

Isolasi Antimikroba Baru dari Bakteri Tanah

Evi Damayanti^{1*}, Firdaus Hamid², Rizalinda Sjahril³

¹Program Pascasarjana Ilmu Biomedik, Universitas Hasanuddin

^{2,3}Bagian Mikrobiologi, Universitas Hasanuddin

Abstract:

*Antibiotics are ingredients that play 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 are more effective, have specific targets and have low toxicity. The aim of this study was to identify novel antimicrobial agents from soil bacteria. The method used in this research is exploratory. The test bacteria used were *S. aureus* and *P. aeruginosa*. The results showed that two isolates had zones of inhibition against the test bacteria *S. aureus*, namely isolates T2.2 and T2.18. The results of the first antimicrobial compound test for isolate T2.2 showed that the inhibition zone formed was 14.05 mm and for isolate T2.18 the inhibition zone formed was 11.96 mm. The antimicrobial compound test results from two untreated T2.2 isolates showed an inhibition zone of 15.53 mm and an inhibition zone of 12.46 mm for T2.18 isolates. The treated isolate T2.2 showed an inhibition zone of 15.46 mm and isolate T2.18 had an inhibition zone of 12.21 mm. The conclusion of this study was found bacteria that have antibacterial compounds that can inhibit the growth of *S. aureus*.*

Keywords: antimicrobial, soil bacteria, *staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa*

Pendahuluan

Antibiotik adalah bahan obat yang sangat memegang peranan penting dalam menanggulangi penyakit infeksi. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, dan mikroba. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh mikroba memiliki keunggulan dibandingkan dengan antibiotik sintetik, karena memiliki sifat yang lebih efektif, sebab targetnya spesifik serta toksisitasnya rendah (Andiarna et al., 2020).

Bakteri merupakan salah satu kelompok mikroba tanah yang banyak dikaji potensinya karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi,

diantaranya sebagai penghasil antibiotik. Andiarna et al (2020) menyatakan bahwa semua antibiotik yang telah ditemukan, dua pertiganya dihasilkan oleh kelompok actinomycetes dan bakteri. Antibiotik yang dihasilkan dari kelompok bakteri digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk kesehatan manusia, peternakan, hortikultura, dan agrobiologic lainnya (Takahashi & Nakashima, 2018)(al habib, I et al., 2017).

Semakin meningkatnya jumlah penyakit menular dan makin resistennya mikroba patogen terhadap obat-obatan yang ada, merupakan tantangan bagi industri farmasi dalam menyediakan produk antibiotik. Terbatasnya jumlah antibiotik merupakan masalah serius dalam pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh meningkatnya resistensi mikroba patogen terhadap antibiotik yang tersedia. Masalah resistensi pada mikroba tersebut berkembang seiring dengan penggunaan.

*corresponding author: Evi Damayanti
Program Pascasarjana Ilmu Biomedik, Universitas Hasanuddin
Email: evitamayanti1120@gmail.com
Submitted: 07-03-2022 Revised: 15-05-2022
Accepted: 07-06-2022 Published: 19-06-2022

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan tidak terkontrol telah mengakselerasi timbulnya strain mikroba yang bersifat resisten terhadap antibiotik yang biasa disebut dengan MDR (multi drug resistance) (van Duin & Paterson, 2016). Kekhawatiran yang muncul dalam penanganan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh strain MDR mendorong berbagai penelitian dalam mengeksplorasi mikroba untuk menghasilkan senyawa antibiotik yang baru (Terreni et al., 2021). Berdasarkan data penelitian bahwa tingkat kematian akibat penyakit infeksi masih relatif tinggi. Setiap tahun penyakit infeksi dapat menyebabkan kematian sekitar 3,5 juta orang per tahun (World Health Organization, 2018).

Sukmawati & Rosalina (2020) melakukan penelitian tentang isolasi bakteri pada tanah merupakan penghasil senyawa antimikroba yang hasilnya menunjukkan terdapat 2 (dua) isolat yang memiliki potensi menghasilkan senyawa dan aktivitas antibakteri ialah isolat 1 (satu) dan isolat 4 (empat). Isolat 1 (satu) memiliki potensi lebih dalam menghambat *Escherichia coli* dengan indeks hambat 4.0 mm bila disamakan dengan penghambatan *Staphylococcus aureus* dengan indeks hambat 3.1 mm. Sementara itu, isolat 4 lebih memiliki kemampuan menghambat *Staphylococcus aureus* dengan indeks hambat 2.8 mm jika disamakan dengan penghambatan terhadap *Escherichia coli* dengan indeks hambat 1.4 mm.

