

Isolasi Bakteri Resisten Antibiotik dari Kawasan Mangrove Wonorejo Surabaya

Lericka Mei Permadi dan Enny Zulaika

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: Enny@bio.its.ac.id

Abstrak—Ekosistem mangrove merupakan ekosistem peralihan antara darat dan laut. Keanekaragaman bakteri pada ekosistem mangrove sangat bervariasi termasuk resisten terhadap antibiotik. Tujuan penelitian untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang diisolasi dari kawasan mangrove Wonorejo Surabaya resisten terhadap antibiotik. Isolasi bakteri menggunakan metode komposit tanah daerah pasang surut, isolat ditumbuhkan pada medium nutrient agar dengan metode pour plate. Uji resistensi antibiotik menggunakan antibiotik kloramfenikol, tetrasiklin, dan ampisilin (30 µg). Berdasarkan warna, bentuk, dan ukuran koloni didapatkan 11 isolat bakteri. Seluruh isolat bakteri resisten terhadap 30 µg antibiotik kloramfenikol, tetrasiklin, dan ampisilin, kecuali pada isolat BW 10 bersifat susceptible terhadap tetrasiklin.

Kata Kunci— Antibiotik, Bakteri, Resistensi, Wonorejo.

I. PENDAHULUAN

EKOSISTEM mangrove merupakan ekosistem peralihan antara darat, sungai dan laut [1], yang mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang bervariasi seperti salinitas yang fluktuatif, perubahan temperatur, nutrien, dan kadar oksigen [2]. Kondisi lingkungan tersebut akan menyebabkan terjadinya keanekaragaman organisme termasuk bakteri.

Keanekaragaman bakteri pada ekosistem mangrove sangat bervariasi, diantaranya sebagai bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri metanogenik, bakteri pelarut fosfat [1], bakteri pendegradasi senyawa organik [3], juga dapat sebagai bakteri resisten terhadap logam berat [4] dan resisten terhadap antibiotik [5].

Resistensi bakteri terhadap antibiotik di lingkungannya berhubungan dengan sifat resistensi terhadap logam berat yang mencemari lingkungan tersebut [6]. Antibiotik banyak digunakan untuk keperluan medis, makanan dan pengendalian lingkungan [7]. Selain itu, antibiotik saat ini banyak juga digunakan dalam pertanian ataupun budidaya di perairan [8]. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan kondisi lingkungan memiliki keanekaragaman bakteri yang resisten terhadap antibiotik [5].

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri yang resisten antibiotik dari kawasan mangrove Wonorejo Surabaya.

II. METODOLOGI

A. Isolasi Bakteri

Sampel tanah didapatkan dari kawasan mangrove Wonorejo Surabaya pada daerah pasang-surut menggunakan metode

komposit dengan kedalaman ± 10 cm. Titik koordinat S 070 18' 54.8" E 1120 49' 36.7" dan S 070 19' 21.5" E 1120 50' 15.9", tanah diambil 5 sampel secara acak, kemudian sampel dicampur sampai homogen.

Isolasi bakteri dilakukan dengan cara menimbang 1 gram sampel tanah dan dimasukkan kedalam 9 cc aquades steril, di homogenkan. Sebanyak 100 µl diinokulasikan ke dalam media nutrient agar dengan metode pour plate, diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam [9]. Koloni yang tumbuh adalah isolat bakteri endogenik dari kawasan mangrove Wonorejo Surabaya.

B. Purifikasi Isolat Bakteri

Koloni terpilih dipurifikasi sampai diperoleh kultur murni. Satu ose isolat bakteri diambil secara aseptis, diinokulasikan ke permukaan media padat nutrient agar dengan metode 16 goresan dan diinkubasikan pada suhu ruang ± 24 jam. Koloni yang tumbuh diamati sampai diperoleh koloni yang seragam. Untuk meyakinkan kemurnian isolat dilakukan pengamatan bentuk sel secara mikroskopis dengan metode preparat apus dan pewarnaan methylene blue. Pengamatan sel bakteri dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000X dengan menggunakan minyak imersi [10]. Jika bentuk sel sudah seragam, diasumsikan isolat bakteri telah murni.

