksi ke dalam etil asetat, bukan pada aktivitas kultur atau koloni aktinomisetes secara langsung.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kedua bakteri tersebut dipilih karena mewakili kelompok Gram-positif dan Gram-negatif yang memiliki karakteristik seluler berbeda, sehingga dapat memberikan gambaran awal mengenai spektrum penghambatan ekstrak. *S. Aureus* merupakan patogen oportunistik yang dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi, sedangkan *P. Aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif dengan kemampuan adaptasi dan mekanisme intrinsik yang dapat membatasi kerentanan terhadap berbagai agen antimikroba. Sejumlah penelitian mengenai metabolit aktinomisetes juga melaporkan aktivitas terhadap kedua kelompok bakteri tersebut (Yi et al., 2025). Namun, strain yang digunakan dalam penelitian ini tidak dinyatakan sebagai strain yang telah dikonfirmasi resisten terhadap antibiotik. Oleh sebab itu, latar belakang resistensi antimikroba dalam penelitian ini berfungsi sebagai konteks kebutuhan penemuan kandidat antibakteri, bukan sebagai karakteristik yang telah dibuktikan pada bakteri uji. Hasil penelitian juga tidak dapat ditafsirkan sebagai bukti efektivitas ekstrak terhadap bakteri resisten.

Pemilihan etil asetat sebagai pelarut ekstraksi didasarkan pada penggunaannya untuk memperoleh komponen metabolit mikroba yang memiliki karakteristik kepolaran yang sesuai dengan pelarut tersebut. Komposisi ekstrak yang dihasilkan dapat berbeda antar-isolat, sehingga aktivitas antibakteri yang teramati juga berpotensi bervariasi. Penelitian terdahulu telah melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat aktinomisetes terhadap bakteri uji, termasuk *S. Aureus* dan *P. Aeruginosa* (Dar & Ahmad, 2024; Abdeta et al., 2026). Laporan-laporan tersebut mendukung penggunaan ekstrak etil asetat sebagai bahan skrining, tetapi hasil dari penelitian yang berbeda perlu dibandingkan secara hati-hati karena dapat menggunakan isolat, konsentrasi ekstrak, kondisi kultivasi, dan prosedur difusi yang tidak sama.

Kajian Yi et al. (2025), yang merangkum metabolit antibakteri aktinomisetes terestrial dan laut yang dilaporkan pada periode 2020 hingga September 2024, juga menunjukkan luasnya keragaman

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

metabolit dan target bakteri yang telah diteliti. Secara keseluruhan, temuan-temuan tersebut memperlihatkan bahwa aktinomisetes masih menjadi sumber yang relevan untuk skrining kandidat antibakteri. Akan tetapi, temuan dari penelitian terdahulu tidak dapat langsung digunakan untuk memprediksi aktivitas isolat dari Arboretum Universitas Riau. Pengujian langsung terhadap isolat dan ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini tetap diperlukan untuk memperoleh data empiris. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak metabolit sekunder dari lima isolat aktinomisetes asal tanah Arboretum Universitas Riau yang diekstraksi menggunakan etil asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas dievaluasi berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk pada pengujian difusi cakram. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi awal mengenai variasi aktivitas penghambatan antarisolat dan membantu menentukan isolat yang layak diprioritaskan untuk penelitian lanjutan, seperti penentuan konsentrasi hambat minimum, pemurnian, identifikasi senyawa, serta karakterisasi mekanisme kerja metabolit antibakteri.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Teknologi Bahan Alam dan Mineral, Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Riau, Pekanbaru.

2.2 Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : autoklaf, shaker inkubator, *evaporator, refrigerator, Laminar air flow*, oven sterilisasi, *microwave*, *waterbath*, timbangan analitik, *hotplate, vortex,* jangka sorong, mikropipet, bunsen, gelas beker, labu erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, pH meter, pipet tetes, pipet volume, jarum ose, gelas ukur, spatula, *sprayer,* corong pemisah, tabung *Eppendorf*, *blank disc*, *colony counter,* aluminium foil, pemantik api, pinset, *log book*, kertas label, alat tulis, dan alat dokumentasi.

