Aktivitas Antifungi Isolat *Actinomycetes* dari Sumber Air Panas Ai Sipatn Lotup Sanggau Terhadap Isolat *Hortaea werneckii* (T1)

Jerliman Manalu¹, Rahmawati¹, Novik Nurhidayat²

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak,

²Bidang Mikrobiologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Bogor

Email korespondensi : Jerlimanmanalu@gmail.com

Abstract

Pathogenic fungi cause health problems especially the skin infection caused by *Hortaea werneckii* causes of tinea nigra skin disease. One of the method minimizes the problems and against the growth of *Hortaea werneckii* can use the active material from *Actinomycetes* bacteria as the antifungal. This research was to aware the kind of *Actinomycetes* bacteria that have the most potential as antifungal against the *Hortaea werneckii*, the effect of metabolic volume composition and incubation time of *Actinomycetes* bacteria against the *Hortaea werneckii* (T1). Antifungal activity test used the filtration method of *Actinomycetes* bacteria with parameters based on incubation time and volume comparison of metabolites concentration. Antifungal activity test of 11 isolates *Actinomycetes* bacteria produce six isolates *Actinomycetes* bacteria as the most potential antifungal and the percentage of the effect difference among the treatment against *Hortaea werneckii* (T1) are *Thermoactinomyces* sp. (H24) 39,98%, *Thermoactinomyces* sp. (H21) 29,11%, *Thermobifida* sp. (S311) 21,14%, *Streptomyces* sp. (S211) 34,21%, *Actinomadura* sp. (S21(2)) 24,70%, dan *Nocardiosis* sp. (H22*1) 33,03%. Bacteria isolate *Thermoactinomyces* sp. (H24) have a significant percentage of antifungal with an average 97%, as a difference of the effect among treatments are 39,98%. The metabolites produced by *Actinomycetes* cause *Hortaea werneckii* (T1) growth to be inhibited and damage cells structure their.

Keyword : *Hortaea werneckii*, *Actinomycetes* bacteria, Antifungal

PENDAHULUAN

Tinea nigra merupakan mikosis superfisialis yang dapat menginfeksi kulit, dan salah satu penyebabnya adalah jamur anggota spesies *Hortaea werneckii*. Penyakit ini dapat menginfeksi lapisan kulit yaitu bagian stratum korneum dari epidermis kulit. Tinea nigra termasuk penyakit asimtomatik karena penderita penyakit ini tidak menyadari gejala apapun dan biasanya menginfeksi telapak tangan maupun telapak kaki (Piliouras *et al.*, 2011). Penyebab penyakit ini karena kurangnya sanitasi pribadi, trauma, dan adanya hiperhidrosis yaitu meningkatnya konsentrasi kelenjar keringat pada tubuh secara berlebihan yang tidak adanya aktivitas olahraga (Rezusta *et al.*, 2010).

Jamur anggota spesies *Hortaea werneckii* memiliki sinonim atau nama lainnya yaitu *Phaeoannellomyces werneckii* atau *Exophiala werneckii*, dan *Cladosporium werneckii* (Bonifaz *et al.*, 2008). *Hortaea werneckii* menghasilkan *dermaticeous* yakni dinding selnya mengandung pigmen melanin sehingga memberikan pigmen warna coklat atau hitam pada kulit sehingga sering disebut *black yeast*. Spesies ini dapat tumbuh dan toleran terhadap kadar salinitas tinggi. Kadar optimum pertumbuhannya berkisar 3-4,5 M NaCl.

Karakter hifa bersifat hidrofobik dan bersepta (Kejzar *et al.*, 2013).

Bakteri termofilik anggota *Actinomycetes* dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang bersifat antimikroba, sehingga dapat diaplikasikan dalam bidang farmakologi maupun bioteknologi (Limaye *et al.*, 2017). Bakteri termofilik anggota *Actinomycetes* menghasilkan berbagai antibiotik seperti tetrasiklin, kloramfenikol, dan rifampisin (Chaudhary *et al.*, 2013). Bakteri anggota *Actinomycetes* menghasilkan senyawa *polyoxins* dan *nikkomycins* yang dapat menghambat sintesis kitin (Aderiye, 2015). Kitin merupakan suatu polisakarida polimer linier yang tersusun oleh monomernya β -1,4-N-asetilglukosamin. Kitin berfungsi sebagai proteksi organel sel karena komponen penyusun dinding sel fungi (Herdyastuti *et al.*, 2009).

