

# AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT ACTINOMYCETES DARI SAMPEL PASIR GUNUNG MERAPI DENGAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK

Wuri Wulandari<sup>1)</sup>, Triastuti Rahayu<sup>2)</sup>

Prodi Pendidikan Biologi FKIP UMS

E-mail korespondensi: [trias.wahyu@gmail.com](mailto:trias.wahyu@gmail.com)

**Abstrak**-Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri 10 isolat Actinomycetes dari sampel pasir Gunung Merapi menggunakan metode sumuran dan fermentasi terhadap bakteri *E.coli* multiresisten antibiotik dengan lama waktu fermentasi yang berbeda. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan yaitu lama waktu fermentasi (L) dan jenis isolat Actinomycetes (S). Masing-masing perlakuan dengan 2 kali ulangan. Isolat Actinomycetes tersebut difermentasi dalam kultur cair yang mengandung 2% manitol, 2% pepton, dan 1% glukosa selama 6, 7, dan 8 hari, pada suhu 28°C menggunakan shaker 50 rpm, selanjutnya diuji menggunakan metode sumuran terhadap *E.coli* multiresisten. Hasilnya ke 10 isolat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan diameter zona hambat bervariasi. Aktivitas antibakteri terkuat pada hari ke-6 pada isolat D (S4) dengan diameter zona hambat radikal 17,25 mm, pada fermentasi hari ke-7 pada isolat G (S8) dengan diameter zona hambat radikal 7 mm, dan pada hari ke-8 pada isolat A (S1) dengan diameter zona hambat radikal 10 mm.

**Kata kunci:** *Antibakteri, Actinomycetes, E.coli, Fermentasi*

## PENDAHULUAN

Bakteri resisten terhadap obat telah menyebabkan beberapa wabah infeksi yang serius dengan banyak kematian (Vandeppite, 2005), sehingga perlu terus dilaksanakan penelitian guna menemukan zat antibiotik baru yang dapat menghambat atau bahkan mematikan bakteri-bakteri yang telah resisten tersebut. Actinomycetes merupakan sumber terbesar antibiotika alami yang diketahui (Waluyo, 2009). Actinomycetes adalah bakteri gram positif aerob, tumbuh lambat dan membutuhkan temperatur sekitar 25<sup>o</sup>-37<sup>o</sup>C (Spicer, 2000), berukuran besar dengan kecenderungan untuk membentuk rantai atau filament

(Brooks, 2005), umumnya hidup di dalam tanah (Waluyo, 2009), banyak ditemukan di tanah berumput (rizosfer), juga di tempat-tempat ekstrim seperti daerah bekas letusan gunung berapi (Rahayu, 2010). Rahayu dkk (2010), berhasil mendapatkan 10 isolat Actinomycetes yang diisolasi dari sampel pasir vulkanik bekas letusan Gunung Merapi pada tahun 2010. Sepuluh isolat tersebut telah diuji potensi antibiotiknya menggunakan metode *agar block*, tetapi belum diuji menggunakan metode sumuran dan fermentasi.

Metode fermentasi memungkinkan meningkatnya konsentrasi zat metabolit sekunder Actinomycetes yang berpotensi

sebagai zat antibiotik. Penelitian yang dilakukan oleh Isnaeni (2005) menemukan bahwa Streptomisin standar menghasilkan Rf 0.15, sedangkan antibiotika dalam filtrat hasil fermentasi memberikan nilai Rf 0.65 terhadap *Bacillus subtilis*. Metode fermentasi dapat dilakukan dengan media cair yang mengandung 2% manitol, 2% pepton dan 1% glukosa (Lo *et al*, 2002).