Bahan yag digunakan dalam penelitian ini adalah : lima isolat aktinomisetes yang diisolasi dari tanah di Arboretum Universitas Riau yaitu isolat B1.06, B3.13, C2.18, A2.01, C2.20, bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Nutrient Agar* (NA), akuades, alkohol 70 %, spiritus, tetrasiklin, etil asetat, kasein, pati, CaCO3, FeSO4.7H2O, KNO3, K2HPO4, MgSO4.7H2O, NaCl, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), HCl, dan NaOH.

2.3. Prosedur Kerja

2.3.1 Preparasi Media, Peremajaan Isolat, dan Kultur Starter

Starch Casein Agar (SCA) disiapkan dengan melarutkan 10 g pati, 0,3 g kasein, 2 g KNO_3, 2 g NaCl, 2 g K_2HPO_4, 0,05 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,02 g $CaCO_3$, 0,01 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, dan 18 g agar dalam 1 L akuades pada pH 7. *Starch Casein Broth* (SCB) dibuat dengan komposisi yang sama tanpa penambahan agar. *Nutrient Agar* (NA), *Mueller–Hinton Agar* (MHA), dan *Mueller–Hinton Broth* (MHB) masing-masing disiapkan dengan melarutkan 23 g, 38 g, dan 21 g media dalam 1 L akuades. Seluruh media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Isolat aktinomisetes A2.01, B1.06, B3.13, C2.20, dan C2.18 diremajakan pada SCA menggunakan metode *streak plate* dan diinkubasi selama 7 hari, sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* diremajakan pada NA selama 24 jam suhu inkubasi 37^0c. Kultur starter aktinomisetes kemudian dibuat dengan menginokulasikan dua *agar plug* koloni ke dalam 50 mL SCB dan diinkubasi menggunakan *shaker incubator* pada 150 rpm selama 6 hari pada suhu ruang (Pudi et al., 2016; Mubarak et al., 2017; Litaay et al., 2017; Sulistiyani & Achmad, 2014; Zimbro & Power, 2003).

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

2.4. Produksi Senyawa Metabolit Aktinomisetes

Produksi senyawa metabolit aktinomisetes dilakukan dengan cara Sebanyak 20 ml kultur starter aktinomisetes diinokulasi ke dalam 200 ml SCB dan diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 150 rpm dengan suhu kamar, selama 7 hari. Kemudian kultur dipindah ke tabung *ependroff* dan disentrifus 3000 rpm 15 menit. Supernatan merupakan sumber metabolit sekunder (Mulyadi dan nanik (2013) ; Rahayu *et al.* (2016)).

2.5 Ekstraksi Senyawa Antibakteri Aktinomisetes

Ekstraksi senyawa antibakteri aktinomisetes dilakukan dengan cara mencampurkan supernatan dengan etil asetat 75% dengan perbandingan 1 : 1 (v/v). Campuran tersebut kemudian dikocok menggunakan shaker selama 1 jam pada kecepatan 150 rpm, kemudian terbentuk dua lapisan fraksi cair dan fraksi etil asetat. fraksi etil asetat dievaporasi dengan menggunakan evaporator pada suhu 40°C (50 rpm) selama 1 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian disimpan dalam refrigerator untuk pengerjaan selanjutnya (Prakash et al. (2013); Baskaran et al. (2015) ; Wahyuni (2014)).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion.* Sebanyak 1 ml suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan petri dan 15 ml medium MHA dituangkan ke cawan petri tersebut. Kemudian *blank disc* yang telah ditetesi 20 µl ekstrak aktinomisetes diletakkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi bakteri target. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengerjaan yang sama dilakukan untuk kontrol positif menggunakan 30 µg/disc tetrasiklin dan kontrol negatif menggunakan etil asetat sebanyak 20 µl. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong (Kurniato et al., 2021).

