

ISOLASI BAKTERI DARI TANAH SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA

Antimikrob Bacteria Isolation from Soils as Producing Antimicrob Compounds

SUKMAWATI, FEBRIANTI ROSALINA

Universitas Muhammadiyah Sorong

Email: sukmawati.sw91@gmail.com

Abstract Antibiotik adalah bahan obat yang sangat memegang peranan penting dalam menanggulangi penyakit infeksi. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, dan mikroba. Senyawa antimikrob yang dihasilkan oleh mikroba memiliki keunggulan dibandingkan dengan antibiotik sintetik karena memiliki sifat yang lebih efektif, sebab targetnya spesifik serta toksisitasnya rendah. Tujuan dari penelitian yang telah dilakukan ialah untuk mengisolasi bakteri dari tanah yang mampu menghasilkan senyawa antimikrob, serta untuk menguji aktivitas penghambatnya terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode yang telah digunakan dalam penelitian ini ialah isolasi, purifikasi, dan seleksi bakteri dari sampel tanah dengan metode uji penghambatan sedangkan bakteri *Bacillus* sp. Merupakan bakteri pembanding. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh terdapat 2 isolat yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba yaitu isolat 1 dan isolate 4. Isolat 1 lebih berpotensi menghambat *E. coli* dengan indeks hambat 4.0 mm dibandingkan dengan penghambatan *S. aureus* dengan indeks hambat 3.1 mm. Sedangkan isolat 4 lebih berpotensi menghambat *S. aureus* dengan indeks hambat 2.8 mm dibandingkan dengan penghambatan terhadap *E. coli* dengan indeks hambat 1.4 mm.

Kata Kunci: *Antimikrob, E. coli, Isolasi, Bakteri Tanah, S. Aereus*

Abstrak Antibiotics are medicinal ingredients that have an important role in tackling infectious diseases. Antimicrobial compounds can be obtained from plants, and microbes. Antimicrobial compounds produced by microbes have advantages over synthetic antibiotics because they have more effective properties, because the targets are specific and their toxicity is low. The purpose of the research was the isolate bacteria from the soil that is able to produce antimicrobial compounds, as well as to test its blocking activity against the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The method that has been used in this study is the isolation, purification, and selection of bacteria from soil samples by inhibition test methods while the bacteria *Bacillus* sp. Is a comparative bacterium. Based on the research results obtained there are 2 isolates which have the potential to have antimicrobial activity, isolate 1 and isolate 4. Isolate 1 has the potential to inhibit *E. coli* with inhibition index of 4.0 mm compared to *S. aureus* inhibition with 3.1 mm inhibition index. Whereas isolate 4 had more potential to inhibit *S. aureus* with a inhibition index of 2.8 mm compared to inhibition of *E. coli* with a inhibition index of 1.4 mm.

Keywords: *Antimicrobial, E. coli, Isolation, Soil Bacteria, S. aereus*

PENDAHULUAN Antibiotik adalah bahan obat yang sangat memegang peranan penting dalam menanggulangi penyakit infeksi. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, dan mikroba. Senyawa antimikrob yang dihasilkan oleh mikroba memiliki keunggulan dibandingkan dengan antibiotik sintetik karena memiliki sifat yang lebih efektif, sebab targetnya spesifik serta toksisitasnya rendah (Utami, 2012).

Mikroorganisme penghasil antibiotika dapat diisolasi dari tanah, air laut, lumpur, kompos, isi rumen, limbah domestik, bahan makanan busuk dan lain-lain. Tanah merupakan salah satu habitat bagi mikroorganisme, dalam satu gram tanah terdapat jutaan bakteri, fungi, protozoa dan mikroorganisme lainnya. Menurut Panagan (2011), populasi mikroorganisme dalam tanah di pengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jumlah dan jenis zat hara dalam tanah, kelembaban, tingkat aerasi, suhu, derajat keasaman, dan perlakuan yang diberikan pada tanah, seperti pemupukan.

Salah-satu bakteri yang dapat menghasilkan senyawa antimikrob adalah genus *Bacillus*. Bakteri golongan ini mampu menghasilkan senyawa antimikrob baik berupa antibiotik, proteinase maupun bakteriosin (Setiaji, 2019; Sukmawati & Badaruddin, 2019).

