



ABSTRAK

Penyakit infeksi yang diakibatkan oleh biofilm saat ini menjadi permasalahan yang cukup serius karena pengobatannya yang sulit dan semakin banyaknya obat antimikroba yang dilaporkan mengalami resistensi. Salah satu strategi untuk menemukan bahan obat baru adalah dengan melakukan skrining kandungan senyawa aktif yang tersedia di alam, diantaranya adalah kandungan senyawa aktif dari aktinomisetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan potensi isolat aktinomisetes yang telah dikoleksi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) yang diisolasi dari Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, Jakarta dan Bojong Gede, Bogor, Indonesia sebagai antijamur, antibakteri dan antibiofilm. Uji skrining awal terhadap 16 isolat aktinomisetes sebagai antijamur, antibakteri dan antibiofilm dilakukan dengan metode difusi agar dilanjutkan dengan metode *broth microdilution*. Identifikasi molekuler isolat aktinomisetes dengan menggunakan data dari hasil sekuensing gen 16S rRNA. Uji aktivitas antibiofilm pada monospesies dan dual-spesies menggunakan metode *broth microdilution*. Uji aktivitas anti *quorum sensing* menggunakan metode difusi agar pembentukan pigmen pada bakteri *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472. Fraksinasi, isolasi dan purifikasi senyawa aktif aktinomisetes dengan menggunakan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) semi-preparatif dan skrining kandungan senyawa aktif menggunakan *high-resolution mass spectroscopy* (HRMS) dan *gas chromatography-mass spectroscopy* (GC-MS). Isolat aktinomisetes yang mempunyai aktivitas paling baik yaitu InaCC A758 diidentifikasi mempunyai kemiripan dengan *Streptomyces badius* NRRL B-2567. Ekstrak paling aktif, yaitu ekstrak etil asetat InaCC A758 mempunyai nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) terhadap *C. albicans* ATCC 10231 sebesar 50 µg/mL, MIC terhadap *S. aureus* ATCC 6538 sebesar 6,25 µg/mL, MIC terhadap *S. epidermidis* ATCC 12228 sebesar 12,5 µg/mL, MIC terhadap *B. subtilis* BTCC B 612 sebesar 1,56 µg/mL dan MIC terhadap *E. coli* BTCC B 614 sebesar 3,125 µg/mL. Ekstrak etil asetat InaCC A758 mampu menghambat 80% biofilm *C. albicans* ATCC 10231 dengan nilai *minimum biofilm inhibitory concentration* (MBIC₈₀) sebesar 50 µg/mL dan nilai MBIC₈₀ terhadap *S. aureus* ATCC 6538 sebesar 6,25 µg/mL. Pada konsentrasi 100 µg/mL, ekstrak etil asetat InaCC A758 mampu mereduksi biofilm *C. albicans* ATCC 10231 dan *S. aureus* ATCC 6538 sampai lebih dari 70%. Ekstrak etil asetat InaCC A758 juga mampu menghambat 80% biofilm dual-spesies *C. albicans* dan *S. aureus* dengan nilai MBIC₈₀ sebesar 50 µg/mL dan pada konsentrasi 400 µg/mL, ekstrak etil asetat InaCC A758 mampu mereduksi biofilm dual-spesies sampai 70%. Ekstrak aktinomisetes bekerja menghambat biofilm *C. albicans* ATCC 3153 pada fase adesi. Hasil observasi morfologi sel *C. albicans* ATCC 10231 dan *S. aureus* ATCC 6538 menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM) terlihat kerusakan morfologi pada sel yang diberi ekstrak aktinomisetes. Ekstrak aktinomisetes pada penelitian ini tidak mempunyai aktivitas anti *quorum sensing* terhadap bakteri *C. violaceum* dalam hal pembentukan pigmen ungu. Fraksi hasil pemurnian dari ekstrak etil asetat InaCC A758 yaitu fraksi F7.7 EA mempunyai 7 kandungan senyawa yaitu *Dodecanoic acid 3-hydroxy-*, *1,3,5-Pentanetriol,3-methyl-*, *1,3-Dioxolane-4-methanol,2-ethyl-*, *2-*



Cyclopropylcarbonyloxytridecane, 2-Hepten-1-ol,(E)-, Methyl 6-methyl heptanoate, 11-Octadecenoic acid, methyl ester. Fraksi F7.7 EA mempunyai aktivitas yang sangat baik terhadap *S. aureus* ATCC 6538 dengan nilai MIC sebesar 0,195 µg/mL, lebih baik dari gentamisin (0,39 µg/mL). Fraksi hasil pemurnian dari ekstrak aktinomisetes InaCC A758 mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa antimikroba dan antibiofilm baru dengan mekanisme merusak morfologi sel, menghambat fase adesi jamur dan menghambat pembentukan hifa.