Bakteri termofilik anggota *Actinomycetes* merupakan bakteri yang dapat hidup pada temperatur suhu 37-65 °C (Kurapova *et al.*, 2012). Agen pengendali yang berpotensi meminimalisasi prevalensi penyakit tinea nigra adalah bakteri termofilik anggota *Actinomycetes* dari sumber air

panas Ai Sipatn Lotup di Dusun Peruntan, Desa Sape, Kecamatan Jangkang, Kabupaten Sanggau, Provinsi Kalimantan Barat. Suhu sumber air panas Ai Sipatn Lotup berkisar 55 °C. Beberapa penduduk Dayak Jangkang menggunakan sumber air panas Ai Sipatn Lotup untuk mandi, karena sumber air panas tersebut dipercayai dapat menyembuhkan penyakit kulit. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk bakteri anggota *Actinomycetes* termofilik yang berpotensi sebagai antifungi untuk menghambat aktivitas mikroba penyebab mikosis superfisialis khususnya anggota spesies *Hortaea werneckii*

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama tiga bulan yaitu mulai bulan April hingga Juni 2018. Pengambilan sampel dilakukan di sumber Air Panas Ai Sipatn Lotup, Sanggau, Kalimantan Barat dan probandus yang mengalami gejala tinea nigra. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Untan Pontianak, dan Laboratorium Mikrobiologi Kesehatan, Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Bogor.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain akuades, alkohol 70 %, *Bacto Agar* (merck), etanol 96 %, *Casein Agar*, *Ferosulfat Heptahidrat* ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), glukosa, Hidrogen Peroksida (H_2O_2), isolat fungi anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) dan isolat bakteri termofilik anggota *Actinomycetes* dari sumber air panas Ai Sipatn Lotup, Kalium Klorida (KCl), Kalium Nitrat (KNO_3), Kalium *Hidrophosphat* (K_2HPO_4), Kalsium Karbonat (CaCO_3), *Kovacs reagent*, kristal violet, lugol, *lactophenol blue*, Magnesium Sulfat Heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), maltosa, *Malt Extract Agar* (MEA) (Merck), Natrium Klorida (NaCl), *Natrium Hidrophosphat* (Na_2HPO_4), *Nutrient Agar* (NA), *Soluble Starch*, dan *Tryptone*.

Prosedur Kerja

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang hendak disterilisasi dan tahan terhadap suhu tinggi dibungkus menggunakan kertas dan plastik, selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Alat-alat yang tidak tahan terhadap suhu tinggi disterilisasi menggunakan alkohol 70% dan api bunsen.

Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Starch Casein Agar* (10 g *Soluble Starch*, 0,3 g *Casein Agar*, 2 g Kalium Nitrat, 2 g Natrium Klorida, 2 g *Dipotasium Hydrogen Fosfat*, 0,05 g Magnesium Sulfat Heptahidrat, 0,02 Kalsium Klorida, 0,01 g Fero Sulfat Heptahidrat, dan 18 g serbuk agar), *Nutrient Agar* 23 g/l, *Nutrient Broth* (NB), *Malt Extract Agar* (MEA) 50 g/l dan ditambahkan kloramfenikol 50 mg/l, *Malt Extract Broth* (MEB). Komposisi bahan ditimbang, kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 1000 ml diaduk menggunakan batang pengaduk hingga media homogen. Kemudian media dipanaskan hingga mendidih menggunakan *microwave*, dan mulut wadah media ditutup rapat dengan kapas lalu diberi label media. Setelah dipanaskan, kemudian media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm.

Peremajaan Bakteri anggota Actinomycetes

Isolat bakteri termofilik anggota *Actinomycetes* yang diperoleh dari hasil isolasi dari sumber air panas Ai Sipatn Lotup diremajakan kembali menggunakan metode kuadran dengan cara penggosokan (*streak plate* pada media *Starch Casein Agar* (SCA) dan NA, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 50°C selama 24-72 jam sampai terlihat koloni-koloni tunggal yang tumbuh.

Peremajaan isolat Hortaea werneckii (T1)

Isolat jamur anggota spesies *Hortaea weneckii* (T1) diinokulasikan kembali dengan jarum ose ke media agar miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 30 °C selama 3-5 hari hingga diperoleh pertumbuhan yang normal (Brooks *et al.*, 2005).

Pembuatan Suspensi Isolat Bakteri Anggota Actinomycetes

Koloni bakteri anggota *Actinomycetes* diinokulasikan ke dalam media cair NB. Kekeruhan suspensi bakteri anggota *Actinomycetes* diukur menggunakan alat *microplate reader* dengan panjang gelombang 530 nm.

Pembuatan Suspensi Isolat Jamur Hortaea werneckii (T1)

Koloni fungi lalu disuspensikan ke dalam media MEB. Kekeruhan suspensi mikroba uji diukur menggunakan alat *microplate reader* dengan panjang gelombang 530 nm (Depkes, 1995).