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengisolasi bakteri dari tanah yang mampu menghasilkan senyawa antimikrob, serta untuk menguji aktivitas penghambtannya terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

METODE

Isolasi, Purifikasi, Seleksi Bakteri dari Sampel Tanah dan Bacillus sp. Terbaik dengan metode uji penghambatan

Pengambilan sampel tanah dilakukan di area Dramaga dengan cara mengambil sampel tanah dari kedalaman sekitar 5 cm. Sebanyak 1 g sampel tanah dilarutkan dalam akuades 9 mL sebagai pengenceran 10^{-1} . Pengenceran sampel dilakukan secara

serial dari konsentrasi 10^{-1} hingga 10^{-5} . Kemudian untuk pengenceran 10^{-4} di *plate spread* pada dua cawan petri, untuk perlakuan 1 ditambahkan bakteri uji 0.2 mL *E. coli*, perlakuan 2 ditambahkan *S. Aereus* 0.2 mL dan perlakuan 3 dengan seri pengenceran 10^{-5} tanpa bakteri uji. Selain isolasi bakteri dari tanah, juga meremajakan isolat *Bacillus* sp. dengan pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} . Perlakuan pertama yaitu pengenceran 10^{-1} diperlakukan dengan cara *heat shock* pada suhu 80°C - 90°C selama 1-3 menit, kemudian di inokulasikan pada media *Nutrien Agar* (NA) dengan cara *spread plate* (metode sebar) masing-masing ditambah 1 mL suspensi 0.2 mL *E. coli* untuk perlakuan 1, perlakuan 2 ditambahkan *S. aereus* 0.2 mL dan perlakuan 3 tanpa bakteri uji. Masing-masing perlakuan yang telah diinokulasikan pada media NA diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari.

Purifikasi isolate bakteri dari sampel tanah dan *Bacillus* sp. Dilakukan dengan cara memilih isolat bakteri yang menghasilkan zona hambat (zona bening disekitar koloni). Kemudian koloni bakteri yang menghasilkan zona hambat diinokulasikan dengan metode gores kuadran pada media NA, kemudian diinkubasi selama 2-3 hari yang selanjutnya dipurifikasi pada agar miring. Selanjutnya isolate bakteri dengan cara memilih isolate bakteri yang tumbuh, kemudian diinokulasikan pada media NA dengancara gores titik dan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu ruang. Bakteri *Bacillus* sp. Digunakan sebagai pembanding dengan isolate bakteri yang telah diisolasi dari sampel tanah.

Indeks aktivitas penghambatan dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Zona hambat (mm)} = \frac{\text{zona bening} - \text{zona koloni}}{\text{zona koloni}}$$

(Sukmawati, 2018)

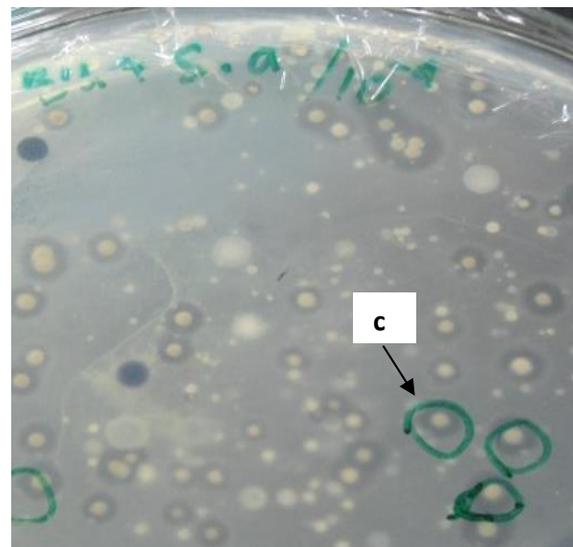
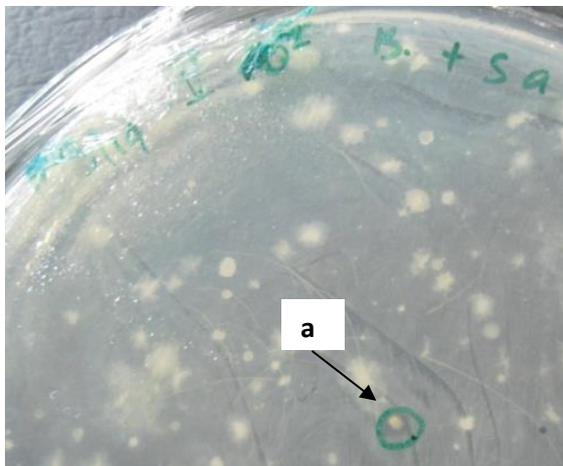
Uji aktifitas penghambatan Bakteri dari Sampel Tanah dan Bacillus sp. Pada kultur E.coli dan S.aureus