Upaya pencarian spesies bakteri yang baru sebagai penghasil antimikroba telah banyak dilakukan mulai dari tanah hutan, pertanian, perkebunan, sedimen, perairan tawar sampai perairan laut (Jagannathan et al., 2021). Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah mencari antimikroba yang lebih efektif dari antimikroba yang ada melalui sintesis atau isolasi dari sumber alami yang potensial (Smith, 2017). Antimikroba yang berasal dari alam tetap menjadi sumber yang menjanjikan untuk mendapatkan struktur antibiotik yang baru, meskipun perlu pendekatan baru untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri dari alam yang terfokus dari sumber tanah

hutan dan habitat-habitat yang masih alami (Das et al., 2018).

Kawasan hutan Nasional Bantimurung Bulussaraung merupakan habitat dari berbagai jenis flora, fauna, dan mikroorganisme. Daerah ini memiliki banyak potensi alam yang belum dieksplorasi. Kondisi lingkungan daerah ini sangat mendukung terhadap pertumbuhan berbagai mikroorganisme terutama kelompok bakteri. Pencarian isolat bakteri yang berbasis pada areal terestrial yang masih alami telah dilakukan untuk menghasilkan senyawa bioaktif baru berupa senyawa antimikroba (Mohamed et al., 2017), (Singh et al., 2018). Penelitian ini adalah mencari sumber yang baru untuk mengisolasi bakteri penghasil antimikroba di areal hutan Nasional Bantimurung Bulussaraung kabupaten Maros Sulawesi Selatan. Isolat bakteri lokal yang diperoleh, nantinya akan menjadi isolat yang potensial sebagai penghasil senyawa antimikroba.

Metode

Desain penelitian merupakan jenis penelitian deskriptif untuk memberikan gambaran bakteri yang diisolasi dari tanah, berupa eksperimen. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai Juni 2021. Pengambilan sampel di hutan Nasional Bantimurung Bulussaraung Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan dan pengujian sampel dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK). Pengambilan sampel tanah pada dua titik sebanyak 10 gram pada kedalaman 5 cm menggunakan pipa paralon. Instrumen pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, cawan petri, centrifugator, enkas, incubator, jangka sorong, Laminar Air Flow, lemari pendingin, pipet, Tip 1 µl, lidi steril, ose kolong, autoklaf, oven, paper disk, sentrifuge, shaker, mesin VITEK® MS, dan slide uji VITEK® MS. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan uji deskriptif.

Hasil

Data penelitian ini adalah data primer yang didapat dengan cara pengambilan data langsung.

Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan di dua titik yaitu titik 1 (-5.0183311,119.73063) dan titik 2 (-5.022229,119.737094). Titik 1 diperoleh 14 koloni murni dan titik 2 diperoleh 26 koloni murni. Koloni murni yang terpilih dikarakterisasi dengan mengamati bentuk koloni pada media NA, dengan mengamati ukuran, warna, bentuk, elevasi, margin, dan tekstur permukaan. Karakteristi isolat bakteri yang bervariasi mulai dari ukuran yang paling kecil, kecil, sedang, dan besar. Bentuk Spindle, irregular, circular, dan Filamentous. Elevasi rata dan cembung, permukaan halus, berkerut dan kasar. Tepi undulate, entire dan rhizoid dan warna putih dan putih transparan. Selain itu, dilakukan pula pengamatan dengan pewarnaan sel bakteri melalui pewarnaan Gram untuk menentukan kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri pada titik 1

dan titik 2 diperoleh 20 isolat bakteri gram negative, 8 isolat bakteri Gram positif, dan diperoleh 3 bakteri coccus.