Uji Antifungi Bakteri Termofilik Anggota Actinomycetes Terhadap Isolat Jamur Anggota Spesies Hortaea werneckii (T1).

Uji antifungi dilakukan dengan dengan metode filtrasi. *Optical density* (OD) suspensi isolat bakteri anggota *Actinomycetes* diukur menggunakan *microplate reader*, kemudian suspensi isolat bakteri tersebut difiltrasi menggunakan filter 0.2 µm. Filtrat yang diperoleh diambil dan dicampur dengan suspensi *Hortaea werneckii* (T1) dengan perbandingan konsentrasi volume 1:1 (100 µl T1 : 100 µl filtrat isolat *Actinomycetes*); 1,33:1 (100 µl T1 : 75 µl filtrat *Actinomycetes*); 2:1 (100 µl T1 : 50 µl filtrat isolat *Actinomycetes*); 4:1 (100 µl T1 : 25 µl filtrat *Actinomycetes*) dan ditambahkan media MEB sebanyak 1 ml untuk pertumbuhan *Hortaea werneckii* (T1), kemudian diukur OD sebelum diinkubasi untuk mengamati perubahan pertumbuhan isolat anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1). Kontrol negatif yaitu isolat anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) yang ditumbuhkan pada media MEB sebanyak 1 ml dan tidak diberi perlakuan filtrat isolat *Actinomycetes*, sedangkan kontrol positif yang digunakan yaitu ketokenazol 2%. Selanjutnya diinkubasi selama 20, 44, dan 68 jam kemudian diukur OD aktivitas antifungi bakteri anggota *Actinomycetes* terhadap *Hortaea werneckii* (T1).

Pengukuran Aktivitas Antifungi Isolat Bakteri Termofilik Anggota Actinomycetes Terhadap Hortaea werneckii (T1)

Filtrat bakteri anggota *Actinomycetes* yang dicampur dengan suspensi isolat *Hortaea werneckii* (T1) dan ditambahkan media 1 ml pada *ependorf* untuk uji aktivitas antifungi, kemudian dihomogenkan. Setelah homogen lalu diambil sebanyak 200 µl menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam *microplate*. Kemudian diukur OD suspensi pada waktu inkubasi selama 20 jam, 44 jam, dan 68 jam menggunakan *microplate reader* dan dibandingkan dengan kontrol negatif.

Perhitungan persentase antifungi menggunakan rumus:

$$\% \text{ Antifungi} : \frac{\text{Kontrol negatif} - \text{Perlakuan} \times 100\%}{\text{Kontrol negatif}}$$

Analisis dan Penyajian Data

Data hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan hasil berupa gambar, tabel, dan deskripsi. Persentase antifungi dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan program SPSS 18 berdasarkan data jenis isolat bakteri, komposisi volume perbandingan, dan waktu inkubasi. Apabila data yang diperoleh hasilnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf signifikan 5 % (Sujarweni, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Jumlah isolat bakteri anggota *Actinomycetes* yang diskriming uji aktivitas antifungi berdasarkan perbandingan volume dan waktu inkubasi yaitu 11 isolat (isolat S211, H12, H2232, S311, S311A, S31, H24, H22*1, H21, H11, dan S21(2)). Isolat bakteri anggota *Actinomycetes* penghasil aktivitas antifungi dan terdapat pengaruh perlakuan berdasarkan analisa RAL faktorial terhadap isolat *Hortaea werneckii* (T1) yaitu isolat bakteri *Thermoactinomyces* sp. (H21), *Thermoactinomyces* sp. (H24), *Thermobifida* sp. (S311), *Streptomyces* sp. (S211), *Actinomadura* sp. (S21(2)), dan *Nocardiopsis* sp. (H22*1). Kontrol negatif yang digunakan sebagai pembanding yaitu isolat anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) yang diinokulasi pada media MEB sebanyak 1 ml tanpa diberi perlakuan lain. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu ketokenazol 2% karena masyarakat sering menggunakannya sebagai obat topikal untuk menyembuhkan infeksi kulit yang disebabkan oleh jamur.

Hasil uji antifungi menunjukkan bahwa pada suhu 50 °C selama 20 jam, 44 jam, dan 68 jam dengan komposisi perbandingan volume 1:1 (100 µl : 100 µl), 1,33:1 (100 µl : 75 µl), 2:1 (100 µl : 50 µl), dan 4:1 (100 µl : 25 µl) dapat dilihat pada Gambar 1-4.

