

KARAKTERISTIK DAN ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI TANAH BEKAS PEMBUANGAN SAMPAH

Eva Hairdiana Umar*, Sabaniah Indjar Gama, Arsyik Ibrahim, Laode Rijai

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS
Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur

*email : choichoieva24@gmail.com

ABSTRAK

Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil antibiotik dalam sampel tanah bekas pembuangan sampah telah dilakukan. Sampel tanah diambil pada kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah. Isolasi dilakukan dengan metode tuang dan metode sebar yang kemudian dipilih isolat yang memiliki zona bening disekitar koloni dan memiliki bentuk koloni yang berbeda untuk dimurnikan. Setelah dimurnikan, isolat bakteri di karakterisasi makroskopis dan mikroskopis. Hasil isolasi didapatkan 9 isolat, 4 isolat didapatkan dari metode tuang dan 5 isolat didapatkan dari metode sebar dimana kesembilan isolat yang didapatkan merupakan bakteri gram negatif. Dari 9 isolat yang didapatkan kemudian diujikan terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* hasilnya ditemukan 1 isolat yaitu isolat F yang memiliki daya hambat terhadap bakteri uji.

Kata Kunci: aktivitas antibiotik, isolat bakteri

PENDAHULUAN

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang tidak terlihat oleh mata, tetapi dengan bantuan mikroskop, mikroorganisme tersebut akan nampak. Ukuran bakteri berkisar antara panjang 0,5 sampai 10 μ dan lebar 0,5 sampai 2,5 μ tergantung dari jenisnya. (μ = 1 mikron = 0,001 mm). Walaupun terdapat beribu jenis bakteri, tetapi hanya beberapa karakteristik bentuk sel yang diketemukan yaitu: Bentuk bulat atau cocci (tunggal = coccus), Bentuk batang atau bacilli (tunggal = bacillus), Bentuk spiral atau spirilli (tunggal = spirillum), Bentuk koma atau vibrios (tunggal = vibrio). Sel-sel ini dapat dijumpai dalam keadaan tunggal, berpasangan, tetrad, kelompok kecil, gerombolan atau rantai. (Buckle, 2009).

Mikroba patogen berbahaya bagi kehidupan makhluk hidup yang dapat menyebabkan penyakit infeksi. Mengingat peningkatan prevalensi patogen resisten antibiotik, menyebabkan meningkatnya permintaan untuk antibiotik baru dari sumber alami.

Antibiotik adalah zat kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau mematikan (bakterisidal, virisidal, fungisidal) mikroorganisme lain. Kata 'antibiotik' sering digunakan secara tidak tepat untuk menyebut semua obat antimikroba, yang sebagian diantaranya adalah sintetik, misalnya sulfonamid (Elliot *et. al*, 2013).

Mikroorganisme penghasil antibiotika dapat diisolasi dari tanah, air laut, lumpur, kompos, isi rumen, limbah domestik, bahan makanan busuk dan lain-lain. Tanah merupakan tempat interaksi biologis yang paling dinamis dan mempunyai lima komponen utama yaitu mineral, air, udara, zat organik dan organisme hidup dalam tanah antara lain: bakteri, aktinomisetes, fungi, algae, dan protozoa. Untuk memperoleh antibiotik baru, banyak dilakukan pencarian isolat dan *strain* penghasil antibiotik terutama *Streptomyces* dari habitat tanah. Tanah merupakan salah satu habitat bagi mikroorganisme, dalam satu gram tanah terdapat jutaan bakteri, fungi, protozoa dan mikroorganisme lainnya.

Populasi mikroorganisme per gram tanah yang subur meliputi: bakteri (2.500.000.000), actinomycetes (700.000), fungi (400.000), algae (50.000) dan protozoa (30.000) (Budiyanto, 2004). Sekitar 70% dari antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh actinomycetes terutama streptomyces. Beberapa antibiotik yang dihasilkan oleh streptomyces, yaitu aureomycin yang dihasilkan oleh *S.aureofaciens*, oleandomycin (oleh *S. Antibioticus*), dan spiramycin (oleh *S. Ambofaciens*) (Dwidjoseputro, 2003). Penelitian yang dilakukan Sulistiani pada tahun 2006 mendapatkan 74 isolat actinomycetes berhasil diisolasi dari tanah P. Timor bagian barat (NTT) dan 44 diantaranya mempunyai aktivitas antibiotik terhadap *Escherchia coli*, *Candida albicans*, dan *Saccharomyces cerevisiae*. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan Almunady (2011) dari 8 isolat bakteri yang didapatkan dari tanah disekitar kampus Universitas Sriwijaya, 5 isolat telah terbukti positif berpotensi sebagai bakteri penghasil antibiotik.