Salah satu bakteri penyebab infeksi yang telah mengalami banyak resistensi antibiotik adalah *E.coli*. *E.coli* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (Gibson, 1996), infeksi luka (Supardi dan Sukanto, 1999), dan penyebab diare (Jawetz *et al.*, 2005). Agnisia (2012) menyatakan bahwa *E.coli* resisten terhadap beberapa jenis antibiotik diantaranya *tetrasiklin*, *kloramfenikol* dan *eritromisin*. Noviana (2004) menyatakan bahwa *E.coli* juga resisten terhadap golongan  $\beta$ -laktam (*penisilin*, *ampisilin*, *amoksilin*, *sulbenisilin* dan *oksasin*) dan golongan amino glikosida (*streptomisin*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji bagaimana aktivitas antibakteri 10 isolat Actinomycetes dari sampel pasir Gunung Merapi menggunakan metode sumuran dan fermentasi terhadap bakteri *E.coli* multiresisten antibiotik dengan lama waktu fermentasi yang berbeda.

#### METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi FKIP UMS. Penelitian ini dilaksanakan mulai September 2013-Juni 2014. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan yaitu lama waktu fermentasi (L) dan jenis isolat Actinomycetes (S), masing-masing perlakuan dengan 2 kali ulangan.

Proses penelitian diawali dengan subkultur isolat Actinomycetes pada media *oatmeal agar* yang kemudian diinkubasi

selama 14 hari pada inkubator dengan suhu 29°C. Kultur kemudian dipindahkan ke media cair untuk difermentasi selama 6, 7, dan 8 hari menggunakan *shaker* 50 rpm. Proses fermentasi menggunakan media cair yang mengandung 2% manitol, 2% pepton, dan 1% glukosa (Lo *et al*, 2002).

Hasil dari proses fermentasi kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *E.coli* multiresisten (Resisten terhadap *amoxilin*, *amoxy-clav acid*, *ampicilin*, *crytromycin*, *chloramphenicol*, *penicilin G*, *cefadroxil*, *cefixirn*, *ceftriaxon*, *cefuroxim*, *sulfamet-trimetropim*, *tetracyclilin*) berumur 24 jam. Pengujian menggunakan media *nutrient agar* dengan metode sumuran berdiameter 6 mm.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilaksanakan didapatkan hasil yang berbeda untuk setiap perlakuan. Aktivitas antibakteri isolat-isolat tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Isolat Actinomycetes dengan Lama Fermentasi yang Berbeda terhadap *E. coli* Multiresisten

Isolat	Waktu Fermentasi (hari)		
	6 (L1)	7 (L2)	8 (L3)
Rerata Diameter Zona Hambat (mm)			
S1	-	13 ir	10 r *
S2	-	-	11 ir
S3	8,75 ir	16,75 ir	11,5 ir
S4	17,25 ir*	13 ir	11,5 ir
S5	12,5 ir	15 ir	7 r
S6	13 ir	8 ir	7,5 r
S7	11 ir	7 r *	7 r
S8	15 ir	-	13,75 ir
S9	16,5 ir	11,25 ir	14 ir
S10	8,5 ir	-	-

Keterangan : r) zona hambat radikal, ir) zona hambat iradikal, \*) zona hambat tertinggi

Pada perlakuan fermentasi selama 6 hari isolat D (S4) memiliki aktivitas antibakteri paling kuat dengan diameter zona hambat iradikal 17,25 mm. Pada fermentasi selama 7 hari aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh isolat G (S8) dengan zona hambat radikal berdiameter 7 mm. Pada fermentasi hari terakhir yaitu hari ke 8, aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh isolat A (S1) dengan zona hambat radikal berdiameter 10 mm.

Actinomycetes merupakan sumber antibiotika alami terbesar yang diketahui (Waluyo, 2009). Actinomycetes adalah bakteri gram positif aerob, tumbuh lambat dan membutuhkan temperatur sekitar 250-370C (Spicer, 2000), berukuran besar dengan kecenderungan untuk membentuk rantai atau filament (Brooks, 2005), umumnya hidup di dalam tanah (Waluyo, 2009), banyak ditemukan di tanah berumput (rizosfer), juga di tempat-tempat ekstrim seperti daerah bekas letusan gunung berapi (Rahayu, 2010).