Gambar 1. Grafik persentase antifungi isolat bakteri anggota *Actinomycetes* terhadap *H. werneckii* berdasarkan komposisi perbandingan volume 1:1 (100 µl : 100 µl)

Hasil uji antifungi menunjukkan bahwa pada suhu 50 °C selama 20 jam, 44 jam, dan 68 jam dengan komposisi perbandingan volume 1:1 menunjukkan terdapat isolat bakteri yang bersifat fungisidal dan fungistatik karena semua isolat bakteri menghasilkan aktivitas antifungi. Isolat bakteri yang bersifat fungisidal yaitu isolat H21, S311, dan

S311A. Isolat yang memiliki aktivitas fungisidal signifikan yaitu isolat H21 dengan persentase 92,96% (20 jam), 72,77% (44 jam), dan 72,71% (68 jam). Isolat yang memiliki aktivitas fungistatik signifikan yaitu isolat bakteri H24 dengan persentase 96,79% (20 jam), 97,39% (44 jam), dan 98,18% (68 jam) (Gambar 1).

Gambar 2. Grafik persentase antifungi isolat bakteri anggota *Actinomycetes* terhadap *H. werneckii* berdasarkan komposisi perbandingan volume 1,33:1 (100 µl : 75 µl)

Isolat bakteri S31 memiliki nilai rata-rata persentase pada waktu inkubasi selama 20 jam (93,90%), 44 jam (85,77%), dan 68 jam (90,41%). Isolat bakteri S31 memiliki nilai rata-rata persentase antifungi pada waktu inkubasi selama 20 jam (96,46%), 44 jam (97,62%), dan 68 jam (98,60%). Berdasarkan grafik menunjukkan bahwa isolat bakteri anggota

Actinomycetes memiliki antifungi bersifat fungisidal dan fungistatik. Isolat bakteri yang bersifat fungisidal yaitu isolat H21, sedangkan isolat bakteri bersifat fungistatik yaitu H24, H2232, S311, S311A, S211, H12, S31, H22*1, H11, S21(2), dan kontrol positif (Gambar 2).

Gambar 3. Grafik persentase antifungi isolat bakteri anggota *Actinomycetes* terhadap *H. werneckii* berdasarkan komposisi perbandingan volume 2:1 (100 μ l : 50 μ l)

Hasil uji antifungi dengan perbandingan volume 2:1 menunjukkan bahwa nilai persentase antifungi tertinggi yaitu isolat bakteri H24 dan S311A. Isolat bakteri H24 memiliki nilai rata-rata persentase antifungi pada waktu inkubasi selama 20 jam (97,93%), 44 jam (95,82%), dan 68 jam (78,77%). Isolat bakteri S311A memiliki nilai rata-rata

persentase antifungi pada waktu inkubasi selama 20 jam (97,93%), 44 jam (95,82%), dan 68 jam (78,77%). Berdasarkan grafik tidak menunjukkan adanya antifungi bersifat fungisidal melainkan bersifat fungistatik. Hal ini dikarenakan bakteri tersebut hanya mampu membunuh pada konsentrasi atau volume yang tinggi (Gambar 3).

Gambar 4. Grafik persentase antifungi isolat bakteri anggota *Actinomycetes* terhadap *H. werneckii* berdasarkan komposisi perbandingan volume 4:1 (100 μ l : 25 μ l)

Hasil uji antifungi yang diinkubasi pada suhu 50 °C selama 20 jam, 44 jam, dan 68 jam dengan perbandingan volume 4:1 menunjukkan bahwa nilai persentase antifungi tertinggi yaitu isolat bakteri H24 dan S311A. Isolat bakteri H24 memiliki nilai rata-rata persentase antifungi pada waktu inkubasi selama 20 jam (90,55%), 44 jam (95,12%), dan 68 jam (96%). Isolat bakteri S311A memiliki nilai rata-rata persentase antifungi pada waktu inkubasi selama 20 jam (92,05,55%), 44 jam (95,79%), dan

68 jam (96,32%). Berdasarkan grafik tidak menunjukkan adanya antifungi bersifat fungisidal melainkan bersifat fungistatik. (Gambar 4). Hasil uji antifungi menunjukkan bahwa dengan perlakuan keseluruhan komposisi perbandingan volume dari RAL Faktorial terdapat perbedaan atau pengaruh perlakuan metabolit isolat bakteri H24, H21, S311, H22*1, S211, S21(2), dan kontrol positif (ketokenazol 2%) berdasarkan komposisi volume

maupun waktu inkubasi terhadap antifungi *Hortaea werneckii* (T1).