C. Uji Resistensi Antibiotik

Uji resistensi terhadap antibiotik menggunakan ampisilin, tetrasiklin dan kloramfenikol dengan metode swab. Bakteri ditumbuhkan pada medium nutrient agar, kemudian dilakukan difusi kertas cakram dalam larutan yang berisi masing-masing 30 µg antibiotik. Selanjutnya kertas cakram diletakkan diatas permukaan medium yang telah di swab inokulan. Diinkubasi selama 14-16 jam dalam suhu ruang. Zona hambat yang terlihat menunjukkan bakteri tidak resisten terhadap antibiotik [11], dan diukur lebar zona hambatnya.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolat Terpilih

Berdasarkan warna, ukuran, dan bentuk koloni yang berbeda terseleksi sebanyak 11 koloni bakteri yaitu BW 2, BW 3, BW 4, BW 5, BW 6, BW 8, BW 10, BW 10a, BW 10b, BW 11, dan BW 12.

Koloni bakteri terseleksi di purifikasi sehingga diperoleh isolat murni dari tiap koloni. Berdasarkan pewarnaan

Tabel 1.
Hasil Pewarnaan Sederhana dan Pewarnaan Gram pada Isolat Terpilih

Isolat Bakteri	BW 2	BW 3	BW 4	BW 5	BW 6	BW 8	BW 10	BW 10a	BW 10b	BW 11	BW 12
Pewarnaan Sederhana											
Sel Batang	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+
Sel Bulat	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Sel Ovoid	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Pewarnaan Gram											
Gram Positif	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
Gram Negatif	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-

Tabel 2.
Hasil Uji Resistensi Antibiotik

Isolat Bakteri	BW 2	BW 3	BW 4	BW 5	BW 6	BW 8	BW 10	BW 10a	BW 10b	BW 11	BW 12
Kloramfenikol 30 µg											
Resisten (≤12 mm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetrasiklin 30 µg											
Resisten (≤14 mm)	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Susceptible (≥19 mm)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Ampisilin 30 µg											
Resisten (≤16 mm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

seederhana dan pewarnaan Gram didapatkan bentuk sel bakteri yaitu batang, bulat, dan ovoid dengan sifat Gram positif dan negatif (Tabel 1).

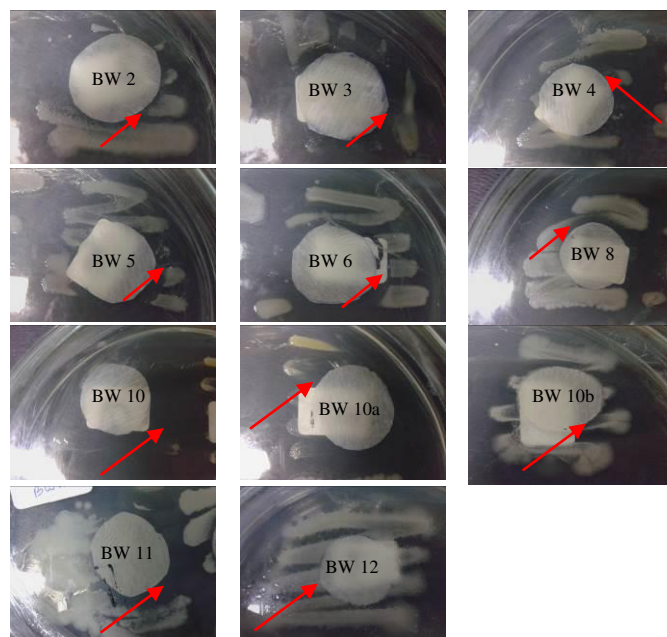
B. Resistensi Antibiotik

Semua isolat terpilih dari kawasan mangrove Wonorejo Surabaya resisten terhadap antibiotik tetrasiklin, kloramfenikol, dan ampisilin dengan konsentrasi 30 µg (Tabel 2).

Sifat resistensi antibiotik ditunjukkan dengan adanya diameter zona bening yang terbentuk berukuran ≤ 12 mm pada kloramfenikol, diameter ≤14 mm pada tetrasiklin, dan diameter ≤16 mm pada ampisilin. Isolat BW 10 bersifat susceptible terhadap tetrasiklin 30 µg, ditunjukkan dengan adanya zona bening ≥ 19 mm (Gambar 1).

Resistensi terhadap antibiotik dimungkinkan sebab gen yang berperan untuk mengatasi cekaman lingkungan biasanya terletak di plasmid. Menurut [12], bakteri mempunyai gen yang digunakan untuk mempertahankan diri dari cekaman lingkungan, termasuk cekaman antibiotik. Gen tersebut biasanya terletak didalam plasmid.

Menurut [13], bakteri yang tahan terhadap cekaman lingkungan termasuk logam berat memiliki R-plasmid yang dapat mengubah sifat resistensi dari logam berat menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik.



