



# Pengaruh Optimasi Waktu Fermentasi dan Kontrol pH pada Aktivitas Antimikroba *Actinomycetes* terhadap *Salmonella typhi*

(Effect of optimization of fermentation time and pH control on antimicrobial activity of *Actinomycetes* against *Salmonella typhi*)

**Anisa Sri Mulyani\***, Meiskha Bahar, Taufiq Fredrik Pasiak, & Cut Fauziah

Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta selatan, Indonesia

**ABSTRACT:** *Actinomycetes* are Gram positive bacteria, long rod-shaped, and can be used as antimicrobials because they can produce secondary metabolite compounds. Factors affecting the production of such compounds are fermentation time and pH. *Salmonella typhi* is a pathogenic bacterium that causes typhoid fever. This study aims to determine the duration of optimization of fermentation of *Actinomycetes* isolates with pH control on the growth of *Salmonella typhi* bacteria in *Vitro*. The types and research designs used are *true experimental* studies and Complete Randomized Design (RAL). *Starch Casein Agar* (SCA) media was used to culture *Actinomycetes* isolates and then fermented on media containing mannitol 2%, peptone 2%, and glucose 1% and incubated for 1, 2 and 3 days. The antimicrobial activity test method uses the well method on *Nutrient Agar* (NA) media. *Actinomycetes* bacteria with fermentation duration of 1, 2 and 3 days accompanied by pH control were able to inhibit the growth of *Salmonella typhi* bacteria with an average inhibitory zone formed of 13.70 mm; 15.41 mm and 15.09 mm. *Wallis's Kruskal* test showed significant differences in inhibitory zones in each treatment group. The 2nd day fermentation group had the greatest antimicrobial effectiveness with an average inhibition zone value of 15.41 mm.

**Keywords:** *Actinomycetes*; antimicrobial; fermentation time; pH control; *Salmonella typhi*.

**ABSTRAK:** *Actinomycetes* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang panjang, dan dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba karena dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder. Faktor yang mempengaruhi produksi senyawa tersebut adalah waktu fermentasi dan pH. *Salmonella typhi* merupakan bakteri patogen yang menimbulkan penyakit demam tifoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama optimasi fermentasi isolat *Actinomycetes* dengan kontrol pH terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in Vitro*. Jenis dan desain penelitian yang digunakan adalah studi *true experimental* dan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Media *Starch Casein Agar* (SCA) digunakan untuk membiakkan Isolat *Actinomycetes* lalu melakukan fermentasi pada media yang mengandung mannitol 2%, pepton 2%, dan glukosa 1% serta diinkubasi selama 1, 2 dan 3 hari. Metode uji aktivitas antimikroba menggunakan metode sumuran pada media *Nutrient Agar* (NA). Bakteri *Actinomycetes* dengan lama fermentasi 1, 2 dan 3 hari disertai dengan kontrol pH mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 13,70 mm; 15,41 mm dan 15,09 mm. Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap zona hambat pada tiap kelompok perlakuan. Kelompok fermentasi hari ke-2 memiliki efektivitas antimikroba terbesar dengan nilai rata-rata zona hambat sebesar 15,41 mm.

**Kata kunci:** *Actinomycetes*; antimikroba; kontrol pH; waktu fermentasi; *Salmonella typhi*.

## Pendahuluan

*Salmonella typhi* merupakan bakteri golongan enterobacteriaceae yang bersifat Gram negatif dengan bentuk seperti batang, tidak memiliki spora dan memiliki alat gerak berupa flagela peritrikh sehingga bakteri ini bersifat motil [1]. *Salmonella typhi* dapat tumbuh pada keadaan lingkungan yang bersifat aerob maupun fakultatif anaerob [2]. Selain itu, bakteri ini memiliki ciri khas yaitu dapat melakukan fermentasi glukosa dan manosa tanpa menghasilkan gas namun tidak dapat melakukan

fermentasi terhadap laktosa dan sukrosa [3]. *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang bersifat patogen sehingga dapat menginfeksi manusia dan menimbulkan penyakit, salah satunya yaitu demam enterik atau demam tifoid [5,6].

Bakteri ini biasanya ditemukan pada air ataupun makanan yang terkontaminasi [6]. Penyakit ini biasanya sering terjadi di negara berkembang seperti Amerika, Asia Tenggara, Afrika, dan Pasifik Barat. Menurut

### Article history

Received: 16 Jan 2023  
Accepted: 13 April 2023  
Published: 30 April 2023

### Access this article



\*Corresponding Author: Anisa Sri Mulyani

Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran"

Kota Jakarta Selatan, Daerah Khusus Ibukota Jakarta, 1245 | Email: [anisasrimlyn46@gmail.com](mailto:anisasrimlyn46@gmail.com)