Dua isolat terbaik diambil pada stock kemudian ditumbuhkan pada media

Nutrien Broth (NB) . Inkubasi dilakukan selama 3-4 hari pada suhu ruang, setelah itu disentrifugasi selama 15 menit pada suhu 4⁰C dengan kecepatan 6000 rpm. Supernatan yang dihasilkan diambil dan diteteskan pada kertas cakram. Kertas cakram yang mengandung supernatant *Bacillus* sp. Diletakkan dalam media NA yang berbeda yaitu media NA yang mengandung kultur *E.coli* dan media NA yang mengandung kultur *S.aureus*. Selanjutnya diinkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 2-3 hari, kemudian diukur zona hambatnya dan diukur indeks aktifitas penghambatannya.

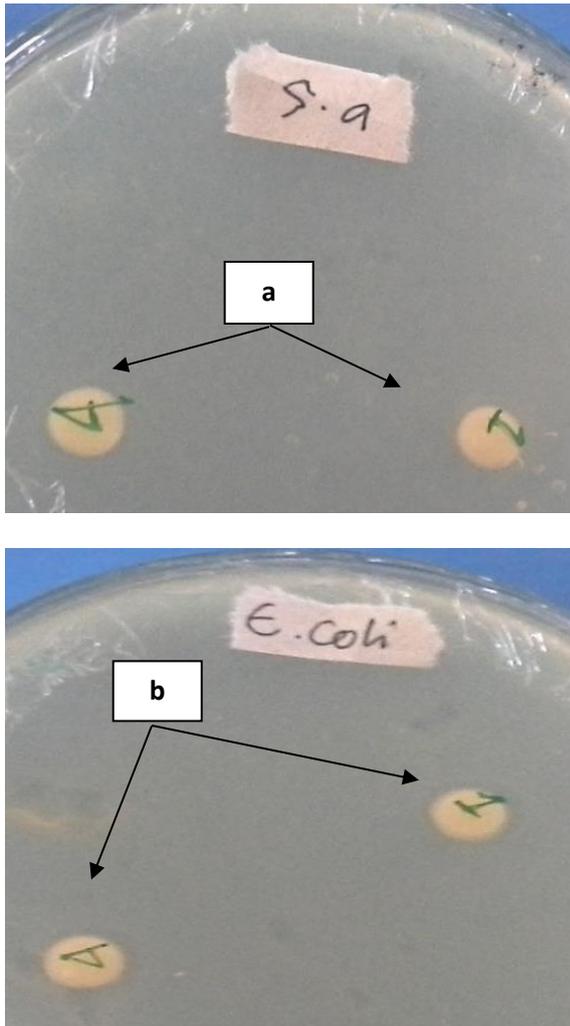
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri dari sampel tanah dan *Bacillus* sp. Diperoleh 2 isolat bakteri dari sampel tanah yang dapat menghasilkan zona hambat (zona bening) dengan kemampuan dapat menghambat *E. coli* dan *S. aureus* . Sedangkan Isolat *Bacillus* sp. Hanya mampu menghambat *S.Aureus* (Gambar 1 dan Tabel 1).



Gambar 1. Hasil isolasi dan aktifitas penghambatan Bakteri dari Isolat Sampel Tanah (IST) dan *Bacillus* sp. (a; *Bacillus* sp. Vs *S.aureus*, b; Isolat 1 vs *E.coli*, c; Isolat 4 vs *S.aureus*)

Uji aktifitas penghambatan isolat 1 dan 4 yang berasal dari sampel tanah terhadap *E.coli* dan *S. aureus* dengan menggunakan kertas cakram lebih rendah nilai hambatnya disbanding dengan tidak menggunakan kertas cakram (Gambar 2 dan Tabel 1)



Gambar 2. Aktivitas zona hambat isolat 1 dan isolate 4 dalam menghambat *S. aureus* dan *E. coli* (a; isolat 1&4 vs *S. aureus*, b; isolat 1&4 vs *E. coli*).