2.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk pada pengujian aktivitas antibakteri. Hasil pengukuran dinyatakan dalam milimeter (mm) dan disajikan sebagai nilai rata-rata ± simpangan baku (*mean* ± *standard deviation*) dari tiga kali pengulangan. Aktivitas penghambatan ekstrak metabolit sekunder aktinomisetes dievaluasi berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk terhadap masing-masing bakteri uji. Hasil pengujian ekstrak kasar tidak dikelompokkan ke dalam kategori sensitif, intermediet, dan resisten berdasarkan kriteria *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), karena breakpoint tersebut dikembangkan untuk interpretasi kepekaan bakteri terhadap antibiotik tertentu dan tidak dapat diterapkan secara langsung pada ekstrak kasar yang terdiri atas campuran berbagai senyawa bioaktif (Bubonja-Šonje et al., 2020; González-Pastor et al., 2023).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakterisasi Isolat dan Produksi Metabolit Sekunder

lima isolat aktinomisetes (A2.01, B1.06, B3.13, C2.18, dan C2.20) berhasil diremajakan pada medium *Starch Casein Agar* selama 7 hari. Hasil pengamatan menunjukkan adanya variasi morfologi koloni meliputi bentuk, warna permukaan dan bagian bawah koloni, elevasi, serta tepian koloni. Variasi tersebut menunjukkan karakter fenotipik yang berbeda antarisolat dan konsisten dengan karakteristik morfologi aktinomisetes yang telah dilaporkan sebelumnya (Rahayu et al., 2016).

Produksi metabolit sekunder dilakukan melalui kultivasi isolat dalam *Starch Casein Broth* selama 7 hari menggunakan *shaker incubator* pada 150 rpm. Penggunaan medium ini menyediakan sumber karbon, nitrogen, dan mineral yang mendukung pertumbuhan serta produksi metabolit sekunder aktinomisetes. Agitasi selama kultivasi meningkatkan aerasi dan membantu mempertahankan kondisi yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme serta biosintesis metabolit. Hasil kultivasi masing-masing isolat ditunjukkan pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, kultivasi isolat aktinomisetes menghasilkan warna medium yang berbeda, yaitu kuning pucat pada A2.01, putih krem pada B1.06, cokelat pada B3.13, putih susu pada C2.18, dan krem pada C2.20. Peningkatan kekeruhan selama inkubasi menunjukkan adanya

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

pertumbuhan aktinomisetes, sedangkan perubahan warna medium mengindikasikan produksi pigmen atau metabolit yang berdifusi ke dalam medium kultur (Dubey, 2014). Variasi warna antar isolat kemungkinan berkaitan dengan perbedaan karakter metabolik masing-masing isolat.



A B C D E

Gambar 1. Warna cairan kultivasi isolat aktinomisetes setelah diinkubasi selama 7 hari. A2.01 (A), B1.06 (B), B3.13 (C), C2.18 (D), dan C2.20 (E)

Namun, warna dan kekeruhan secara visual tidak dapat digunakan untuk mengukur jumlah biomassa atau kadar metabolit tertentu. Oleh karena itu, pengamatan tersebut diperlakukan sebagai deskripsi fenotipik kultur dan bukan sebagai bukti langsung tingginya produksi metabolit antibakteri.

Metabolit sekunder selanjutnya diperoleh melalui kultivasi selama 7 hari, yang dipilih berdasarkan laporan bahwa aktinomisetes dapat menghasilkan metabolit sekunder pada fase pertumbuhan lanjut dan aktivitas metaboliknya dapat meningkat selama fermentasi 7–14 hari (Rahayu et al., 2016; Khamma et al., 2009). Supernatan hasil kultivasi kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat. Pelarut ini dipilih karena bersifat semipolar dan telah dilaporkan efektif dalam mengekstraksi metabolit sekunder aktinomisetes serta menghasilkan aktivitas antimikroba yang baik (Baskaran et al., 2015; Sulistyani & Achmad, 2014).

Hasil ekstraksi menunjukkan variasi warna ekstrak antar isolat, yaitu bening pada C2.20 dan A2.01, kuning cerah pada C2.18, putih kekuningan pada B3.13, dan kuning pucat pada B1.06. Perbedaan warna tersebut menunjukkan adanya variasi komponen terlarut dalam ekstrak, meskipun warna secara visual belum dapat digunakan untuk menentukan jenis senyawa yang terkandung di dalamnya. Selanjutnya, ekstrak metabolit sekunder digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