World Health Organization (WHO), Insidensi demam tifoid yang terjadi dapat menimbulkan peningkatan morbiditas secara global yaitu sebesar 11-20 juta kasus/tahun dan mortalitas sebesar 128.000-161.000 kasus/tahun. Gejala yang biasanya ditemukan berupa lelah atau *fatigue*, sakit kepala, demam, sakit perut, mual dan konstipasi ataupun diare [7]. Adapun pengobatan untuk mengeradikasi bakteri penyebab dari penyakit ini biasanya dengan memberikan obat berupa antibiotik. Antibiotik yang digunakan adalah *Chloramphenicol*, *Ampicilin*, *Cotrimoxazole*, *Cephalosporin* dan *Fluoroquinolon* [6]. Masalah di bidang kesehatan yang dapat menghambat dan mempersulit proses terapi salah satunya dikarenakan adanya peningkatan insidensi resistensi bakteri terhadap antibiotik. Oleh karena itu, untuk menghindari kejadian resistensi bakteri maka diperlukan pengobatan alternatif lain sebagai antimikroba, salah satunya dengan pemanfaatan metabolit sekunder yang dapat diproduksi oleh bakteri Gram positif *Actinomyces* seperti : staurosporin, diastaphenazine, 3-acetonylidene-7-prenylindolin-2-1 dan antimycin

*Actinomyces* merupakan bakteri yang bersifat Gram positif dan dapat hidup pada lingkungan tanpa oksigen disebut dengan fakultatif anaerob serta dapat membentuk anyaman filamen halus atau hifa yang menyerupai jamur [8]. Selain itu, bakteri *Actinomyces* juga dapat hidup secara aerob [9]. Bakteri *Actinomyces* berbentuk batang yang tersusun tunggal atau berkelompok [10].

*Actinomyces* memiliki habitat hidup di tanah maupun laut [11]. Habitat yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Actinomyces* yaitu suhu dan pH. Suhu optimal tumbuh bakteri ini adalah sebesar 20°C-42°C [12]. Sedangkan pH optimal tumbuh pada rentang antara 5-7 [13]. Adapun menurut penelitian terkait *Actinomyces* mengatakan bahwa bakteri ini juga dapat hidup dengan baik di daerah dengan kadar pH 6,5-8,0 [14]. Selain itu, lingkungan dengan pH antara 6-8 juga mampu memberikan tempat yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Actinomyces* [15]. pH dan suhu merupakan parameter penting yang dapat merangsang bakteri *Actinomyces* untuk memproduksi suatu senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba yaitu senyawa metabolit sekunder [16].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya mengatakan bahwa aktivitas antibakteri terbesar yang berasal dari fermentasi isolat *Actinomyces* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dihasilkan pada kelompok fermentasi hari ke-8 [17]. Selain itu, berdasarkan hasil penelitian terkait sampel Isolat *Actinomyces* mengatakan bahwa isolat *Actinomyces* memiliki potensi antimikroba yang bermakna terhadap

*Salmonella typhi* [18]. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri *Actinomyces* menimbulkan efek antimikroba yang berasal dari metabolit sekunder yang dihasilkannya melalui proses fermentasi. Mekanisme aktivitas antimikroba meliputi menghambat sintesis protein, menghambat sintesis dinding sel maupun menghambat sintesis DNA bakteri.

Proses fermentasi dapat menstimulasi bakteri untuk memproduksi suatu zat yang digunakan sebagai antimikroba yaitu zat metabolit sekunder [19]. Proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, waktu lama fermentasi, pH maupun media [20]. Namun, lama waktu fermentasi dan pengaturan pH merupakan parameter penting yang harus dioptimasi dan dikontrol untuk mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme. Kedua parameter ini dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh isolat *Actinomyces*. Penelitian yang membahas tentang kerja metabolit sekunder yang berasal dari isolat *Actinomyces* sebagai antimikroba telah banyak dilakukan, akan tetapi penelitian tentang efektivitas kerja zat metabolit sekunder yang dipengaruhi oleh optimasi waktu fermentasi dan kontrol pH optimal hidup bakteri terhadap *Salmonella typhi* belum dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama optimasi fermentasi dengan kontrol pH isolat *Actinomyces* terhadap aktivitas pertumbuhan dari bakteri *S. typhi*.

## Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental sejati (*true experimental*). Adapun desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta. Sampel yang digunakan merupakan sampel yang telah berhasil diisolasi oleh peneliti sebelumnya yaitu isolat *Actinomyces* dari tanah Kebun Raya Bogor (KRB). Identifikasi dilakukan dengan menggunakan metode mikroskopik dari pewarnaan Gram dan Uji Biokimia menggunakan media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dan media Simmon Citrate Agar (SCA). Sampel penelitian dibuat menjadi lima kelompok perlakuan yaitu isolat *Actinomyces* dengan optimasi lama fermentasi 1,2 dan 3 hari disertai kontrol pH sebelum dan sesudah fermentasi dan kontrol positif serta negatif. Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Frederer terdapat 5 kali pengulangan pada tiap kelompok perlakuan.