Pembahasan

Pengujian antifungi isolat bakteri anggota *Actinomycetes* terhadap pertumbuhan anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) dilakukan dengan memberikan perbedaan variasi komposisi volume 1:1 (100 µl : 100 µl), 1,33:1 (100 µl : 75 µl), 2:1 (100 µl : 50 µl), dan 4:1 (100 µl : 25 µl), sedangkan variasi waktu inkubasi selama 20 jam, 44 jam, dan 68 jam. Kontrol negatif yang digunakan sebagai pembanding persentase antifungi menggunakan isolat anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) yang diinokulasikan pada media MEB sebanyak 1 ml tanpa diberi perlakuan lain, sehingga pertumbuhannya relatif berbeda jika dibandingkan dengan perlakuan filtrat bakteri *Actinomycetes*. Hal ini disebabkan media yang digunakan tidak mengandung antifungi sehingga pertumbuhan isolat jamur anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) lebih optimal. Menurut Singh *et al.* (2014), kontrol negatif berfungsi sebagai pembanding perlakuan karena pada media kontrol negatif tidak ada senyawa yang menghambat pertumbuhan mikroba uji.

Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu ketokonazol 2%. Menurut Anggarini *et al.* (2015), ketokonazol merupakan derivat *imidazol dioxolane* sintetis yang memiliki efek antifungi yang berpotensi dan sensitif terhadap mikosis superfisialis. Menurut Najmuddin *et al.* (2010), ketokonazol bekerja spesifik terhadap sel fungi dengan menghambat enzim sitokrom P450 yang terlibat dalam jalur biosintesis sterol dan akan mengubah lanosterol menjadi ergosterol pada membran sel fungi.

Isolat yang memiliki persentase antifungi berbeda secara signifikan berdasarkan komposisi perbandingan volume dan waktu kontak yang berbeda. Komposisi perbandingan volume 1:1 memiliki nilai aktivitas antifungi relatif tinggi jika dibandingkan dengan perbandingan volume (1,33:1, 2:1, dan 4:1) karena komposisi volume mempengaruhi pertumbuhan mikroba uji. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi atau komposisi perbandingan volume antifungi maka semakin rendah pertumbuhan isolat anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1). Menurut Pelzcar (1988), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antifungi maka aktivitas antifungi akan semakin tinggi. Adanya aktivitas antifungi dipengaruhi tingginya toksisitas yang dihasilkan oleh bakteri

anggota *Actinomycetes*, dan kecepatan suatu zat yang diabsorpsi anggota spesies *Hortaea werneckii* sehingga pertumbuhannya terhambat.

Persentase antifungi tiap isolat dan kontrol positif menunjukkan terjadi penurunan dan peningkatan berdasarkan waktu inkubasi selama 20 jam, 44 jam, dan 68 jam seperti pada grafik hasil aktivitas antifungi. Adanya penurunan persentase antifungi disebabkan isolat anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) memiliki sensitivitas yang rendah terhadap antifungi yang dihasilkan oleh anggota *Actinomycetes*. Menurut Hussein *et al.* (2011), minimnya sensitivitas jamur terhadap antifungi menunjukkan bahwa jamur tersebut memiliki aktivitas pertumbuhan yang lambat, sehingga metabolit antifungi dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji dengan minimum. Sensitivitas antifungi berdasarkan konsentrasi hambat minimum seperti komposisi perbandingan volume 4:1 dapat menghambat isolat jamur anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1). Antifungi yang dihasilkan bakteri dapat meningkatkan aktivitasnya apabila konsentrasi ditingkatkan dari konsentrasi atau komposisi minimum mikroba uji, sehingga sifat fungistatik dapat berubah menjadi fungisidal. Menurut Ong *et al.* (2018), suatu bakteri dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi bila konsentrasi minimum terjadi pada kadar rendah tetapi mempunyai sifat fungisidal atau fungistatik yang tinggi. Sifat fungisidal atau fungistatik dipengaruhi oleh konsentrasi uji dan waktu kontak pada mikroba uji. Sifat fungisidal yaitu membunuh mikroba uji secara irreversibel, sedangkan sifat fungistatik yaitu menghambat mikroba uji secara reversibel atau sementara. Menurut Mizuhara *et al.* (2011), jika senyawa antifungi yang dihasilkan oleh bakteri tidak maksimal maka fungsi sebagai fungisidal tidak akan bereaksi tetapi dapat bersifat sebagai fungistatik. Perlakuan tidak bersifat fungisidal dikarenakan konsentrasi metabolit yang dihasilkan oleh bakteri tidak optimal.