Isolat murni yang terpilih akan diuji potensinya dengan menggunakan metode difusi yaitu paper disk. Mikroba uji yang bersifat patogen (*S. aureus* dan *P. aeruginosa*) diinokulasikan pada media NA masing-masing sebanyak 1 ml (10⁶ sel/ml) pada setiap cawan petri. Setiap cawan berisi tiga kertas saring atau paper disk dan satu kontrol, kemudian pada setiap paper disk ditetesi isolat uji yang terseleksi masing-masing sebanyak 0,1 µl. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona hambat yang terbentuk. Pada penelitian ini dilakukan dua kali pengujian senyawa antimikroba. Hasil uji senyawa antimikroba pertama dan kedua dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Hasil Uji Senyawa Antimikroba Pertama

Diameter zona hambat bakteri Uji <i>S. aureus</i> (mm)		
		Kontrol (<i>Cefoxitin</i>)
Isolat T2.2	14,05 mm	29,13 mm
Isolat T2.18	11,96 mm	29,16 mm

Sumber: Data primer

Tabel 2 .Hasil Uji Senyawa Antimikroba Kedua

Diameter zona hambat bakteri uji <i>S. aureus</i> (mm)			
	Kontrol (<i>Cefoxitin</i>)	Isolat T2.2	Isolat T2.18
Tidak Dipanasi	30,13 mm	15,53 mm	12,46 mm
Dipanasi	29,46 mm	15,46 mm	12,21 mm

Sumber: Data primer

Isolat T2.2 dan isolat T2.18 kemudian diidentifikasi menggunakan MALDI-TOF MS untuk mengetahui spesies kedua isolat tersebut. Hasil MALDI-TOF MS adalah Kedua isolat tersebut merupakan spesies bakteri *P. aeruginosa*.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mencari antimikroba baru yang diisolasi dari bakteri tanah.

Hasil isolasi bakteri tanah hutan Nasional Bantimurung Bulussaraung yang spot pengambilan sampel pada dua titik diperoleh 40 isolat murni. Empat puluh isolat murni ini dilakukan pengamatan morfologi koloni secara makroskopik dengan mengacu pada (Dini et al., 2018) Keempat puluh isolat murni memiliki karakter koloni yang beragam. Karakter koloni tersebut didasarkan pada ciri-ciri morfologi koloni yang terlihat. Warna koloni dari masing-

masing bakteri dari setiap spot penelitian adalah didominasi warna putih dan putih transparan. Bentuk dari masing-masing koloni terlihat bulat, tidak teratur, spindle, filamentous, dan rhizoid. Elevasi dari masing-masing koloni terlihat datar dan cembung. Permukaan koloni dari masing-masing koloni terlihat halus, kasar, dan berkerut. Ukuran dari masing-masing koloni terlihat kecil, sedang, dan besar. Selain pengamatan morfologi koloni maka dilakukan pula pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Hasil pengamatan diperoleh 20 isolat bakteri gram negatif, 8 isolat bakteri Gram positif, dan diperoleh 3 bakteri coccus.

Skrining bakteri tanah sebagai penghasil antimikroba dilakukan dengan pengujian terhadap mikroba patogen uji. Mikroba uji yang digunakan meliputi *S.aureus* dan *P. aeruginosa*. Metode yang digunakan untuk melakukan skrining terhadap 40 isolat murni yang berpotensi sebagai penghasil antimikroba adalah metode difusi (paper disk). Pada penelitian ini terdapat dua hasil uji senyawa antimikroba. Hasil uji senyawa antimikroba pertama dan kedua memiliki perbedaan, hal ini disebabkan pada pengujian senyawa antimikroba kedua adanya perlakuan (dipanasi dan tidak dipanasi) dengan tujuan untuk melihat kestabilan senyawa antibakteri yang dimiliki oleh kedua isolat.

Hasil uji senyawa antimikroba dengan menggunakan mikroba uji diperoleh dua isolat bakteri tanah yaitu isolat T2.2 dan isolat T2.18 yang mampu memberikan zona hambat pada pertumbuhan mikroba uji yang diberikan. Isolat T2.2 dan isolat T2.18 memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* dengan ditandai terbentuknya zona hambat di area paper disk, sedangkan pada mikroba uji *P. aeruginosa* tidak menghasilkan zona hambat. Hal ini berarti bahwa kedua isolat ini (T2.2 dan T2.18) memiliki aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus*. Berdasarkan (Ouchari et al., 2018) bahwa isolat mikroba yang menghasilkan zona bening disekitar pertumbuhan koloninya berpeluang besar menghasilkan

senyawa-senyawa aktif utamanya senyawa-senyawa antimikroba.