3.2 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan adanya variasi diameter zona hambat ekstrak metabolit sekunder dari lima isolat aktinomisetes terhadap kedua bakteri uji (Tabel 1). Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, diameter zona hambat berkisar antara 7,6 ± 0,1 hingga 25,1 ± 0,6 mm, dengan isolat B1.06 menghasilkan zona hambat terbesar (25,1 ± 0,6 mm), sedangkan B3.13 menghasilkan zona hambat terkecil (7,6 ± 0,1 mm). Sementara itu, terhadap *Staphylococcus aureus*, diameter zona hambat berkisar antara 8,3 ± 0,2 hingga 15,0 ± 0,7 mm. Isolat B1.06 kembali menunjukkan diameter zona hambat terbesar (15,0 ± 0,7 mm), sedangkan isolat B3.13 tidak menunjukkan zona hambat yang terukur. Dengan demikian, B1.06 menunjukkan aktivitas penghambatan tertinggi di antara kelima isolat yang diuji terhadap kedua bakteri pada kondisi percobaan ini.

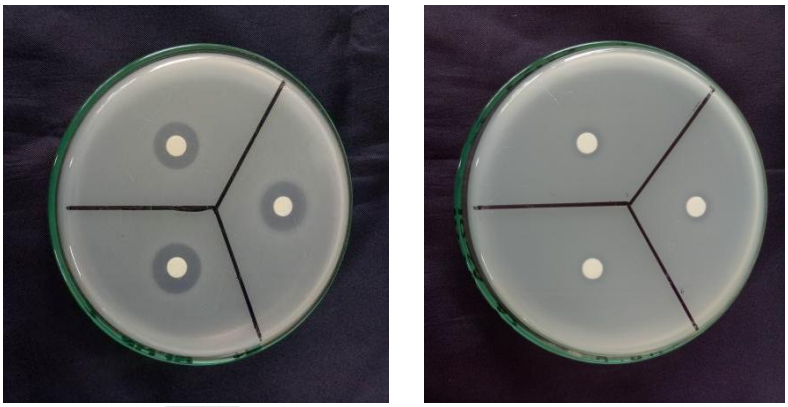
Sebagai pembanding, kontrol positif tetrasiklin dengan dosis 30 µg/cakram menghasilkan diameter zona hambat sebesar 18,7 ± 1,0 mm terhadap *P. aeruginosa* dan 29,6 ± 1,1 mm terhadap *S. aureus*. Ekstrak metabolit sekunder aktinomisetes diaplikasikan sebanyak 20 µL pada setiap cakram. Meskipun diameter zona hambat ekstrak B1.06 terhadap *P. aeruginosa* secara numerik lebih besar daripada kontrol tetrasiklin, hasil tersebut tidak dapat langsung diinterpretasikan sebagai potensi antibakteri yang lebih tinggi. Hal ini karena volume aplikasi ekstrak belum menggambarkan massa ekstrak yang terkandung dalam setiap cakram, sehingga dosis ekstrak belum dapat dibandingkan secara langsung dengan dosis tetrasiklin. Selain itu, diameter zona hambat pada metode difusi cakram dipengaruhi oleh kemampuan

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

komponen ekstrak untuk berdifusi dalam medium agar, yang berkaitan dengan karakteristik fisikokimia senyawa, seperti kelarutan dan ukuran molekul (Bubonja-Šonje et al., 2020; Balouiri et al., 2016). Oleh karena itu, hasil pengujian ini lebih tepat diinterpretasikan sebagai skrining awal aktivitas penghambatan ekstrak metabolit sekunder aktinomisetes. Variasi diameter zona hambat antarisolat kemungkinan berkaitan dengan perbedaan kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan metabolit sekunder, meskipun komposisi senyawa yang berperan belum dapat dipastikan karena penelitian ini belum mencakup identifikasi dan karakterisasi kimia ekstrak.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Isolat Aktinomisetes terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Isolat	***Pseudomonas aeruginosa (mm)***	***Staphylococcus aureus (mm)***
B3.13	7,6±0,1	Tidak terbentuk zona hambat
C2.20	8,1±0,4	9,2±0,5
C2.18	8,6±1,0	8,5±0,9
A2.01	12,9±0,3	8,3±0,2
B1.06	25,1±0,6	15,0±0,7
Tetrasiklin	18,7±1,0	29,6±1,1



Gambar 2. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh isolat aktinomisetes, (A) B1.06 terhadap *Staphylococcus aureus*. (B) A2.01 terhadap *Staphylococcus aureus*.