Waktu inkubasi 44 jam dan 68 jam menunjukkan bahwa metabolit yang dihasilkan isolat bakteri anggota *Actinomycetes* pada perlakuan 1:1 (isolat H2232, H11), 1,33:1 (isolat H24, H2232, S311, S31, H222*1), 2:1 (isolat H12), dan perlakuan 4:1 (isolat H12 dan S21(2)) berinteraksi lebih lama sehingga lebih banyak koloni isolat jamur anggota spesies *Hortaea werneckii* (T1) yang dihambat dibandingkan dengan waktu inkubasi 20 jam, dikarenakan antifungi yang dihasilkan bakteri anggota *Actinomycetes* bersifat fungistatik. Menurut Managamuri (2017), semakin lama kontak

atau waktu inkubasi maka semakin berkurang jumlah organisme mikroba uji karena meningkatnya efektivitas metabolit yang dihasilkan bakteri anggota *Actinomycetes*

Hasil yang diperoleh menunjukkan terdapat pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas antifungi yaitu waktu inkubasi selama 20 jam aktivitasnya lebih tinggi dari waktu inkubasi selama 44 jam dan mengalami kembali peningkatan aktivitas antifungi pada waktu inkubasi selama 68 jam. Hal ini disebabkan antifungi yang dihasilkan oleh isolat bakteri anggota *Actinomycetes* hanya dapat menghambat pertumbuhan *Hortaea werneckii* (T1) yang bersifat fungistatik berdasarkan komposisi perbandingan volume minimum dan maksimum. Keberadaan zat fungistatik pada isolat bakteri anggota *Actinomycetes* tidak langsung membunuh sel, sehingga sel jamur tidak sensitif dan dapat tumbuh kembali akibat berkurangnya zat fungistatik. Menurut Ningsih *et al.* (2017), aktivitas antifungi menurun dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif antifungi, sebab semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antimikroba maka aktivitas mikrobanya semakin besar. Menurut Dewi (2009), pengujian aktivitas antifungi tergantung pada kandungan komponen kimia yang berfungsi sebagai antifungi yang terdapat dalam ekstrak tersebut.

Hasil yang diperoleh menunjukkan terdapat pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas antifungi yang berbanding terbalik seperti pada waktu inkubasi 20 jam aktivitasnya lebih tinggi dari 44 jam dan 68 jam. Hal ini disebabkan bakteri tersebut bersifat fungisidal yang langsung mengalami kontak dengan sel fungi. Menurut Han *et al.* (2018), durasi kontak antifungi juga dipengaruhi oleh afinitas antifungi pada membran mikroba untuk mengikat asam nukleat mikroba uji. Ketika mengalami fase kematian yakni membran tidak utuh tetapi penetrasi dapat merusak organel sel. Adanya antifungi dapat menimbulkan abnormalitas morfologi jamur dan menghambat pertumbuhan miselium. Perubahan tersebut karena adanya dinding sel jamur yang dapat memproteksi senyawa atau metabolit yang bersifat toksik, sehingga akan menekan tekanan osmotik dinding sel jamur.

Hasil uji beda nyata berdasarkan analisa RAL faktorial isolat bakteri *Thermoactinomyces* sp. (H21), *Thermoactinomyces* sp. (H24), *Thermobifida* sp. (S311), *Streptomyces* sp. (S211), *Actinomadura* sp. (S21(2)), dan *Nocardiopsis* sp. (H22*1) memiliki senyawa antifungi yang berbeda

untuk menghambat pertumbuhan jamur. Menurut Arenz & Wilson (2016), bakteri anggota genus *Thermoactinomyces* menghasilkan senyawa antibiotik berupa senyawa aromatik yaitu *anthracenopyranone* dari struktur antibiotik *thermorubin*. Senyawa ini berfungsi untuk menghambat aktivitas *aldose reduktase* jamur sehingga dapat mengikat ribosom. Interaksi metabolit dengan ribosom akan terjadi pemisahan sub unit. Hal ini akan mengikat dan menghambat t-RNA selama proses elongasi pada translasi. Menurut Teta *et al.* (2017), bakteri anggota spesies *Thermoactinomyces* sp. juga menghasilkan senyawa antibiotik berupa senyawa aromatik yaitu *Cyclic Hexapeptides thermoactinoamide* A-F yang berfungsi menghambat mikroba lipofilik. Shivilata & Satyanarayana (2015) menyatakan bahwa mikroba lipofilik merupakan mikroba yang dapat berkembang biak dalam lipid. Bakteri anggota spesies *Thermobifida alba* dapat menghasilkan senyawa topostatin dan isoaurostatin yang berfungsi sebagai antimikroba. Senyawa ini bersifat inhibitor terhadap DNA topoisomerase dan mengganggu sel saat proses replikasi, transkripsi, dan translasi.