### Alat

Mikroskop (Olympus® CH20, India), autoklaf (All American®, USA), *incubator* (Memmert®, Jerman), tabung reaksi (Pyrex®, Indonesia), rak tabung reaksi, pipet, cawan petri, pembakar Bunsen, korek api, *Vortex Mixer* (Labnet®), jangka sorong Digital (Taffware®, Indonesia), tabung Erlenmeyer (Pyrex®, Indonesia), Gelas beker (Pyrex®, Indonesia), ose steril, spatula, timbangan (*Triple Beam Balance*®, China), bak pewarna (Lab-AID®, Indonesia), pH meter (*Hanna Instrument*®, Indonesia) dan *shaker* (Stuart®, United Kingdom).

### Bahan

Sampel isolat bakteri *Actinomycetes*, sampel bakteri *Salmonella typhi*, media selektif *Salmonella-Shigella Agar* (SSA), media selektif *Strach Casein Agar* (SCA), media *Nutrient Agar* (NA) dan media cair fermentasi yang mengandung glukosa 1%, *mannitol* 2% dan pepton 2%, larutan untuk kontrol negatif yaitu larutan akuades dan bahan untuk kontrol positif yaitu obat antibiotik kloramfenikol 250 mg, *gentian violet*, Lugol, Alkohol 96%, Safranin, dan NaCl 0,9%.

### Sterilisasi Alat

Peralatan yang akan digunakan melalui pencucian dengan sabun dan air mengalir lalu dikeringkan. Alat-alat yang sudah dicuci disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Setelah itu, alat-alat tersebut dibiarkan hingga mencapai suhu kamar dan alat siap digunakan.

### Pembuatan Media Cair

Media cair yang digunakan untuk membiakkan bakteri *Actinomycetes* dengan proses fermentasi mengandung glukosa 1%, *mannitol* 2% dan pepton 2%. Proses pembuatan media ini yaitu dengan mempersiapkan tabung Erlenmeyer sebagai wadah dari media cair. Setelah itu melakukan penimbangan berat dari bahan yang akan digunakan seperti glukosa yang dibutuhkan adalah sebanyak 7 g, *manitol* yang dibutuhkan adalah sebanyak 14 g dan pepton yang dibutuhkan adalah sebanyak 14 g. Setelah didapatkan banyaknya bahan yang dibutuhkan maka selanjutnya yaitu mencampurkan bahan tersebut dan melarutkannya ke dalam larutan akuades sebanyak 700 ml. Larutan media kemudian dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Larutan media siap digunakan untuk fermentasi *Actinomycetes*.

### Fermentasi *Actinomycetes* dengan Kontrol pH

Isolat *Actinomycetes* di fermentasi menggunakan media

cairan yang mengandung glukosa 1%, *mannitol* 2% dan pepton 2%. Proses fermentasi isolat *Actinomycetes* dilakukan selama 1, 2 dan 3 hari dengan menggunakan *shaker* berkecepatan 50 rpm. Kontrol pH dilakukan pada sebelum dan setelah fermentasi. Hasil fermentasi kemudian dituang ke dalam sumuran pada media *Nutrient Agar* (NA) untuk uji aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.

### Pembuatan Media

#### Pembuatan Media dan Suspensi Bakteri *Salmonella typhi*

Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) dengan berat sebesar 13,5 gr lalu dilarutkan ke dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 150 mL. Selanjutnya, diaduk hingga tercampur sambil dipanaskan hingga mendidih. Lalu disterilisasi dengan autoklaf bertekanan 15 Psi dan suhu sebesar 121°C selama 20 menit. Hasilnya dimasukkan ke dalam cawan petri. Pembuatan suspensi dilakukan dengan mengambil biakan dari media SSA dengan menggunakan jarum ose bulat yang steril dan dimasukkan ke dalam suatu tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 10 mL, setelah itu dibandingkan kekeruhannya dengan standar McFarland yaitu 0,5. Berdasarkan standar McFarland, konsentrasi bakteri yang didapatkan sebanyak 10<sup>8</sup> CFU/mL.

#### Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media yang pertama kali dilakukan adalah dengan mengukur berat media sebesar 38 gram lalu dilarutkan ke dalam larutan akuades sebanyak 1 L. Selanjutnya, diaduk hingga tercampur dan homogen sambil dipanaskan hingga mendidih. Lalu disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Hasilnya dimasukkan ke dalam cawan petri hingga memadat. Media ini akan digunakan sebagai lapisan dasar dalam proses uji kerja antimikroba.