Aktinomisetes dikenal sebagai kelompok bakteri dengan keragaman metabolit alami dan *biosynthetic gene clusters* yang berpotensi menghasilkan senyawa dengan struktur serta aktivitas biologis berbeda. Sejumlah klaster biosintesis juga dapat bersifat tidak aktif atau diekspresikan pada tingkat rendah dalam kondisi laboratorium tertentu (Ngamcharungchit et al., 2023; El-Hawary et al., 2023; Dashti & Errington, 2024). Akan tetapi, penelitian ini belum melakukan identifikasi kimia, sehingga belum dapat ditentukan apakah aktivitas B1.06 berkaitan dengan satu senyawa dominan atau campuran beberapa senyawa.

Aktivitas ekstrak B1.06 terhadap kedua bakteri dapat dibandingkan dengan penelitian Kurnianto et al. (2021), yang menguji ekstrak kasar etil asetat dari *Streptomyces* AIA12 dan AIA17 menggunakan metode difusi cakram. Dalam penelitian tersebut, ekstrak disiapkan pada konsentrasi 10 mg/mL dan sebanyak 20 µL diaplikasikan pada cakram berdiameter 6 mm. Diameter zona hambat AIA12 dan AIA17 masing-masing adalah 16,5 ± 0,1 dan 12,0 ± 0,3 mm terhadap *P. aeruginosa*, serta 6,7 ± 0,1 dan 19,7 ± 0,5 mm terhadap *S. aureus*. Pada penelitian ini, B1.06 menghasilkan diameter zona hambat 25,1 ± 0,6 mm terhadap *P. aeruginosa* dan 15,0 ± 0,7 mm terhadap *S. aureus*.

Hasil ini juga dapat dikontekstualisasikan dengan penelitian Devadass et al. (2016) terhadap ekstrak etil asetat aktinomisetes tanah. Dengan metode difusi cakram, penelitian tersebut melaporkan zona hambat sekitar 7–11 mm terhadap *P. aeruginosa* dan 15–23 mm terhadap *S. aureus*. Namun,

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

penelitiannya menggunakan isolat, strain bakteri, dan kondisi pemuatan cakram yang berbeda. Karena volume/dosis ekstrak dan karakteristik bahan uji memengaruhi diameter zona, angka antarpublikasi tidak dapat dibandingkan sebagai ukuran potensi relatif secara langsung.

Zona hambat yang terbentuk berbeda antara *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Perbedaan respons tersebut mungkin dipengaruhi oleh karakteristik selubung sel bakteri. *P. aeruginosa* sebagai bakteri Gram-negatif memiliki membran luar yang mengandung lipopolisakarida dan porin, serta sistem pompa efluks yang dapat membatasi akumulasi sejumlah senyawa antimikroba. Karakteristik tersebut merupakan salah satu faktor intrinsik yang berkontribusi terhadap rendahnya permeabilitas dan resistensi intrinsik bakteri ini (Pang et al., 2019). Namun, respons terhadap ekstrak alami juga dipengaruhi oleh sifat kimia senyawa, konsentrasi, kelarutan, dan kemampuan difusi dalam agar, oleh karena itu, hasil penelitian ini tidak cukup untuk menyimpulkan bahwa salah satu kelompok gram secara umum lebih rentan terhadap ekstrak aktinomisetes (Bubonja-Šonje et al., 2020). Secara numerik, zona hambat ekstrak B1.06 terhadap *P. aeruginosa* lebih besar daripada zona hambat tetrasiklin yang dilaporkan. Perbandingan ini tidak dapat ditafsirkan sebagai bukti bahwa ekstrak lebih poten daripada tetrasiklin. Diameter zona hambat dipengaruhi oleh kemampuan senyawa berdifusi dalam agar dan tidak selalu memiliki hubungan linear dengan konsentrasi bahan uji. Metode difusi cakram untuk ekstrak alami karena itu lebih tepat diposisikan sebagai skrining awal, sedangkan penentuan aktivitas kuantitatif memerlukan metode dilusi yang sesuai (Bubonja-Šonje et al., 2020; Balouiri et al., 2016).