Bakteri anggota *Streptomyces* sp. menghasilkan senyawa *polyoxins* dan *nikkomycins* yang dapat menghambat sintesis kitin. Senyawa ini efektif dan spesifik menghambat kinerja enzim kitinase. Polimer kitin disintesis oleh membrane plasma dan berasosiasi dengan protein yang menerima substrat dari sitosol dan menekan polimer kitin di dinding sel (Aderiyee *et al.*, 2015).

Senyawa antifungi yang dihasilkan oleh bakteri anggota genus *Actinomadura* adalah *polycyclic tetrahydroxanthone* berupa senyawa aromatik sebagai toksin untuk menghambat aktivitas *Curvularia lunata*, *Alternaria brassicicola*, dan *Colletotrichum capsici* (Bunyapaiboonsri *et al.*, 2017). *Actinomadura* menghasilkan metabolit sekunder berupa antifungi yaitu *pradimicins* A-C. Senyawa lain yang dihasilkan yaitu *adxanthromicin*, *azanthromicin*, *oxanthromicin*, dan *adxanthromicin* (Bunbamrunge *et al.*, 2018).

Bakteri anggota genus *Nocardiopsis* memiliki senyawa antifungi seperti *p-terphenyl* dan *novobiocin*. Senyawa ini berperan sebagai antifungi terhadap anggota genus *Fusarium* dan *Candida albicans*. Senyawa *p-terphenyl* merupakan senyawa hidrokarbon aromatik yang terdiri tiga cincin *phenil*. Senyawa ini dapat mengikat ATP dan mendegradasi protein (Tian *et al.*, 2013). *Nocardiopsis* menghasilkan senyawa antifungi,

antibakteri, antibiofilm seperti phenazine yang terdiri dari ikatan *2-amino-2-deoxyisochorismate synthase*. Senyawa ini dapat mengubah struktur sel miselium jamur patogen (Sabu *et al.*, 2017). Senyawa *Fluvirucin* merupakan senyawa antimikroba terhadap patogen. Senyawa ini akan menghambat *phosphatidylinositol* spesifik fosfolipase pada jamur (Leutou *et al.*, 2018).

DAFTAR PUSTAKA

- Aderiye, BI & Oluwole, OA, 2015, 'Antifungal Agents That Target Fungal Cell Wall Components: A Review', *Agricultural and Biological Sciences Journal*, Vol.1, No.5, hal. 206-216
- Anggarini, R, Sukanto, DH, Astari, L & Endraswari, DP, 2015, 'Uji Kepekaan Griseofulvin, Ketokonazol, Itrakonazol, dan Terbinafin terhadap Spesies Dermatofit dengan Metode Mikrodilusi', *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, Vol.27, No.1, hal. 55-62
- Arenz, S & Wilson, DN, 2016, 'Blast from the Past: Reassessing Forgotten Translation Inhibitors, Antibiotic Selectivity, and Resistance Mechanisms to Aid Drug Development', *Molecular Cell*, Vol.61, No.1, hal. 1-12
- Bonifaz, A, Badali, H, de-Hoog, SG, 2008, 'Tinea Nigra by *Hortaea werneckii*, a Report of 22 Cases From Mexico', *Stud Mycol*, Vol.61, No.7, hal.77-82
- Brooks, Geo, F, Janet, BS, Stephen, AM, Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2005, *Medical Microbiology*, Penerbit EGC, Jakarta.
- Bunyapaiboonsri, T, Yoiprommarat, S, Suriyachadkun, C, Supothina, S, Chanthaket, R, Chutrakul, C & Vichai, V, 2017, 'Actinomadura, a polycyclic tetrahydroxanthone from *Actinomadura* sp. BCC 35430', *Tetrahedron Letters*, Vol.58, No.1, hal. 3223-3225
- Chaudhary, SH, Yadav, J, Shrivastava, RA, Singh, H, Singh, KA & Gopalan, N, 2013, 'Antibacterial Activity of Actinomycetes Isolated from Different Soil Samples of Sheopur (a City of Central India)', *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, Vol.4, No.2, hal. 118-123
- Dewi, RC, 2009, Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Han, Y, Zhao, J, Zhang, B, Shen, Q, Shang, Q & Li, P, 2018, 'Effect of a Novel Antifungal Peptide P852 on Cell Morphology and Membrane Permeability of *Fusarium oxysporum*', *BBA-Biomembranes*, hal. 1-24, Doi:org/10.1016/j.bbamem.2018.10.018
- Herdastyuti, N, Raharjo, JT, Mudasar & Matsjeh, S, 2009, 'Kitinase dan Mikroorganisme Kitinolitik: Isolasi, Karakterisasi dan Manfaatnya', *Indo. J. Chem*, Vol.9, No.1, hal.37-47
- Hussein, AMS, Shedeed, NA, Abdel-Kalek, HH & El-Din, HAS, 2011, 'Antioxidative, Antibacterial and Antifungal Activities of Tea Infusions from Berry Leaves, Carob and Doum', *Pol. J. Food Nutr. Sci*, Vol.61, No.3, hal. 201-209.
- Kurapova, AJ, Zenova, GM, Sudnitsyn, II, Kizilova, AK, Manucharova, NA, Norovsuren, Z & Zvyagintsev, DG, 2012, 'Thermotolerant and Thermophilic Actinomycetes from Soils of Mongolia Desert Steppe Zone', *MICROBIOLOGY*, Vol. 81, No.1, hal. 98-108
- Limaye, L, Patil, R, Ranadive, P & Kamath, G, 2017, 'Application of Potent Actinomycete Strains for Bio-Degradation of Domestic Agro-Waste by Composting and Treatment of Pulp-Paper Mill Effluent', *Advances in Microbiology*, Vol.7, No.1, hal. 94-108
- Managamuri, U, Vijayalakshmi, M, Poda, S, Ganduri, VKRS & Rajulapati, BS, 2017 'Optimization of Operating Conditions for the Production of Enhanced Antifungal Metabolites from *Streptomonospora arabica* VSM 25 by Full Factorial Design', *J Young Pharm*, Vol.9, No.3, hal.399-409
- Mizuhara, N, Kuroda, M, Ogita, A, Tanaka, T, Usuki, Y & Fujita, K, 2011, 'Antifungal Thiopeptide Cyclothiazomycin B1 Exhibits Growth Inhibition Accompanying Morphological Changes Via Binding to Fungal Cell Wall Chitin', *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol.19, No.1
- Najmuddin, M, Khan, T, Mohsin, A.A, Shellar, S & Patel, V, 2010, Enhancement of Dissolution Rate of Ketoconazole by Solid Dispersion Technique. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol.2, No.3, hal. 132-136.
- Ningsih, DR, Zufahair & Mantari, D, 2017, 'Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya', *Jurnal Kimia Riset*, Vol2, No.1, hal.61-68
- Ong, Cw, Chan, YS, Khoo, KS, Ong, HC & Sit, NW, 2018, 'Antifungal and Cytotoxic Activities Of Extracts Obtained From Underutilised Edible Tropical Fruits', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol.1, No.6, hal. 313-319
- Pelzcar, MJ & Chan, ECS, 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia, Jakarta