Berdasarkan informasi yang telah diperoleh maka dilakukan penelitian karakteristik dan isolasi bakteri penghasil antibiotik dari tanah bekas pembuangan sampah. Tanah yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanah bekas pembuangan sampah karena kelembapannya yang tinggi, kaya oksigen serta nutrisi untuk tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme dan diduga mengandung berbagai bakteri penghasil antibiotik.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan pada penelitian ini adalah sampel tanah, Alkohol, Aquadestilata, Gelatin, Kapas, Kertas saring, Kristal violet, Manitol, *Metil Red*, *Milk Agar*, Minyak emersi, nacl 0,9 %, Nigrosin, *Nutrient Agar*, *Safranin*, *Simon Citrat Agar*, *Kliger Iron Agar*.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Autoklaf, Batang Pengaduk, Cawan petri, Corong kaca, *Cover glass*, Erlenmayer, Gelas kimia, *Hot Plate*, Inkubator, Kaca Arloji, Laminar Air Flow, Mikroskop, *Object glass*, Ose bulat, Ose lurus, Oven, Pembakar spiritus, Pipet Tetes, Pinset, Rak Tabung Reaksi, Sendok Tanduk, Spatel, *Spoid*, Tabung Reaksi, Timbangan Analitik.

Pengambilan Sampel

Pengambilan tanah bekas pembuangan sampah dilakukan secara aseptis dengan pengambilan tanah pada bagian permukaan dengan kedalaman 10-15 cm. Sampel disimpan kedalam botol steril. Sampel yang digunakan diambil di daerah Samarinda Ulu, Kalimantan Timur.

Penyiapan Sampel

Penyiapan sampel dilakukan secara aseptis di laboratorium. Sebanyak 1 gram sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 9 mL NaCl 0,9 % (10^{-1}). Dari 10^{-1} diambil 1 mL dan dipindahkan ke tabung reaksi 2, setelah itu ditambahkan 9 mL NaCl 0,9 % lalu dihomogenkan sehingga didapat pengenceran sampel 10^{-2} . Dari 10^{-2} diambil 1 mL dan dipindahkan ke tabung reaksi 3, setelah itu ditambahkan 9 mL NaCl 0,9 % lalu dihomogenkan sehingga didapat pengenceran sampel 10^{-3} . Dari 10^{-3} diambil 1 mL dan dipindahkan ke tabung reaksi 4, setelah itu ditambahkan 9 mL NaCl 0,9 % kemudian dihomogenkan sehingga didapat pengenceran sampel 10^{-4} . Dari 10^{-4} diambil 1 mL dan

dipindahkan ke tabung reaksi 5, setelah itu ditambahkan 9 mL NaCl 0,9 % lalu dihomogenkan sehingga didapat pengenceran sampel 10^{-5} .

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode tuang dan metode sebar. Ditumbuhkan dalam medium *Nutrient Agar* yang telah ditambah antijamur flukonazol. Setelah itu diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37 °C diinkubator sehingga didapat isolat bakteri awal. Pemurnian bakteri dilakukan dengan memilih koloni dari isolat awal. Setelah itu diambil 1 ose bakteri yang telah dipilih menggunakan ose bulat lalu digoreskan pada medium baru secara zig-zag. Kemudian diinkubasi di inkubator pada suhu selama 1 hari, pemurnian ini dilakukan berulang-ulang hingga didapat isolat murni.

Karakterisasi Isolat Bakteri

Karakterisasi dilakukan secara makroskopi dan mikroskopi. Dimana Pengamatan makroskopis bakteri dilakukan dengan melihat bentuk dan warna koloni bakteri, bentuk koloni di lihat dari atas untuk melihat bentuk koloni secara menyeluruh, dari samping untuk melihat penonjolan koloni dan dilihat bentuk tepi koloni. Pengamatan mikroskopi yaitu Pewarnaan gram dengan menggoreskan 1 ose isolat bakteri di atas *object glass*, lalu diberi beberapa zat warna dan kemudian di amati di bawah mikroskop, perbedaan warna pada dinding sel bakteri menunjukkan golongan bakteri tersebut. Apabila berwarna ungu maka bakteri tersebut termasuk golongan gram positif, jika berwarna merah maka bakteri tersebut termasuk gram negatif.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas dilakukan dengan cara dimasukkan suspensi bakteri uji terlebih dahulu kedalam cawan petri steril kemudian ditambahkan medium NA, lalu didiamkan hingga memadat, setelah itu 1 ose isolat digoreskan diatas media, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Zona bening disekitar goresan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari isolat tersebut. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherchia coli* dan *Staphilococcus aureus*.