Temuan ini menempatkan isolat B1.06 sebagai kandidat prioritas untuk tahapan eksplorasi berikutnya. Dalam konteks pencarian sumber antibakteri, skrining terhadap dua bakteri dengan karakteristik Gram yang berbeda memberikan informasi awal mengenai spektrum penghambatan ekstrak. Meskipun demikian, aktivitas in vitro melalui difusi cakram belum dapat digunakan untuk menyimpulkan efektivitas terapeutik atau kontribusi langsung terhadap pengendalian infeksi. Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu metode difusi agar dipengaruhi oleh kelarutan dan laju difusi komponen ekstrak sehingga tidak dapat menggantikan penentuan MIC secara kuantitatif (Bubonja-Šonje et al., 2020; Balouiri et al., 2016). Penelitian ini juga belum mencakup penentuan MIC dan MBC, identifikasi serta pemurnian senyawa aktif. pengujian MIC/MBC serta identifikasi kimia senyawa aktif.

4. KESIMPULAN

Lima isolat aktinomisetes menunjukkan variasi aktivitas penghambatan secara *in vitro* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Di antara kelima isolat yang diuji, B1.06 menghasilkan diameter zona hambat terbesar terhadap kedua strain bakteri tersebut, masing-masing sebesar 25,1 ± 0,6 mm dan 15,0 ± 0,7 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa B1.06 merupakan isolat dengan aktivitas penghambatan tertinggi berdasarkan pengujian difusi cakram dalam kondisi penelitian ini, sehingga diprioritaskan untuk eksplorasi lebih lanjut. Namun, hasil tersebut belum membuktikan bahwa ekstrak B1.06 memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan antibiotik atau dapat digunakan sebagai pengganti antibiotik. Selain itu, relevansi aktivitas ekstrak terhadap resistensi antimikroba belum dapat dipastikan karena penelitian ini tidak menggunakan strain bakteri yang telah dikonfirmasi resisten terhadap antibiotik. Penelitian selanjutnya perlu difokuskan pada isolat B1.06 melalui penentuan konsentrasi hambat minimum (MIC), konsentrasi bakterisidal minimum (MBC), serta identifikasi dan karakterisasi senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan. Pengujian lanjutan terhadap strain bakteri resisten juga diperlukan untuk mengevaluasi relevansi temuan ini dalam konteks resistensi antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

Abdeta, E. C., Meka, A. F., Hordofa, D. G., Sime, B. K., Akkewak, G. A., Mahdi, J. A., Abas, M. K., & Gemeda, M. T. (2026). Metabolites of native *actinomycetes* from Sof Umer cave reveal potent antimicrobial activity against selected pathogens in mice infection models. *Electronic Journal of Biotechnology*, 79, 100703. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2025.100703

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

Baskaran R, PM Mohan. MG Madanan, Ashok Kumar & M Palaniswami. (2015). Characterization and antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. DOSMB-A107 isolated from mangrove sediments of Andaman Island, India . *Indian Journal of Geo-Marine Sciences.* Vol 44 (5) : 714-723

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005

Bubonja-Šonje, M., Knežević, S., & Abram, M. (2020). Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 71(4), 300–311. https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3396

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-second informational supplement* (CLSI document M100-S22). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Dashti, Y., & Errington, J. (2024). Chemistry and biology of specialized metabolites produced by Actinomadura. Natural Product Reports, 41(3), 370–401. https://doi.org/10.1039/D3NP00047H

Dar, M. S., & Ahmad, I. (2024). Screening and evaluation of antibacterial active strains of Actinomycetes isolated from Northern Indian soil for biofilm inhibition against selected ESKAPE pathogens. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 11, 340–355. https://doi.org/10.1007/s43994-024-00164-8

Devadass, B. J., Paulraj, M. G., Ignacimuthu, S., Agastian, P., & Al-Dhabi, N. A. (2016). Antimicrobial activity of soil actinomycetes isolated from Western Ghats in Tamil Nadu, India. *Journal of Bacteriology & Mycology:* Open Access, 3(2), 224–232. https://doi.org/10.15406/jbmoa.2016.03.00059