Tabel 1. Indeks zona hambat isolate bakteri asal tanah tanpa menggunakan kertas cakram dan menggunakan kertas cakram

Isolat	Indeks Zona Hambat (mm)			
	Isolat Sampel tanah Vs <i>E. coli</i>		Isolat Sampel tanah Vs <i>S. aureus</i>	
	Tanpa cakram	Menggunakan cakram	Tanpa cakram	Menggunakan cakram
1	4.0	2.1	3.1	3.1
4	1.4	1.2	2.8	2.6

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat 2 isolat yang berpotensi memiliki aktivitas

antimikroba yaitu isolat 1 dan isolat 4, Isolat 1 lebih berpotensi menghambat *E. coli* dengan indeks hambat 4.0 mm dibandingkan dengan aktivitas nilai hambatnya pada *S. aureus* dengan indeks hambat 3.1 mm. Sedangkan isolat 4 lebih berpotensi menghambat *S. aureus* dengan indeks hambat 2.8 mm dibandingkan dengan penghambatan *E. coli* dengan indeks hambat 1.4 mm. *E. coli* merupakan bakteri gram negative sedangkan *S. aureus* merupakan bakteri gram positif. Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* merupakan bakteri patogen dan pada umumnya merupakan bakteri terbawa makanan (Anggraini, 2019; Hardianti, 2019; Sukmawati & Hardianti, 2018; Sukmawati, *et al.* 2018). Kedua bakteri tersebut dapat mewakili masing-masing kelompok bakteri berdasarkan perbedaan struktur dinding sel yang dikandungnya.

Secara umum, mekanisme antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negative memiliki perbedaan. Mekanisme antibiotik spesifik dalam menghambat bakteri gram positif dengan cara menghambat sintesis peptidoglikan. Menurut Martha (2015) antibiotik beta laktam bekerja dengan spesifik menghambat sintesis peptidoglikan bakteri. Beta lactam dapat menghambat transpeptidase dan D-alanin karboksipeptidase yang dapat mengkatalis polimerisasi rantai peptidoglikan (Suarez, 2009).

Antibiotik ini dapat membunuh sel yang sedang tumbuh tetapi tidak membunuh sel yang berada dalam fase stasinoener (Wahjono, *et al.*, 2015). Salah satu contoh antibiotik beta laktam yang tersebar luas adalah penisilin. Antibiotik jenis beta lactam yang tersebar luas dapat mengatasi banyak penyakit infeksi bakteri, namun dampak terburuk yang terjadi ialah dengan timbulnya galur yang resisten terhadap antibiotik beta laktam. Galur yang resisten tersebut memiliki enzim beta laktamase yang dapat berikatan dengan senyawa beta lactam (Kambuno, 2017).

Sedangkan mekanisme antibiotik dalam menghambat bakteri gram negatif relative berbeda dibandingkan dengan gram positif. Bakteri gram negative memiliki sedikit peptidoglikan sehingga membutuhkan jalur lain dalam proses penghambatannya. Salah satu contoh antibiotik yang dapat menghambat bakteri gram negative dan cukup tersebar luas adalah streptomisin. Streptomisin merupakan antibiotic aminoglikosida yang spesifik menghambat sintesis protein dengan cara mengikat protein ribosomal S12 pada subunit 30S (Okamoto, 2007).

Protein ribosomal S12 aktif pada konstituen A-site dalam pengikatan aminoasil-tRNA dan met-tRNA. Antibiotik streptomisin juga mengandung 2-deoxystreptamine yang dapat menghambat translokasi peptidil-tRNA. Sedangkan aminoglikosida juga merusak membrane sel bakteri gram negative, sehingga menyebabkan hilangnya permeabilitas membrane terhadap komponen sel. Karena alasan mekanisme penghambatannya tersebut, olehnya itu aplikasi streptomisin dapat berefek pada manusia sebab, manusia memiliki target sasaran dari streptomisin itu sendiri, yang mana manusia memiliki subunit 30S pada ribosom mitokondria (Singh, *et al.*, 2015).