Kata kunci: aktinomisetes, antijamur, antibakteri, antibiofilm, dual-species

ABSTRACT

Recently, the biofilm-related infection has become a serious problem as their difficulty of treatment and increased antimicrobial drug resistance. The screening of secondary metabolites of actinomycetes is one of the strategies to find drug candidates. This study aimed to explore the activities of actinomycetes collected from the Indonesian Institute of Sciences (LIPI) isolated from Pramuka Island, Kepulauan Seribu, Jakarta, and Bojong Gede, Bogor, Indonesia, as new antifungal, antibacterial, and antibiofilm. Primary screening was determined by the agar diffusion method and followed by the broth microdilution method. Anti-quorum sensing activity of actinomycetes extracts using *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 as an indicator of violacein forming. Molecular identification was determined by 16S rRNA gene sequencing. Mono-species and dual-species antibiofilm activities determined by broth microdilution method. The fractionation, isolation, and purification of active compounds used semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC) and screening the compounds used high-resolution mass spectroscopy (HRMS) and gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). The most active actinomycetes isolate i.e. InaCC A758 was identified as *Streptomyces badius* NRRL B-2567. The minimum inhibitory concentration (MIC) value of this extract against *C. albicans* ATCC 10231, *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *B. subtilis* BTCC B 612 and *E. coli* BTCC B 614 were 50 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 1.56 µg/mL, and 3.125 µg/mL, respectively. In mono-species, this extract could inhibit 80% of *C. albicans* and *S. aureus* biofilms with minimum biofilm inhibition concentration (MBIC₈₀) values range 50 µg/mL, and 6.25 µg/mL, respectively. This extract could reduce *C. albicans* and *S. aureus* biofilms by more than 70% at a concentration of 100 µg/mL. In the dual-species, this extract could inhibit 80 % of biofilms with minimum biofilm inhibition concentration (MBIC₈₀) value at a concentration of 50 µg/mL, and reduced 70% of biofilms at 400 µg/mL. This extract especially inhibited biofilms in the adhesion phase. The morphological observations of *C. albicans* ATCC 10231 dan *S. aureus* ATCC 6538 cells using scanning electron microscopy (SEM) showed morphological damage in cells treated with this extract. Actinomycetes extract in this study did not have anti-quorum sensing activity against *C. violaceum* bacteria. The F7.7 EA, isolated from the ethyl acetate extract InaCC A758 contains 7 compounds, i.e. Dodecanoic acid 3-hydroxy-, 1,3,5-Pentanetriol, 3-methyl-, 1,3-Dioxolane-4-methanol, 2-ethyl-, 2-Cyclopropylcarbonyloxytridecane, 2-Hepten-1-ol, (E) -, Methyl 6-methyl heptanoate, 11-Octadecenoic acid, methyl ester. The MIC



value of the F7.7 EA against S. aureus was 0.195 $\mu\text{g/mL}$, better than gentamicin (0.39 $\mu\text{g/mL}$). This compound altered damaging cell membranes, inhibiting the adhesion phase, and inhibiting hyphae formation can be developed as new antimicrobial and antibiofilm agents.

Key words: actinomycetes, antifungal, antibacterial, antibiofilm, dual-species



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Fraksinasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antimikroba dan Antibiofilm dari Aktinomisetes Asli Indonesia

SETIAWATI, Dr. dr. Eti Nurwening Sholikhah, M.Kes., M.Med.Ed; Prof. Dr. Titik Nuryastuti, M.Si., SpMK(K); Prof. Drs

Universitas Gadjah Mada, 2021 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>