#### Uji Aktivitas Antimikroba

Pada penelitian ini dilakukan suatu proses untuk menguji kerja antimikroba terhadap sampel uji yaitu *Salmonella typhi* dengan menggunakan metode difusi sumuran. Biakan yang didapatkan dari hasil kultur bakteri pada media SSA, selanjutnya akan disiapkan media NA pada cawan petri yang telah dibuat garis untuk membagi daerah perlakuan sebanyak 3 kuadran. Daerah pembagian tersebut selanjutnya akan dibuat sebuah lubang yang memiliki diameter sebesar 6 mm. Setelah itu, hasil fermentasi bakteri *Actinomycetes* akan dimasukkan ke dalam sumuran lubang cawan yang telah dibuat dengan

menggunakan mikropipet. Setelah itu, biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan selanjutnya aktivitas antimikroba ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening yang merupakan zona hambat pada daerah sekitar sumuran.

### Analisis Data

Data zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan optimasi waktu fermentasi *Actinomyces* dianalisis untuk menentukan besarnya aktivitas antimikroba *Actinomyces terhadap pertumbuhan Salmonella typhi*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini berjumlah kurang dari 50 sehingga untuk mengetahui data yang berdistribusi normal atau tidak berdistribusi normal dapat menggunakan uji yang dinamakan uji *Saphiro-Wilk*. Jika nilai signifikansi menunjukkan  $P \text{ value} > 0,05$  maka bisa disimpulkan bahwa data tersebut merupakan data yang dengan distribusi yang bersifat normal. Setelah itu, dilakukan suatu uji untuk melihat varians data yang didapatkan apakah bersifat homogen atau tidak dengan uji homogenitas data berupa tes *Levene*. apabila nilai  $P \text{ value} > 0,05$  maka dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa kelompok data yang didapatkan mengandung suatu varians data yang bersifat homogen.

Metode *One Way ANOVA* merupakan uji analisis komparatif dan membandingkan rata-rata dari diameter zona hambat yang terbentuk. Metode ini dapat dilakukan apabila data terdistribusi normal, tidak berpasangan dengan

variens data yang bersifat homogen. Uji *Post Hoc* merupakan suatu uji yang akan dilakukan untuk mengetahui secara detail kelompok perlakuan yang berbeda secara signifikan setelah mendapatkan hasil analisis data berupa antara tiap kelompok terdapat perbedaan aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebagai antimikroba dengan menggunakan metode *One Way ANOVA*. Data penelitian memenuhi syarat uji *One Way ANOVA*.

## Hasil dan Diskusi

Bakteri *Actinomyces* berhasil dibiakkan pada media *Starch Casein Agar (SCA)* dan selanjutnya akan dilakukan proses identifikasi bakteri secara makroskopik maupun mikroskopik. [Gambar 1](#) menunjukkan hasil identifikasi makroskopik pada bakteri *Actinomyces* yang berhasil dibiakkan pada media SCA berupa adanya koloni bakteri yang berwarna putih, sedikit cembung dengan permukaan tepi yang tidak merata dan berbentuk seperti serbuk tepung. Hal tersebut sesuai dengan karakteristik dari bakteri *Actinomyces*. Selain itu, [Gambar 2](#) menunjukkan hasil dari identifikasi bakteri secara mikroskopik yang dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri berbentuk batang halus berukuran panjang yang membentuk sebuah filamen dengan susunan tunggal atau berkelompok, bersifat Gram positif dan berwarna ungu.



**Gambar 1.** Hasil Identifikasi makroskopik *Actinomyces* pada media *Starch Casein Agar (SCA)*



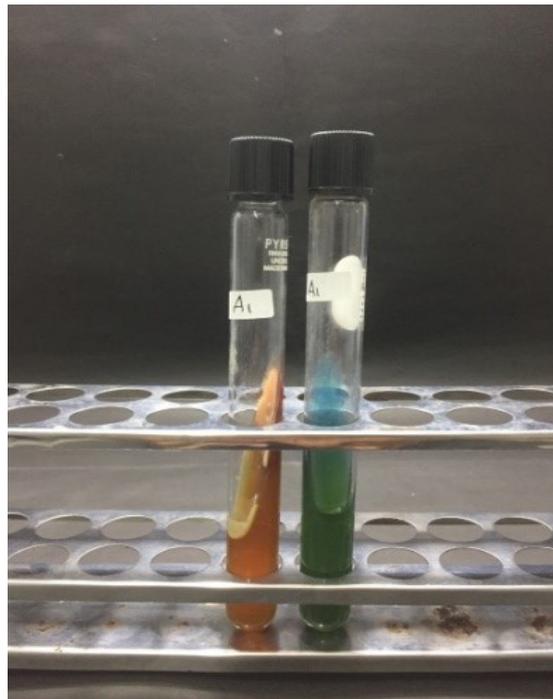
**Gambar 2.** Hasil identifikasi mikroskopik *Actinomycetes* pada pewarnaan gram

