

Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika dari Tanah Kampus Unsri Indralaya Menggunakan Media Ekstrak Tanah

ALMUNADY T. PANAGAN

Jurusan Kimia, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

INTISARI: Tanah merupakan media yang baik tempat tumbuh dan berkembangnya beraneka ragam mikroorganisme. Pengembangan metoda kultivasi perlu dilakukan untuk mendapatkan mikroorganisme yang terdapat di tanah tapi tidak dapat dikultivasi (unculturable) di media-media konvensional. Untuk itu dilakukan isolasi bakteri tanah dari tanah hutan kampus Unsri Indralaya dengan menggunakan media ekstrak tanah. Selanjutnya dilakukan isolasi dan karakterisasi mikroba unculturable. Delapan bakteri yaitu H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 dan H8 telah berhasil diisolasi. Karakterisasi terhadap H2, H3, H4, H5 dan H6 berupa uji aktivitas terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menghasilkan bahwa bakteri H2, H3, H5 dan H6 menunjukkan hasil positif terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli* sedangkan H3, H4, H5 dan H6 menunjukkan hasil positif terhadap penghambatan pertumbuhan *S. aureus*. Hasil ini menyarankan bahwa bakteri H2, H3, H4, H5, dan H6 berpotensi sebagai bakteri penghasil antibiotika.

KATA KUNCI: cangkang kepiting, kitin, kitosan mikroba unculturable, media ekstrak tanah, uji antibiotik

ABSTRACT: Soil is a good medium for growth and proliferative of variety of microorganisms. Development of cultivation methods is necessary carried out to obtain unculturable microorganisms which cannot be cultivated in conventional media. Based on above, Soil bacteria was isolated from forest soil of Indralaya Unsri campus using soil extract medium. Eight bacteria signed H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 and H8 were isolated. Characterization of H2, H3, H4, H5 and H6 by activity test to *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* resulted that bacteria H2, H3, H5 and H6 showed positive result for growth inhibition of *E. coli*, while bacteria H2, H3, H4, H5 and H6 showed positive result for growth inhibition of *S. aureus*. These results suggested that bacteria H2, H3, H4, H5, and H6 has a potential as bacteria producing antibiotics.

KEYWORDS: microorganism unculturable, soil-extract agar medium, activity test

Juli 2011

1 PENDAHULUAN

Tanah secara alamiah terbentuk sebagai hasil dari kombinasi proses fisik, kimia dan biologi. Tanah merupakan media yang baik tempat tumbuh dan berkembangnya beraneka ragam mikroorganisme. Walaupun di tanah keras yang keras dan kering, mikroba bersifat dorman, yang akan tumbuh ketika ada kelembapan. Begitu juga filament actinomycetes bertahan hidup dalam tanah dalam keadaan spora dorman.

Usaha untuk mengeksplorasi spesies baru mikroba dilakukan dengan penerapan teknik baru perlu dilakukan untuk meneliti meliputi kultivasi, isolasi, mikroba yang tidak dapat dikultivasi menggunakan teknik media konvensional untuk mengeksplorasi fungsi-fungsi baru mikroba tersebut termasuk metabolit sekunder atau antibiotika yang dikeluarkannya. Didalam bidang eksplorasi senyawa-senyawa bioaktif baru yang dihasilkan oleh mikroba terus dilakukan. Walaupun hingga kini telah diketahui bahwa

lebih dari 10.000 senyawa dihasilkan oleh mikroba, oleh karena itu agak sulit untuk mendapatkan senyawa bioaktif baru apabila kita menggunakan metoda konvensional dalam mengisolasi mikroba penghasil antibiotika baru^[1]

Berdasarkan hasil uraian diatas maka akan dilakukan penelitian isolasi, skrining dan karakterisasi mikroba penghasil antibiotik menggunakan media agar ekstrak tanah dari tanah hutan kampus UNSRI Indralaya Sumatera-Selatan. Penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi mikroba baru yang dihasilkan dengan pengembangan metoda teknik isolasi menggunakan media agar ekstrak tanah atau *soil-extract agar medium*.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekosistem mikroorganisme