Dubey R. (2014). Advanced Biotechnology. New Dehli: S Chand Publishing

El-Hawary, S. S., Hassan, M. H. A., Hudhud, A. O., Abdelmohsen, U. R., & Mohammed, R. (2023). Elicitation for activation of the actinomycete genome's cryptic secondary metabolite gene clusters. *RSC advances*, *13*(9), 5778–5795. https://doi.org/10.1039/d2ra08222e

Gonzalez-Pastor, R., Carrera-Pacheco, S. E., Zúñiga-Miranda, J., Rodríguez-Pólit, C., Mayorga-Ramos, A., Guamán, L. P., & Barba-Ostria, C. (2023). Current Landscape of Methods to Evaluate Antimicrobial Activity of Natural Extracts. *Molecules*, *28*(3), 1068. https://doi.org/10.3390/molecules28031068

Khamma, Yokota, and Lumyong. (2009). Actinomisetes Isolated from Medical Plant Rhizosphere Soils : Diversity and Screening of Antifungal Compounds, Indole-3-Acetic Acid and Siderophore Production. *World J Microbial Biotechnol*, 25 : 649 – 655

Kurnianto, M. A., Kusumaningrum, H. D., Lioe, H. N., & Chasanah, E. (2021). Antibacterial and antioxidant potential of ethyl acetate extract from *Streptomyces* AIA12 and AIA17 isolated from gut of Chanos chanos. *Biodiversitas*, 22(8), 3196–3206. https://doi.org/10.13057/biodiv/d220813

Litaay M, Karlina S, Risco B.G dan Nur H. (2017). Potensi Abalon Tropis *Haliotis Asinina* L. Sebagai Sumber Inokulum Jamur Simbion Penghasil Antimikroba. *Jurnal SPERMONDE* Vol 3 (1): 42-46

Mubarak F, Herlina R dan Natsir D. (2017). Isolasi Dan Aktivitas Antimikroba *Actinomycetes* Dari Tanah *Karst* Taman Wisata Bantimurung Asal Maros Sulawesi Selatan. *Jurnal As-Syifaa.* Vol 09 (01) : 01-10

Mulyadi, M., & Sulistyani, N. (2013). Aktivitas cairan kultur 12 isolat actinomycetes terhadap bakteri resisten. *Kes Mas: Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat,* *7*(2), 89–96. https://doi.org/10.12928/kesmas.v7i2.1043

Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., & Intra, B. (2023). Bioactive Metabolites from Terrestrial and Marine Actinomycetes. *Molecules*, *28*(15), 5915. https://doi.org/10.3390/molecules28155915

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: Mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177–192. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013

Prakash S, Ramasubburayan R, P. Iyappraja, C. Kumar, C.J. Mary, A. Palavesam, dan G. Immanuel. (2013). Screening and Partial Purification of Antifungal Metaboliter from Streptomyces rochel MSA14: an Isolate from Marine Mining Soil of Southwest Coast of India. Indian Journal of Geo-Marine Sciences. 42 (7) 888-897.

Pudi N, Varikuti GD, Badana AK, Gavara MM, Kumari S dan Malla R. (2016). Studies on Optimization of Growth Parameters of Enhanced Production of Antibiotic Alkaloids by Isolated Marine *Streptomyces*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6 (10) : 181-188

Rahayu, F. (2016). *Isolasi dan uji aktivitas antibakteri aktinomisetes dari Arboretum Universitas Riau* [Skripsi sarjana, Universitas Riau]. Repository Universitas Riau.

Sulistyani N dan Achmad NA. (2014). Aktivitas Isolat *Actinomycetes* Dari Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Sebagai Penghasil Antibiotik Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 12 (1) : 1-9

Wahyuni DS. (2014). Skrining Aktivitas Isolat Aktinomisetes Tanah Asal Indonesia Penghasil Antibakteri. [Tesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor

Yi, R., Shi, Y., Cao, X., & Pan, C. (2025). Actinomycetes: Treasure trove for discovering novel antibiotic candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry, 286*, 117317. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117317

Zimbro MJ dan Power DA. (2003). Difco and BBL Manual of Microbiologycal Culture Media. Sparks: Becton, Dickinson and Company

DOI: https://doi.org/10.54082/jupin.2946
p-ISSN: 2808-148X
e-ISSN: 2808-1366

Halaman ini dikosongkan