Pada penelitian ini dilakukan juga uji biokimia dengan menggunakan suatu media berupa *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dan berdasarkan [gambar 3](#) menunjukkan hasil dengan nilai positif yang berarti bakteri *Actinomycetes* dapat menghasilkan gas, sedangkan uji biokimia pada media *Simmon Citrate Agar* (SCA) menunjukkan hasil bahwa bakteri *Actinomycetes* dapat melakukan fermentasi sitrat dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dan energi dengan adanya perubahan warna pada media dari hijau menjadi biru.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan pada media sumuran yaitu media *Nutrient Agar* (NA). Berdasarkan [gambar 4](#) menunjukkan hasil berupa adanya pembentukan zona hambat pada media uji aktivitas antimikroba. Diameter zona hambat diukur dengan jangka sorong digital. [Tabel 1](#) menunjukkan bahwa adanya pembentukan zona hambat pada setiap kelompok perlakuan fermentasi isolat *Actinomycetes* hari ke-1, ke-2 dan ke-3. Dapat ditarik kesimpulan bahwa isolat *Actinomycetes* mampu menghambat aktivitas tumbuh dari bakteri *Salmonella typhi* pada sumuran media. Zona hambat yang terbentuk pada kelompok perlakuan fermentasi isolat *Actinomycetes* hari ke-1, ke-2 dan ke-3 memiliki nilai rata-rata yang bervariasi. Zona hambat terbesar pada tiap kelompok fermentasi isolat *Actinomycetes* ditunjukkan pada hasil fermentasi hari ke-2 dengan nilai rata-rata zona hambat sebesar 15,41 mm. Hasil tersebut lebih besar daripada kelompok waktu

fermentasi hari ke-1 dan hari ke-3 dengan nilai rata-rata zona hambat yang terbentuk sebesar 13,70 mm dan 15,09 mm secara berurutan. Kelompok kontrol negatif dengan larutan akuades menunjukkan hasil yaitu tidak terdapat pembentukan zona hambat pada sumuran, yang berarti akuades tidak mampu menghambat pertumbuhan dari *Salmonella typhi*. Sedangkan pada kelompok perlakuan kontrol positif dengan menggunakan antibiotik kloramfenikol 250 mg, menunjukkan hasil yaitu adanya pembentukan zona hambat yang paling besar pada sumuran dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain dengan nilai rata-rata yang terukur sebesar 31,55 mm.

Selanjutnya data yang telah didapatkan pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan aplikasi *software* yaitu SPSS. Uji normalitas data untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal dapat menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel penelitian ini kurang dari 50. Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* pada [tabel 2](#) menunjukkan hasil bahwa data dari setiap kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi sebesar  $P > 0,05$  yang berarti bahwa data tersebut berdistribusi normal dan memenuhi syarat uji *One Way* ANOVA. Kelompok perlakuan kontrol negatif tidak dilakukan uji normalitas data karena menghasilkan data dengan ukuran zona hambat yang konstan yaitu bernilai nol. Selain syarat distribusi normal yang harus dipenuhi, terdapat syarat lain untuk dapat melakukan uji *One Way* ANOVA yaitu data



**Gambar 3.** Hasil uji biokimia bakteri *Actinomyces* pada media TSIA dan SCA

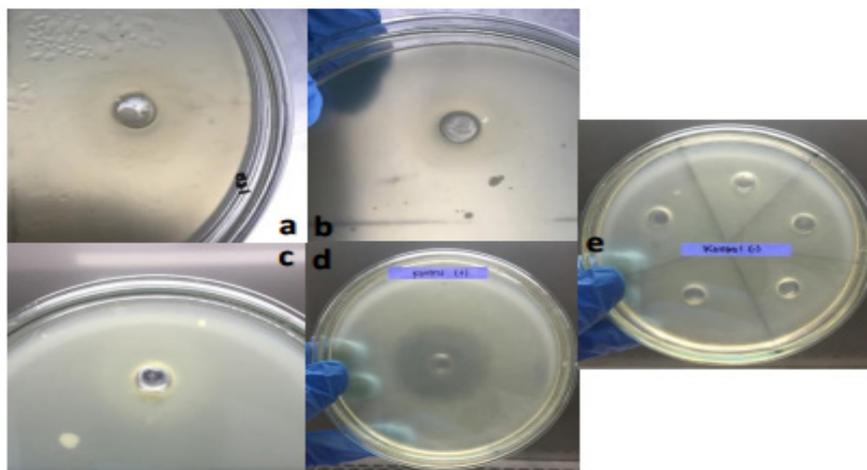
**Keterangan:**

Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA) positif dan Uji Simmon Citrate Agar (SCA) positif

harus memiliki varians yang bersifat homogen. Uji tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan *Levene's test*.