Kemampuan isolat bakteri dalam menghambat mikroba patogen uji dapat digolongkan menjadi dua yaitu bersifat bakterisidal dan bakteriostatik (Alwi et al., 2019). Kemampuan senyawa antibakteri yang baik adalah bersifat bakterisidal dan sensitif, yang digunakan karena dengan kedua sifat ini maka bakteri uji atau patogen yang digunakan lisis dan membentuk zona hambat yang tinggi meskipun dengan kuantitas antibakteri yang rendah. Aktivitas penghambatan terjadi melalui banyak mekanisme. Mekanisme kerja senyawa antimikroba dapat berupa: 1) penghambatan sintesis dinding sel yakni sintesis terganggu sehingga dinding sel menjadi kurang sempurna dan tidak tahan terhadap tekanan osmotik dari plasma sel, akibatnya dinding sel pecah dan lisis, 2) mengubah permeabilitas membran plasma dengan cara mengganggu sintesis molekul lipoprotein sehingga plasma sel dapat merembes keluar atau bocor, 3) menghambat sintesis protein sel dengan cara mengganggu proses translasi, 4) menghambat sintesis asam nukleat dengan cara mengganggu proses replikasi dan transkripsi, 5) penghambatan kerja enzim dalam sel yang dapat mengakibatkan metabolisme sel terganggu (Upadhy R et al., 2018).

Isolat T2.2 dan isolat T2.18 sebagai isolat yang memiliki senyawa antibakteri, dapat diketahui spesiesnya dengan menggunakan MALDI-TOF MS. Hal ini, dipercaya sebagai metode identifikasi yang cepat, spesifik, terpercaya, dan ekonomis. Prinsip kerja MALDI-TOF MS adalah protein fingerprint yaitu mengidentifikasi bakteri berdasarkan protein dan telah terbukti keakuratannya dalam berbagai penelitian sebelumnya oleh (Singhal et al., 2015) dalam sebuah percobaan MALDI-TOF MS mampu mengidentifikasi 95,1 % dari 327 isolat. Isolat T2.2 dan T2.18 merupakan spesies bakteri *P. aeruginosa*. *P. aeruginosa* menjadi salah satu keluarga bakteri yang paling bioaktif, lebih dari 600 senyawa bioaktif yang telah dilaporkan. *P.*

aeruginosa merupakan produsen antibiotik yang paling sering diisolasi dari lingkungan alami, dikarenakan dapat tumbuh dibanyak substrat dan sangat mudah untuk dibudidayakan. *P. aeruginosa* dianggap sebagai spesies antibakteri yang sangat produktif, yang dikenal dalam menghasilkan berbagai macam senyawa antibakteri (Ramkissoon et al., 2020).

Bakteri *P. aeruginosa* membentuk zona hambat terhadap bakteri uji *S. aureus* hal ini disebabkan bakteri *P. aeruginosa* memiliki agen antibakteri alami seperti 4-hydroxy-2-heptylquinoline (HQNO) yang menghambat rantai transport electron dari bakteri *S. aureus*. Adanya anti-staphylococcal dari *P. aeruginosa* tersebut mengeser *S. aureus* ke mode pertumbuhan, yang akhirnya menyebabkan penurunan viabilitas *S. aureus*. Aktivitas anti-staphylococcal *P. aeruginosa* pertama kali dijelaskan oleh Lightbown dan Jackson (1956), yang mengidentifikasi 4-hydroxy-2-heptylquinoline (HQNO) sebagai senyawa utama yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* yang menghambat system sitokrom beberapa bakteri termasuk *S. aureus* (Orazi & O'Toole, 2017).

Selain senyawa HQNO terdapat senyawa lain yang diproduksi oleh *P. aeruginosa* yaitu pyocyanin. Pyocyanin adalah salah satu dari banyak phenazine berpigmen yang diproduksi oleh *P. aeruginosa* dan faktor penting virulensi. Pyocyanin diproduksi selama pembentukan biofilm *P. aeruginosa*. Seperti HQNO, pyocyanin memblokir respirasi oksidatif dan menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Oleh karena itu, pyocyanin merupakan senyawa antagonis disekresikan untuk memberikan keunggulan kompetitif bagi *P. aeruginosa* dengan merugikan *S. aureus* dan bakteri gram positif lainnya (Zhao et al., 2020).

Kesimpulan

Ditemukan dua isolat yang memiliki zona inhibisi atau zona hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* tetapi masih tergolong kecil jika dibandingkan dengan kontrol positif.

Dapat dikatakan isolat dari bakteri *Staphylococcus aureus* berpotensi sebagai penghasil senyawa antimikroba. Dimana nantinya dapat dikembangkan menjadi antibiotik yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk kesehatan manusia, peternakan, hortikultura, dan agrobiologik. Dalam mengembangkan hasil dari penelitian ini diperlukan penelitian lebih lanjut dan perlu adanya kolaborasi antara para analis dan industri farmasi dalam pengembangannya.