Tanah terbentuk secara alamiah sebagai hasil dari kombinasi proses fisik, kimia dan biologi. Walaupun di tanah yang keras dan kering, mikroba bersifat dor-

man, yang akan tumbuh ketika ada kelembapan. Sebagian besar mikroba tumbuh dan berkembang biak di permukaan tanah, bahkan pada segumpal tanah dapat tumbuh beraneka ragam mikroorganisme. Untuk menguji kandungan mikroorganisme pada partikel tanah, dapat diamati dengan mikroskop fluoresen, caranya tanah yang akan dilihat kandungan mikroorganismenya di stain dengan dye yang bisa berfluoresen misalnya *acridine orange*. Sedangkan untuk mengamati mikroorganisme spesifik dalam partikel tanah dapat digunakan stain dengan antibiotik atau filogenik. Lebih jauh skening dengan mikroskop electron dapat memberikan informasi tentang morfologi dan jumlah sel pada permukaan partikel^[2]

2.2 Senyawa Antibiotik

Antibiotika berasal dari kata "anti" yang berarti lawan dan "bios" yang berarti hidup merupakan senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme terutama fungi dan bakteri yang memiliki khasiat mematikan dan menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relative kecil. Antibiotika pertama kali diketemukan oleh dr Alexander Fleming dari Inggris tahun 1928. Secara umum antibiotik dibuat secara mikrobiologi dengan membibakkan fungi dalam tangki yang berisi nutrient khusus bagi bakteri. Oksigen dan atau udara steril disalurkan ke dalam cairan pembiakan guna mempercepat pertumbuhan fungi dan meningkatkan produksi antibiotiknya. Setelah diisolasi dari cairan kultur, antibiotik dimurnikan dan aktivitasnya ditentukan. Sekitar 70% metabolit-metabolit antibiotika baru yang digunakan sekarang dihasilkan dari *Actinomycetes*^[3,4]. Salah satu cara efisien untuk menemukan metabolit antibiotik baru melalui isolasi mikroorganisme baru, dan sejumlah pendekatan digunakan untuk tujuan tersebut.

3 METODE

1. Persiapan media ekstrak tanah dilakukan sebagai berikut: 1000 g tanah dicampur dengan 2 L NaOH 50 mM dan inkubasi semalam pada temperatur kamar. Campuran disaring dan disentrifugasi selama 60 menit pada 18.000 rpm. Larutan supernatant disterilisasi menggunakan 0,2 µm membrane filter. Media soil ekstrak dibuat dengan mencampur ekstrak tanah 500 mL/L dan agar 15 g/L.
2. Persiapan media NA dilakukan sebagai berikut: 10 gram NA dan 12 gram bakto agar dilarutkan dalam akuades, sterilisasi dengan autoklav selama 15-20 menit pada 115°C.
3. Persiapan sample ekstrak tanah: 100 gram tanah direndam dalam 1 liter akuades steril selama se-

malam. Saring dengan kertas saring sehingga didapat ekstrak sample tanah

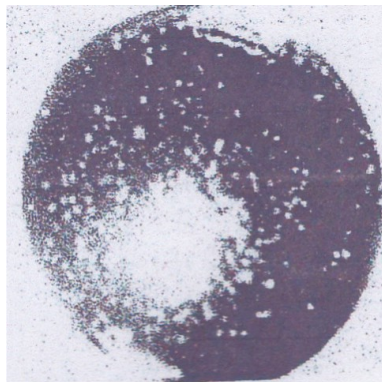
4. Skrining bakteri yang dapat tumbuh pada media agar ekstrak tanah: 100 µL ekstrak tanah disebarkan pada media agar ekstrak tanah dan media 1/4NA. Inkubasi pada 30°C selama 2-3 hari hingga didapatkan bakteri yang tumbuh. Ambil beberapa koloni yang tumbuh tersebut, lakukan pengenceran hingga didapat 100-1000 kali tumbuhkan pada media yang sama hingga didapatkan koloni yang seragam.
5. Pertumbuhan bakteri di media nutrient agar (NA): bakteri yang sudah tumbuh di media ekstrak tanah ditumbuhkan pada media NA, inkubasi pada suhu 30°C. Amati pertumbuhan setelah satu hari
6. Uji pewarnaan Gram positif/negatif: Uji pewarnaan untuk menentukan gram positif/negative dilakukan dengan prosedur standar dilihat dibawah mikroskop.
7. Uji antibiotik menggunakan metode cakram (prosedur Kirby-Bauer): Inokulasi bakteri yang akan diuji menggunakan 5 mL media cair, biarkan tumbuh hingga fasa logaritms (OD sekitar 0,8). Transfer mikroba yang telah tumbuh (*E.coli* dan *S.aureus* secara terpisah pada plate masing-masing). Dengan menyebarkan secara merata kmedia padat. Cakram yang telah mengandung (yang telah dicelupkan) bakteri *unculturable* ditempatkan pada plate. Setelah diinkubasi, amati zona bening/clear zone adalah yang merupakan petunjuk bahwa bakteri itu mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus*.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolat Bakteri Tanah