Berdasarkan hasil data pada [Tabel 3](#) uji *Post Hoc Tamhane's* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan kelompok perlakuan fermentasi isolat *Actinomyces* pada hari ke-1, hari ke-2 dan hari ke-3 serta kontrol negatif. Kesimpulan

tersebut ditunjukkan dari hasil data signifikansi  $P < 0,05$  yaitu sebesar 0,000 dan 0,001. Pada kelompok perlakuan kontrol negatif menunjukkan hasil data signifikansi  $P < 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol negatif dengan kelompok perlakuan fermentasi hari ke-1, hari ke-2 dan hari ke-3. Pada data kelompok perlakuan fermentasi hari ke-1, hari



**Gambar 4.** Zona hambat yang terbentuk oleh fermentasi isolat *Actinomyces* pada media nutrient agar (NA)

**Keterangan:**

- a) Fermentasi hari ke-1; 2) Fermentasi hari ke-2; c) Fermentasi hari ke-3;
- d) Kontrol Positif; e) Kontrol Negatif

**Tabel 1.** Diameter zona hambat fermentasi dari isolat *Actinomycetes* pada *Salmonella typhi*

Uji	Ukuran Zona hambat yang terbentuk oleh fermentasi isolat <i>Actinomycetes</i> pada bakteri <i>Salmonella typhi</i> (mm)					
	Waktu Fermentasi			Kontrol		
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	(+)	(-)	
1	15,70	15,59	15,76	31,86	0	
2	12,82	14,57	12,95	30,16	0	
3	16,28	16,24	20,01	32,46	0	
4	13,52	15,28	13,23	31,26	0	
5	10,20	15,41	13,48	32,05	0	
Total	68,52	77,09	75,43	157,79	0	
Rata-rata	13,70	15,41	15,09	31,55	0	

ke-2 dan hari ke-3 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna tiap kelompok dengan hasil signifikansi  $P > 0,05$ .

Berdasarkan beberapa penelitian telah membuktikan bahwa isolat *Actinomycetes* mempunyai aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan dari *Salmonella typhi*. Pada penelitian Aarthi et al., (2020) membuktikan bahwa dari 13 isolat *Actinomycetes* yang berasal dari tanah Hutan Mangrove Pichavaram, terdapat 3 isolat yang memiliki aktivitas antibakterial terhadap *Salmonella typhi* yaitu PMA2, PMA6 dan PMA9 [21]. Pada penelitian Maulana et al., (2022) menunjukkan hasil adanya pembentukan zona hambat yang berasal dari isolat *Actinomycetes* tanah Kebun Raya Bogor terhadap aktivitas tumbuh bakteri *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat sebesar 12,72 mm; 11,84 mm dan 11,78 mm [22]. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Wulandari R.D (2022) membuktikan bahwa isolat *Actinomycetes* yang telah di ambil dari tanah Kebun Raya Bogor pada lama fermentasi hari ke-2 mampu menghambat pertumbuhan dari jamur *Candida albicans* dengan zona hambat sebesar 9,64 mm [23]. Diameter zona hambat yang terbentuk tersebut menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi tidak selalu berbanding lurus

dengan banyaknya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Selain itu juga tidak berbanding lurus dengan jumlah ukuran daya hambat yang terbentuk di sekitaran sumuran.

Bakteri *Actinomycetes* adalah bakteri yang dapat membentuk suatu filamen seperti jamur dan mampu memproduksi miselium [12]. *Actinomycetes* merupakan bakteri yang dapat hidup dengan proses pembelahan yang bersifat kompleks baik di darat maupun lautan dan dapat memproduksi suatu senyawa bioaktif [15]. Senyawa bioaktif tersebut dapat dimanfaatkan pada beberapa bidang seperti industri medis maupun farmasi sebagai bahan antimikroba, antijamur dan antikanker [11]. Bakteri *Actinomycetes* dapat hidup juga pada lingkungan yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti derajat keasaman (pH) dan suhu. *Actinomycetes* hidup optimal dan tumbuh dengan baik pada nilai pH antara 6-8 dengan suhu antara 28-30°C [15]. Suhu menjadi salah satu parameter dalam pertumbuhan bakteri karena dapat mempercepat kerja enzim dan meningkatkan energi kinetik dari suatu reaktan [11]. Proses fermentasi isolat *Actinomycetes* dapat merangsang pembentukan senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibiotik, agen biopestisida,

**Tabel 2.** Uji normalitas data zona hambat

Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Fermentasi Hari Ke-1	.946	5	.708
Fermentasi Hari Ke-2	.972	5	.891
Fermentasi Hari Ke-3	.797	5	.077
Kontrol Positif	.927	5	.574