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini yang digunakan adalah sampel tanah bekas pembuangan sampah didaerah Samarinda Ulu, Kalimantan Timur. Sampel tanah bekas pembuangan sampah dipilih karena kelembapannya tinggi, kaya oksigen serta nutrisi untuk tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme.

Alat-alat dan bahan yang digunakan harus steril sebelum inokulasi agar tidak ada organisme hidup yang berada dalam medium jika diinokulasi. Metoda yang sering digunakan untuk mensterilkan media adalah dengan menggunakan autoklaf (Case, 1984).

Populasi per gram tanah yang subur terdapat bakteri sebesar 2.500.000.000 dan actinomycetes 700.000 (Suwandi, 2003). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengenceran sampel terlebih dahulu sebeum diisolasi dari 1:10 hingga 1:100000 untuk mencegah pertumbuhan koloni bakteri yang terlalu rapat sehingga sulit teramati. Pengenceran sampel menggunakan larutan NaCl 0,9% karena tidak menyebabkan

plasmolisis pada sel mikroba, di samping itu NaCl 0,9% membuat lingkungan sekitar sel menjadi isotonik sehingga cairan di dalam sel tidak akan keluar (Cappucino, 1986).

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan 2 metode yaitu metode tuang dan metode sebar, dari isolasi yang dilakukan didapatkan 9 isolat, 4 isolat dari metode tuang dan 5 isolat dari metode sebar yang kemudian dilakukan pemurnian isolat dengan teknik gores sehingga didapat isolat murni.

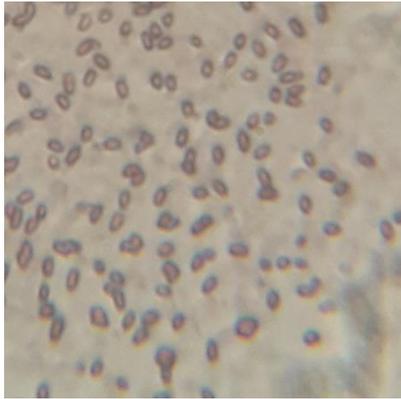
Karakterisasi dilakukan meliputi pengamatan makroskopi (Tabel 1.) dan mikroskopi, dimana 9 isolat yang ditemukan merupakan bakteri gram negatif (Tabel 2.) berdasarkan pengamatan mikroskop yang telah dilakukan yaitu dapat terlihat ketika pewarnaan gram, sel dari isolat A, B, C, D, E, F, G, H, dan I bewarna merah yang menandakan bahwa bakteri merupakan gram negatif (Gambar 1.)

Tabel 1. Hasil isolasi dan pengamatan secara makroskopi

Kode Isolat	Metode isolasi	Warna koloni	Bentuk Koloni		
			Atas	Tepi	Penonjolan
A	Tuang	Putih	Filamentous	Filamentous	Flat
B	Tuang	Kekuningan	Circular	Entire	Convex
C	Tuang	Kekuningan	Irregular	Lobate	Raised
D	Tuang	Putih	Irregular	Lobate	Flat
E	Sebar	Kekuningan	Irregular	Lobate	Raised
F	Sebar	Kekuningan	Irregular	Lobate	Flat
G	Sebar	Putih	Irregular	Lobate	Flat
H	Sebar	Putih	Irregular	Serate	Raised
I	Sebar	Putih	Irregular	Lobate	Raised