Berbagai macam mikroorganisme atau bakteri tumbuh dengan baik di tanah. Kompleksnya nutrisi untuk pertumbuhan bakteri yang terkandung dalam tanah menyebabkan bakteri yang tumbuh sangat beragam. Dengan demikian banyak bakteri yang dapat tumbuh di media tanah secara alami, yang akan sulit diisolasi langsung yang kaya nutrisi seperti media NA yang biasa digunakan di lab. Sampel tanah yang diambil di lokasi hutan kampus Indralaya, dilakukan ekstraksi dengan merendam tanah tersebut dalam air, sehingga diharapkan seluruh nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri terekstrak dengan baik. Dilakukan penambahan sikloheksimid pada media dimaksudkan untuk menekan pertumbuhan jamur, sehingga diharapkan hanya bakteri saja yang dapat tumbuh pada media tersebut. Setelah diinkubasi pada suhu 30°C se-

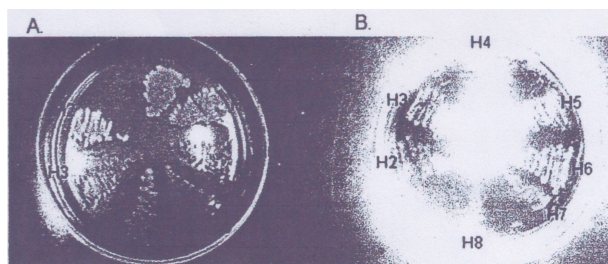
lama 3-5 hari terlihat isolate bakteri-bakteri tumbuh seperti terlihat pada gambar 1.



GAMBAR 1: Isolat bakteri yang tumbuh pada media ekstrak tanah yang mengandung sikloheksimid

4.2 Sampel isolat bakteri

Delapan bakteri yang kami namai : H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 dan H8, dipilih untuk dilakukan karakterisasi pertumbuhannya dengan membandingkan kecepatan pertumbuhan bakteri tersebut pada media ekstrak tanah yang mengandung sikloheksimid dengan media NA. Hasilnya dapat dilihat pada gambar 2.



GAMBAR 2: Isolat bakteri H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, dan H8. Perbandingan pertumbuhan di (A) media ekstrak tanah dan (B) media NA. Setelah diinkubasi pada suhu 30°C, pertumbuhan bakteri di media NA lebih cepat dibanding pada media ekstrak tanah yang mengandung sikloheksimid

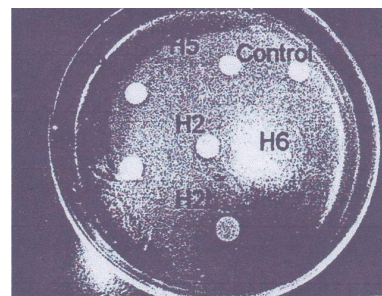
Waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh pada kedua media berbeda, pada media ekstrak tanah membutuhkan waktu dua hari, sedangkan pada media NA hanya 1 hari, hal ini karena media NA adalah media yang kaya nutrisi, sedangkan media ekstrak tanah media yang selektif untuk pertumbuhannya.

Isolat bakteri yang diduga dan diharapkan tumbuh pada media ekstrak tanah ini adalah Actinomycetes yaitu kelompok bakteri Gram-positif yang memiliki kandungan tinggi G+C. Umumnya bakteri ini dibagi dua kelompok yaitu kelompok Streptomyces dan non streptomyces atau actinomycetes. Bakteri kelompok ini umum dan berlimpah di alam seperti

tanah yang berperan penting dalam degradasi polimer organik. Actinomycetes juga penting sebagai sumber bakteri penghasil antibiotika^[5]

4.3 Uji aktivitas terhadap *E. Coli* dan *S. aureus*.

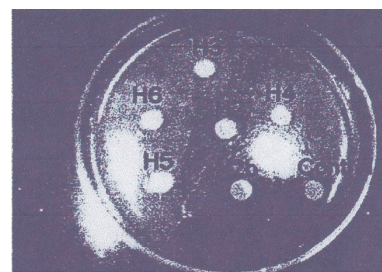
Kelompok actinomycetes secara komersil penting bagi industri karena banyak dari kelompok ini merupakan bakteri penghasil antibiotika ataupun metabolit sekunder lainnya yang penting dalam proses biologis. Bahkan sekitar 70% metabolit-metabolit antibiotika baru yang digunakan sekarang dihasilkan dari actinomycetes^[3,4]