**Tabel 3.** Uji *Post Hoc* *Tambane's*

Kelompok Perlakuan	Kelompok Perlakuan	Sig.	Keterangan
Fermentasi Hari Ke-1	Fermentasi Hari Ke-2	.884	Tidak terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-3	.997	Tidak terdapat perbedaan
	Kontrol Positif	.000	Terdapat perbedaan
	Kontrol Negatif	.002	Terdapat perbedaan
Fermentasi Hari Ke-2	Fermentasi Hari Ke-1	.884	Tidak terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-3	1.000	Tidak terdapat perbedaan
	Kontrol Positif	.000	Terdapat perbedaan
	Kontrol Negatif	.000	Terdapat perbedaan
Fermentasi Hari Ke-3	Fermentasi Hari Ke-1	.997	Tidak terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-2	1.000	Tidak terdapat perbedaan
	Kontrol Positif	.001	Terdapat perbedaan
	Kontrol Negatif	.003	Terdapat perbedaan
Kontrol Positif	Fermentasi Hari Ke-1	.000	Terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-2	.000	Terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-3	.001	Terdapat perbedaan
	Kontrol Negatif	.000	Terdapat perbedaan
Kontrol Negatif	Fermentasi Hari Ke-1	.002	Terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-2	.000	Terdapat perbedaan
	Fermentasi Hari Ke-3	.003	Terdapat perbedaan
	Kontrol Positif	.000	Terdapat perbedaan

antitumor serta antivirus [24].

Pembentukan senyawa metabolit sekunder yang optimal dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti media pertumbuhan, waktu lama fermentasi, dan mengatur pH. Aktivitas enzimatik dapat meningkatkan pembentukan senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antimikroba dengan dikatalisis oleh faktor pengaturan Ph [25]. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Actinomycetes* yang berperan sebagai antimikroba yaitu *Abyssomicin*, *Actinofuranon AB* dan *Benzanthraquinone*. *Actinomycetes* memproduksi senyawa antimikroba yang mampu menghambat bakteri yang bersifat Gram positif ataupun Gram negatif dengan persentase sebesar 75% [24]. Selain itu, senyawa metabolit lain yang dapat dihasilkan oleh bakteri *Actinomycetes* melalui proses fermentasi yaitu staurosporin, diastaphenazine, 3-acetylindene-7-prenylindolin-2-1 dan antimycin [26]. Mekanisme kerja antimikroba yang berasal dari senyawa metabolit sekunder ini yaitu dapat menghambat sintesis protein bakteri [27]. Selain itu, Genus *Streptomyces* dapat menghasilkan senyawa metabolit yang dapat digunakan sebagai antimikroba

dengan memiliki mekanisme kerja berupa menghambat pembentukan protein bakteri [28].

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta sesuai dengan prosedur yang berlaku dan teori yang berkaitan. Namun, selama proses penelitian masih terdapat beberapa keterbatasan penelitian yaitu peneliti kesulitan dalam mengontrol kondisi suhu lingkungan di laboratorium terhadap bakteri *Actinomycetes* dan *Salmonella typhi*. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka terdapat beberapa saran yang dapat dijadikan sebagai pertimbangan untuk penelitian selanjutnya melakukan penelitian optimasi lama fermentasi selama 14 hari dengan menguji daya hambat terhadap bakteri Gram negatif atau Gram positif yang lainnya dan melakukan uji molekuler pada senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh fermentasi isolat *Actinomycetes*.

## Kesimpulan

Fermentasi isolat *Actinomyces* 1, 2 dan 3 hari yang disertai dengan kontrol pH antara 6-8 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan membentuk zona hambat berwarna bening di sekitaran sumuran dengan nilai rata-rata zona hambat yang terbentuk adalah 13,70 mm; 15,41 mm dan 15,09 mm. Isolat *Actinomyces* dengan lama fermentasi hari ke-2 yang disertai dengan kontrol pH yaitu dengan mempertahankan nilai pH optimal tumbuh bakteri antara 6-8 adalah kelompok perlakuan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* daripada kelompok perlakuan yang lainnya. Hasil nilai signifikansi uji *One Way* ANOVA menunjukkan hasil 0,000, yang berarti nilai  $P < 0,05$ . Hal ini berarti setidaknya terdapat perbedaan rata-rata zona hambat yang bermakna secara signifikan pada dua kelompok perlakuan.

## Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Pimpinan fakultas FK UPNVJ yang telah memberikan kesempatan dan perizinan dalam penggunaan Laboratorium Mikrobiologi.