- Piliouras, P, Allison, S, Rosendahl, C, Buettner, GP & Weedon, D, 2011, 'Dermoscopy Improves Diagnosis of Tinea Nigra: A Study Of 50 Cases', *Australian Journal of Dermatology*, Vol.52, No.1, Hal.19-194
- Rezusta, A, Gilaberte, Betran, A, Gene, J, Querol, I, Arias, M & Revillo, JM, 2010, 'Tinea nigra: a Rare Imported Infection', *JEADV*, Vol.24, No.1, hal. 89-91
- Sabu, R, Soumya, KR & Radhakrishnan, EK, 2017, 'Endophytic *Nocardiopsis* sp. from *Zingiber officinale* with Both Antiphytopathogenic Mechanisms and Antibiofilm Activity Against Clinical Isolates, 3 *Biotech*, Vol.7, No.115, Hal.1-13
- Shivlata, L & Satyanarayana, T, 2015, 'Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: Biology and Potential Applications', *Frontiers in Microbiology*, Vol.6, No. 1014 Singh, LS, Sharma, H, Talukdar, NC, 2014, Production of Potent Antimicrobial Agent by Actinomycete, *Streptomyces sannanensis* strain SU118 Isolated From Phoomdi in Loktak Lake of Manipur, India, *BMC Microbiology*, Vol.14, No.278, hal.1-13., hal.1-29
- Sujarweni, WV, 2012, *SPSS untuk Paramedis*, Gava Media, Yogyakarta.
- Teta, R, Marteinsson, VT, Longeon, A, Klonowski, AM, Groben, R, Bourguet-Kondracki, M, Costantino, V & Mangoni, A, 2017, 'Thermoactinoamide A, an Antibiotic Lipophilic Cyclopeptide from the Icelandic Thermophilic Bacterium *Thermoactinomyces vulgaris*', *Journal of Natural Products*, Vol.1, No.80, Hal.2530-2535
- Tian, S, Pu, X, Luo, G, Zhao, L, Xu, L, Li, W & Luo, Y, 2013, 'Isolation and Characterization of New p-Terphenyls with Antifungal, Antibacterial, and Antioxidant Activities from Halophilic Actinomycete *Nocardiopsis gilva* YIM 90087', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.61, No.1, hal. 3006-3012