GAMBAR 3: Uji aktivitas isolate bakteri terhadap *E. coli*

Oleh karena itu kemampuan ekstra seluler actinomycetes menghambat pertumbuhan *E.coli* seperti yang terlihat pada gambar 3. Dari lima bakteri, H2, H3, H4, H5 dan H6 yang diuji, hasil menunjukkan bahwa bakteri H2, H3, H5 dan H6 berpotensi menghambat pertumbuhan *E.coli*, dimana H2 menunjukkan efek inhibisi terhadap *E. coli* lebih besar dibanding H3, H4, H5 dan H6. Kontrol artinya kertas cakram yang direndam hanya dalam media NB tanpa isolate bakteri uji.. Hasil ini menyarankan bahwa H2, H3, H5 dan H6 sebagai bakteri penghasil antibiotika yang menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas untuk mengetahui penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* seperti yang terlihat pada gambar 4.



GAMBAR 4: Uji aktivitas isolate bakteri terhadap *S. aureus*

Dari lima bakteri, H2, H3, H4, H5 dan H6 yang diuji, hasil menunjukkan bahwa bakteri H3, H4, H5

dan H6 berpotensi menghambat pertumbuhan *S. aureus* dimana H2 memberikan efek inhibisi terhadap *S. aureus* lebih lemah disbanding H3, H4, H5 dan H6. Kontrol artinya kertas cakram yang direndam hanya dalam media NB tanpa isolate bakteri uji. Hasil ini menyarankan bahwa H3, H4, H5 dan H6 sebagai bakteri penghasil antibiotika yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*

5 SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Bakteri yang bersifat unculturable yang diambil dalam lokasi hutan kampus Unsri Indralaya telah berhasil diisolasi
2. Beberapa bakteri yang diberi nama H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, dan H8 memiliki kecepatan pertumbuhan yang lebih cepat pada media NA dibanding dengan pada media ekstrak tanah yang mengandung sikloheksimid yang masing-masing memerlukan waktu berturut-turut 1 hari dan 2 hari.
3. Uji aktivitas terhadap sifat antibiotika, menunjukkan bahwa bakteri H2, H3, H5 dan H6 menunjukkan hasil positif terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, sedangkan H3, H4, H5 dan H6 menunjukkan hasil positif terhadap penghambatan pertumbuhan *S. aureus*

5.2 Saran

1. Untuk mengetahui informasi lebih jauh tentang isolat bakteri perlu dilakukan karakterisasi lanjut dengan uji aktivitas terhadap beberapa jenis mikroba penyebab penyakit infeksi, dan untuk mengetahui identitas atau taksonomi isolat bakteri sebaiknya dilakukan sekuensing terhadap 16S rDNA isolat bakteri tersebut.
2. Perlu dilakukan karakterisasi mikroba seperti uji pewarnaan gram positif/negatif, kurva pertumbuhan dan lain-lain

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hashizume, A., Fudou, R., Jojima, Y., Nakai, R., Hiraishi, A., Tabuchi, A., Sen, K., and Shibai, H., (2004) Rare bacterium of new genus isolated with prolonged enrichment culture, Biosci. Biotechnol. Biochem 68: 28-35
- [2] Madigan, M. C., Martinko, J. M., and Parker, J., (2000) Biology of Microorganism. Prentice Hall, USA.
- [3] Cai Yan, 2001, Classification and salt tolerance of actinomycetes in the Qing hai lake water and lake side saline soil, Journal of sustainable Development, Vol 2, No.1

- [4] Ara, I., Matsumoto, A., Bakir, M. A., Kudo, T., Omura, S., and Takahashi, Y., (2008) *Actinomadura maheshkhaliensis* sp. No 01., a novel actinomycetes isolated from mangrove rhizosphere soil of Maheshkali, Bangladesh. J. Gen. Appl. Microbiol. 54 : 335-342.
- [5] Widyastuti, Y., and Ando, K., (2009), Taxonomic and ecological studies of yeast/ yeast like fungi and actinomycetes, Report of joint research between LIPI Indonesia and NITE Japan.