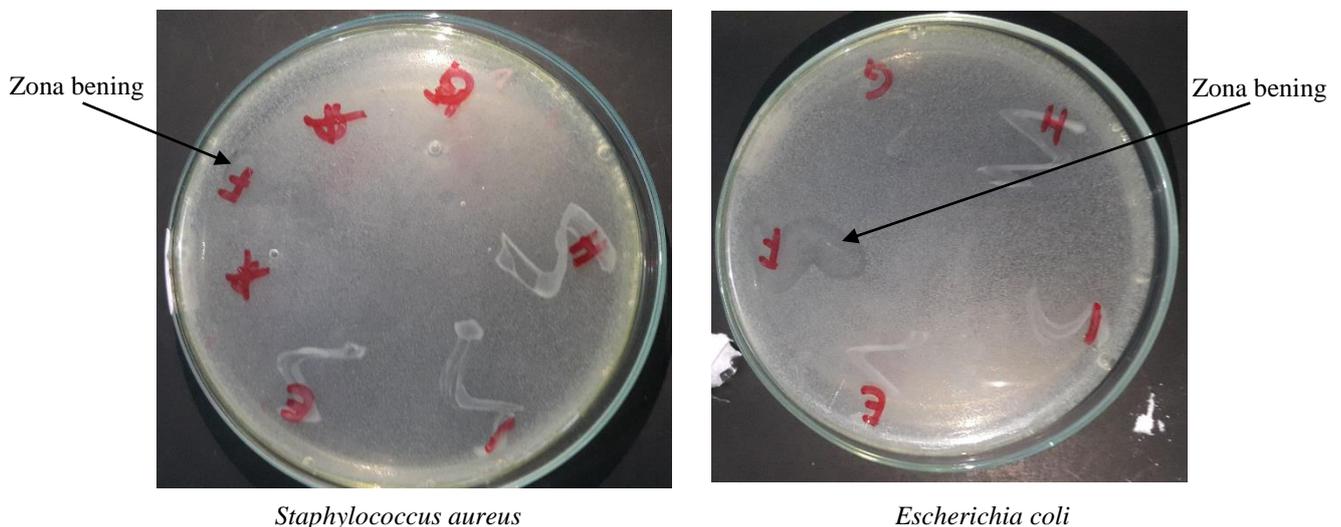
Tabel 2. Hasil pengamatan pewarnaan gram

No	Kode Isolat	Warna	Hasil
1	A	Merah	Gram negatif
2	B	Merah	Gram negatif
3	C	Merah	Gram negatif
4	D	Merah	Gram negatif
5	E	Merah	Gram negatif
6	F	Merah	Gram negatif
7	G	Merah	Gram negatif
8	H	Merah	Gram negatif
9	I	Merah	Gram negatif



Gambar 1. Pengamatan mikroskopi isolat I pada perbesaran 100x

Setelah dikarakterisasi maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri untuk mengetahui isolat mana yang menghasilkan senyawa antibiotik yaitu suatu senyawa yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba. Produksi antibiotik dimulai pada akhir fase eksponensial dan fase stasioner. Berdasarkan waktu produksinya, antibiotik yang dihasilkan tersebut dapat digolongkan ke dalam metabolit sekunder. Berdasarkan pengujian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa dari 9 isolat hanya 1 isolat yaitu isolat F memiliki aktivitas sebagai antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar goresan (Gambar 2.), dalam waktu kurang dari 24 jam Isolat F sudah dapat memproduksi antibiotik karena dengan inkubasi selama 24 jam saja zona bening disekitar goresan isolat F telah terbentuk. Dari zona bening yang dihasilkan dapat dilihat isolat F memiliki aktivitas daya hambat yang lebih besar terhadap *Escherichia coli* dibandingkan terhadap *Staphylococcus aureus*.



Gambar 2. Uji aktivitas antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

KESIMPULAN

Didapatkan 9 Isolat bakteri, 4 dari metode tuang dan 5 dari metode sebar dimana terdapat 1 isolat yaitu isolat F memiliki aktivitas daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kesembilan isolat bakteri yang didapatkan merupakan bakteri gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Buckle, K. A. *et al.* 2009. *Ilmu Pangan*. UI Press: Jakarta.
- Elliot, Tom *et. All.* 2013. *Mikrobiologi Kedokteran dan Infeksi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Budiyanto, M.A.K., 2004, *Mikrobiologi Terapan*, UMM press, Malang.
- Dwidjoseputro, D. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Case L, C, and Johnson, T. R. 1984. *Laboratory Exsperiments in Microbiology*. Sydney, California.
- Cappuccino G. James and Sherman Natalie. 1986. *Microbiology a Laboratory Manual*. Rockland Community Collage State University of New York,