## Referensi

- Lestari IDAMD, Hendrayana MA. Identifikasi dan Diagnosis Infeksi Bakteri *Salmonella typhi*. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana; 2017.
- Joe M, Wang S, Fayiah JS. Isolation and characterization of *Salmonella typhi* TA98 phage. *Am J Multidiscip Res Dev*. 2022;04(05):18–25.
- Riedel S, Morse SA, Mietzner T, Miller S, Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 28th ed. New York: McGraw Hill Education; 2019. 1–821 p.
- Hudi RI, Ranti I. The Rationality of Antibiotic Use on Patients of Typhoid Fever. *Mutiara Med J Kedokt dan Kesehat*. 2020;20(1):1–5.
- Levani Y, Prastyana AD. Demam Tifoid : Manifestasi Klinis Pilihan Terapi dan Pandangan Dalam Islam. *Al-Iqra Med J J Berk Ilmu Kedokt*. 2020;3(1):10-16.
- Arshad R, Pal K, Sabir F, Rahdar A, Bilal M, Shahnaz G, et al. A review of the nanomaterials use for the diagnosis and therapy of *salmonella typhi*. *J Mol Struct*. 2021;1230(2021):1–14.
- World Health Organization (WHO). Typhoid [Internet]. WHO. 2022. [cited 10 Agustus 2022] Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/typhoid>
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 8th ed. Kanada: Elsevier; 2016. 106–118 p
- Swarna D, Gnanadoss JJ. Screening and Molecular Characterization of *Actinomyces* from Mangrove Soil Producing Industrially Important Enzymes. *J Sci Res*. 2020;64(2):87–95.
- Kurniati DI, Ardiansih P, Nofiani R. Isolasi Dan Aktivitas Antibakteri *Actinomyces* Berasosiasi Dengan Koral. *J Kim Khatulistiwa*. 2019;8(2):46–51.
- Gustiana T, Rozirwan, Ulqodry TZ. *Actinomyces* yang diisolat dari mangrove *Rhizophora apiculata* di perairan Tanjung Api-api, Sumatera Selatan. *J Penelit Sains*. 2021;23(3):140–149.
- Anandan R, Dharumadurai D, Manogaran GP. An Introduction to Actinobacteria. In: *Basics and Biotechnological Applications*. INTECH; 2016. p. 3–37.
- Lestari S, Mukarlina, Kurniatuhandi R. Identifikasi dan Deteksi Aktivitas Daya Hambat Bakteri *Actinomyces* yang diisolasi dari Tanah Gambut di Desa Tajok Kayong Kalimantan Barat. *J Protobiont*. 2019;8(1):13–19.
- Tyas SP. Optimasi Pertumbuhan Isolat *Actinomyces* (Isolat TE 235) dan Uji Aktivitas terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Magelang; 2020.
- Sofariyanti AE, Sasongkowi R, Anggraini AD. Aktivitas antibakteri aktinomisetes di Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya yang antagonis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Anal Kesehat Sains*. 2019;8(2):738–748.
- Alfikri MR. Isolasi, Identifikasi dan Uji Potensi *Actinomyces* dalam Meningkatkan Ketersediaan Hara Fosfat tanah andisol [tesis]. Medan: Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara; 2020.
- Insani AN. Aktivitas Daya Hambat Isolat *Actinomyces* dengan Lama Fermentasi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumonia* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta; 2022.
- Hilwah, Bahar M, Pramono AP. Potential of *Actinomyces* Isolates as Antimicrobials for *Salmonella typhi*. *Indones J Biotechnol Biodivers*. 2021;5(1):1–8.
- Masda NR. Potensi Metabolit Sekunder Isolat *Actinomyces* SM-2 dari Rizosfer *Andrographis paniculata* Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. Universitas Hassanudin; 2018.
- Istiana N, Roza RM, Martina A. Uji Aktivitas Aktinomisetes Lahan Gambut Rimbo Panjang Kampar Riau Sebagai Agen Biokontrol Terhadap *Ganoderma boninense* (Pat.). *J Online Mhs FMIPA*. 2015;2(2):1–8.
- Aarhi M, Kamalanathan D, Balakrishnan V. Isolation of *Actinomyces* from The Sediments of Pichavaram Mangrove Forest, South India and Analysing Their Antibacterial Efficacy. *Asian J Pharm Clin Res*. 2020;13(4):120–125.
- Maulana R, Bahar M, Nugrohowati N. Efektivitas Isolat *Actinomyces* dari Sampel Tanah Kebun Raya Bogor dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *Semin Nas Ris Kedokt*. 2022;3(1):147–155.
- Wulandari RD. Analisa Variasi Lama Fermentasi Isolat *Actinomyces* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta; 2022.
- Selim MSM, Abdelhamid SA, Mohamed SS. Secondary metabolites and biodiversity of *Actinomyces*. *J Genet Eng Biotechnol*. 2021;19(1):1–13.
- Wulandari S, Sulistyani N. Pengaruh Media terhadap Pertumbuhan Isolat *Actinomyces* Kode AL35 serta Optimasi Produksi Metabolit Antibakteri berdasarkan Waktu Fermentasi dan pH. *Media Farm J Ilmu Farm*. 2016;13(2):186–198.
- Behie SW, Bonet B, Zacharia VM, McClung DJ, Traxler MF. Molecules to ecosystems: Actinomycete natural products in situ. *Front Microbiol*. 2017;7(2149):1–11.
- Jannah FM. Uji Aktivitas Isolat *Actinomyces* dari Tanah Sawah Sebagai Penghasil Antibiotik [Naskah Publikasi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2013.
- Tsani Ariandi MZ, Bahar M, Yusmaini H, Zulfa F, Fauziah C, Pramesyanti A. Effectiveness of Metabolite Substance Filtrates of *Actinomyces* isolates from Kebun Raya Bogor against the growth of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi*: In Vitro study. *J Biol Trop*. 2021;21(1):281–7.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)