Daftar Pustaka

- al habib, I. M., Sukanto, S. D., & Maharani, L. (2017). Potensi Mikroba Tanah Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Folium Jurnal Ilmu ...*, 1(1), 28–36. <http://www.riset.unisma.ac.id/index.php/faperta/article/view/1011>
- Alwi, M., Suharjono, T. A., & Subandi. (2019). The Potential of Actinomycetes from Rhizosphere *Eucalyptus deglupta* Blume. *Drug Invention*, 12(10).
- Andiarna, F., Irul, H., & Eva, A. (2020). Pendidikan Kesehatan tentang Penggunaan Antibiotik secara Tepat dan Efektif sebagai Upaya Mengatasi Resistensi Obat. *Journal of Community Engagement and Employment*, 2(1), 15–22.
- Das, R., Romi, W., Das, R., Sharma, H. K., & Thakur, D. (2018). Antimicrobial potentiality of actinobacteria isolated from two microbiologically unexplored forest ecosystems of Northeast India. *BMC Microbiology*, 18(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1215-7>
- Dini, I. R., Wawan, Hapsah, & Sriwahyuni. (2018). Isolation and Identification of Cellulolytic and Lignolytic Bacteria from the Gut *Oryctes rhinoceros* L. Larvae Decomposition of Oil Palm Empty Fruit Bunches. *Indonesian Journal of Agricultural Research*, 01(02), 193–203.
- Jagannathan, S. V., Manemann, E. M., Rowe, S. E., Callender, M. C., & Soto, W. (2021). Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products. *Marine Drugs*, 19(7). <https://doi.org/10.3390/md19070365>
- Mohamed, H., Zohra, F., Mohamed, H., Miloud, B., Garcia-Arenzana, J. M., Veloso, A.,

- Rodriguez-Couto, S., & Rodriguez-Couto, S. (2017). Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 6(2), 109–120.
- Orazi, G., & O'Toole, G. A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* alters *Staphylococcus aureus* sensitivity to vancomycin in a biofilm model of cystic fibrosis infection. *MBio*, 8(4), 1–17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00873-17>
- Ouchari, L., Boukeskase, A., Bouizgarne, B., & Ouhdouch, Y. (2018). Antimicrobial potential of Actinomycetes isolated from unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity Lahcen. *The Company of Biologists, Ccmm*.
- Ramkissoon, A., Seepersaud, M., Maxwell, A., Jayaraman, J., & Ramsuhag, A. (2020). Isolation and Antibacterial Activity of Indole Alkaloids from *Pseudomonas aeruginosa* UWI-1. *Molecules*, 25(16), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules25163744>
- Singh, V., Haque, S., Khare, S., Tiwari, A. K., Katiyar, D., Banerjee, B., Kumari, K., & Tripathi, C. K. M. (2018). Isolation and purification of antibacterial compound from *Streptomyces levis* collected from soil sample of north India. *PLoS ONE*, 13(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200500>
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Viridi, J. S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 6(AUG), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>
- Smith, M. (2017). Antibiotic Resistance Mechanisms. *Journeys in Medicine and Research on Three Continents Over 50 Years*, May 2017, 95–99. https://doi.org/10.1142/9789813209558_0015
- Sukmawati, & Rosalina, F. (2020). *Isolasi Antimikroba dari Tanah Sebagai Penghasil Senyawa*. Universitas Muhammadiyah Sorong.
- Takahashi, Y., & Nakashima, T. (2018). Actinomycetes, an inexhaustible source of naturally occurring antibiotics. *Antibiotics*, 7(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020045>
- Terreni, M., Taccani, M., & Pregnolato, M. (2021). New antibiotics for multidrug-resistant bacterial strains: Latest research developments and future perspectives. *Molecules*, 26(9). <https://doi.org/10.3390/molecules26092671>
- Upadhyaya R, K., Shenoy, L., & Venkateswaran, R. (2018). Effect of intravenous dexmedetomidine administered as bolus or as bolus-plus-infusion on subarachnoid anesthesia with hyperbaric bupivacaine. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 34(3), 46–50. <https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP>
- van Duin, D., & Paterson, D. L. (2016). Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(2), 377–390. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.004>
- World Health Organization. (2018). *Monitoring Health For The SDGs*.
- Zhao, X., Yu, Z., & Ding, T. (2020). Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria. *Microorganisms*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030425>