Gambar 1. Hasil Uji Resistensi Isolat Bakteri Terhadap Antibiotik (Tanda panah adalah zona bening yang terbentuk)

Bakteri yang resisten antibiotik mempunyai mekanisme antara lain dengan transfer resisten gen antar bakteri dan transfer gen resisten antar elemen genetik didalam transposon bakteri [14].

IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Isolasi bakteri resisten antibiotik dari kawasan mangrove Wonorejo Surabaya menghasilkan 11 isolat yaitu BW 2, BW 3, BW 4, BW 5, BW 6, BW 8, BW 10, BW 10a, BW 10b, BW 11, dan BW 12. Isolat tersebut memiliki sifat multi resisten terhadap 30 µg antibiotik kloramfenikol, tetrasiklin, dan ampisilin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis L.M.Permadi mengucapkan terima kasih kepada Dr. Enny Zulaika, MP melalui roadmap penelitian dengan pendanaan BOPTN ITS dengan nomor kontrak 01711/IT2.11/PN.08/2016.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] N. K. Dhal, dan K. Sahoo, "Potential Microbial Diversity in Mangrove Ecosystem: A Review", *Indian Journal of Marine Sciences*, Vol.38 (2009) 249-256.
- [2] Ghizelini, A. Michelato, C. S. Leda, dan M. Andrew, "Microbial Diversity in Brazilian Mangrove Sediment- A Mini Review", *Brazilian Journal of Microbiology*, (2012) 1242-1254.
- [3] K. Kathiresan, "Polythene and Plastic Degrading Microbes from the Mangrove Soil", *Revista de Biologia Tropical*, (2003) 629-634.
- [4] M. R. Bhat, dan L. Shewade, "Isolation and Characterization of Microorganisms from Mangrove Soil of CBD Belapur Creek, Navi Mumbai, MS India", *International Journal of Environmental Sciences* vol 3, (2013) no.6.
- [5] K. C. A. Jalal, F. U. T. Nur, M. A. Mardiana, J. B. Akbar, Y. B. Kamaruzzaman, S. Shahbudin, dan N. O. Muhammad, "Antibiotic

- Resistance Microbes in Tropical Mangrove Sediments in East Coast Peninsular, Malaysia”, *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 4 (2010) 640-645.
- [6] J. V. Mc Arthur, dan R. C. Tuckfield, “Spatial Patterns in Antibiotics Resistance Among Stream Bacteria: Effects of Industrial Pollution”, *Appl Environ Microbiol*, (2000) 3722–6.
- [7] L. B. Jensen, S. Baloda, M. Boye, dan F. M. Aarestrup,. “Antimicrobial Resistance Among *Pseudomonas* spp. and the *Bacillus cereus* Group Isolated from Danish Agricultural Soil”, *Environ. Int.*, 26 (2001) 581-587.
- [8] Z. J. Mudryk, “Occurrence and Distribution Antibiotic Resistance of Heterotrophic Bacteria Isolated from A Marine Beach” *Marine Pollu. Bull.*, (2004) 80-86.
- [9] A. Saha, dan C. S. Subhas, “Isolation and Characterization of Bacteria Isolated from Municipal Solid Waste for Production of Industrial Enzymes and Waste Degradation”, *Journal of Microbiology & Experimentation*, Volume 1 Issue 1 (2014).
- [10] J. P. Harley, dan L. M. Prescott, *Laboratory Exercises in Microbiology*, Fifth Edition, USA : The McGraw–Hil Companies (2002).
- [11] K. P. Jain, S. R. Shukla, V. Deepti, dan B. K. V. Sanjay, “Characterization of Metal and Antibiotik Resistance in A Bacterial Population Isolated from A Copper Mining Industry”, *International Journal of Integrative Biology IJIB* vol.6 No.2 (2009).
- [12] E. Zulaika, A. Sogianto, dan L. Sembiring, “Characterization and Identification of Mercury-resistant Bacteria from Kalimas River Surabaya-Indonesia by Numerical Phenetic Taxonomy”, *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2 (7) 7263-7269 (2012).
- [13] W. N. Eugene, G. Denise, C. E. Aderson, N. N. Jr. Roberts, S. Pear, T. Martha, dan H. David, “Microbiology: A Human Perspective”, *Bacteria Pathogens*, Mcgraw-Hill, (2004) 616-617.
- [14] H. P. Rang, M. M. Dale, J. M. Ritter, dan R. J. Flower, “Pharmacology”, Churchill Livingstone, (2007) ISBN: 0443069115 / 0-443-06911-5.