Pada penentuan jenis antibiotik yang terkandung dalam isolat 1 dan 4 dibutuhkan penelitian lebih lanjut seperti pemurnian senyawa menggunakan kromatografi, analisa dalam penelitian yang telah dilakukan merupakan gambaran mekanisme secara umum pada antibiotik yang dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negative seiring dengan isolat 1 yang berpotensi menghambat bakteri gram negative yang di wakili oleh *E. coli* dan isolat 4 yang berpotensi menghambat bakteri gram positif yang diwakili oleh *S. aureus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh terdapat 2 isolat yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba yaitu isolat 1 dan

isolat 4. Isolat 1 lebih berpotensi menghambat *E. coli* dengan indeks hambat 4.0 mm dibandingkan dengan penghambatan *S. aureus* dengan indeks hambat 3.1 mm. Sedangkan isolat 4 lebih berpotensi menghambat *S. aureus* dengan indeks hambat 2.8 mm dibandingkan dengan penghambatan terhadap *E. coli* dengan indeks hambat 1.4 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Angraini, E., Angraeni, D. N., Umami, S. S., Sumiati, E., & Taufiqurokhman, T. (2019, February). Antagonism of *Lentinus Cladopus* Lc4 Extract, *Trichoderma* sp. Jpa Extract on *Bacillus* sp., *Xanthomonas* sp. and *E. Coli*. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1155, No. 1, p. 012057). IOP Publishing.
- Dewi, A. (2007). *Uji Sensitivitas Staphylococcus Aureus Dari Pus Pasien Di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten Terhadap Beberapa Antibiotik* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Hardianti, F., & Aziz, I. R. (2019). Identification of Pathogenic Bacteria on the Salted Fish *Lutjanus Vivanus* in Sorong City of West Papua. *Malaysian Journal of Microbiology*, 15(3), 237-244.
- Kambuno, N. T., & Fanggidae, D. (2017). Identifikasi Bakteri Gram Negatif Galur Extended Spectrum Beta Lactamase Pada Ruang NICU RSUD Prof. DR. WZ Johannes Kupang. *Jurnal Info Kesehatan*, 15(2), 333-345.
- Martha, D. (2015). Perbandingan Hasil Uji Kepekaan *Escherichia Coli* Terhadap Seftriakson Dengan Siprofloksasin Di Rumah Sakit Al-Islam Pada Tahun 2014.
- Okamoto, S., Tamaru, A., Nakajima, C., Nishimura, K., Tanaka, Y., Tokuyama, S., ... & Ochi, K. (2007). Loss of a conserved 7-

- methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. *Molecular microbiology*, 63(4), 1096-1106.
- Panagan, A. T. (2011). Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika dari Tanah Kampus Unsri Indralaya Menggunakan Media Ekstrak Tanah. *Jurnal Penelitian Sains*, 14(3).
- Setiaji, J. (2019). Analisis Dna Bakteri Heterotrofik Laut Yang Bersifat Antagonis Terhadap Bakteri Patogen Pada Ikan. *Prosiding Seminakel*, 1(1).
- Singh, A. K., Drolia, R., Bai, X., & Bhunia, A. K. (2015). Streptomycin induced stress response in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium shows distinct colony scatter signature. *PloS one*, 10(8), e0135035.
- Suarez, C., & Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, 27(2), 116-129.
- Sukmawati, S. (2018). Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 2(1), 46-52.
- Sukmawati, S., & Badaruddin, M. I. (2019). Screening of Probiotic Bacteria Candidates in The Mangrove Tourism Area in Klawalu Sorong City West Papua. *Bioscience*, 3(2), 161-168.
- Sukmawati, S., & Hardianti, F. (2018). Analisis Total Plate Count (TPC) Mikroba pada Ikan Asin Kakap di Kota Sorong Papua Barat. *Jurnal Biodjati*, 3(1), 72-78.
- Sukmawati, S., Ratna, R., & Fahrizal, A. (2018). Analisis Cemarkan Mikroba Pada Daging Ayam Broiler Di Kota Makassar. *Scripta Biologica*, 5(1), 51-53.
- Utami, E. R. (2012). Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Sainstis*.
- Wahjono, H., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Khoeri, M. M., & Karyana, E. (2015). Antimycobacterial Activities from Seagrass *Enhalus* sp. Associated Bacteria Against Multi Drug Resistance Tuberculosis (MDR TB) Bacteria. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 253-259.