Penelitian sebelumnya aktivitas antibakteri 10 isolat dari sampel pasir Gunung Merapi menggunakan metode *agar block* terhadap *E.coli* multiresisten menunjukkan zona hambat radikal antara 7-12 mm (Fatchurrochman, 2010). Secara keseluruhan pengujian menggunakan metode sumuran menggunakan hasil fermentasi pada media cair menunjukkan penurunan aktivitas antibakteri dibandingkan dengan pengujian menggunakan metode *agar block*.

Penurunan aktivitas antibakteri ini disebabkan oleh banyak faktor. Faktor yang paling berperan adalah mekanisme dari biosintesis zat metabolit sekunder, zat yang dimanfaatkan sebagai antibiotik. Metabolit sekunder dibentuk melalui metabolisme sekunder, yaitu metabolisme yang melibatkan senyawa-senyawa organik spesifik dan terjadi sangat terbatas di alam.

Metabolit sekunder hanya ditemukan pada organisme spesifik, dan hanya diproduksi pada kondisi tertentu (Dewick, 1999). Metabolit sekunder adalah komponen *non esensial* bagi pertumbuhan suatu organisme. Jalur metabolisme sekunder ini hanya aktif pada saat-saat tertentu di antaranya selama periode cekaman yang diakibatkan oleh minimnya nutrisi atau serangan mikroba (Mann, 1987). Biosintesis metabolit sekunder dimulai di akhir fase *logarithmic* sampai akhir fase *stationary*, setelah proses pembelahan dan memperbanyak sel berhenti (Yarbrough *et al*, 1993).

Penurunan aktivitas antibakteri yang terjadi salah satunya disebabkan oleh waktu optimal produksi metabolit sekunder antara isolat satu dengan isolat lainnya berbeda, sehingga ketika diuji dengan lama fermentasi yang sama kesepuluh isolat memberikan hasil yang berbeda. Isolat yang menghasilkan zona hambat iradikal dimungkinkan belum telah melewati waktu optimal tersebut, sementara isolat yang membentuk zona hambat radikal sebaliknya dimungkinkan sedang mengalami fase produksi metabolit sekunder.

Senyawa metabolit sekunder juga dapat mengalami biodegradasi dan dimanfaatkan kembali pada masa germinasi oleh organisme penghasilnya (Wink, 1999). Hal ini juga bisa menjadi faktor yang menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas antibakteri. Pada kultur dengan nutrisi yang tetap, setelah melewati fase *stationary* jumlah sel bakteri akan berkurang akibat menurunnya jumlah nutrisi. Nutrisi yang semakin berkurang sementara aktivitas reproduksi sel masih berjalan dan yang tersedia hanya zat metabolit sekunder. Kondisi inilah yang memicu terjadinya biodegradasi zat metabolit sekunder sehingga bisa digunakan kembali untuk proses germinasi.

Faktor selanjutnya adalah zat metabolit sekunder dihasilkan dalam

jumlah yang sangat sedikit (hanya ng/g atau  $10^{-9}$ g/g bahan) (Sudiby, 1999). Hal ini membuat pengujian menggunakan metode difusi sumuran menjadi kurang efektif. Metode difusi sumuran menggunakan zat penguji yang berupa cairan. Zat cair memiliki susunan atom yang lebih bebas dibandingkan dengan zat padat. Ruang antar atom yang banyak membuat zat metabolit sekunder yang jumlahnya sangat sedikit tadi menjadi semakin terpisah-pisah. Kondisi ini membuat jumlah zat metabolit sekunder yang diujikan di dalam lubang sumuran menjadi semakin sedikit, sehingga hasil pengujian dalam penelitian menunjukkan adanya penurunan aktivitas antibakteri jika dibandingkan dengan metode *agar block*.

#### SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Isolat-isolat Actinomycetes dari sampel pasir Gunung Merapi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* multiresisten antibiotik. Aktivitas antibakteri terkuat pada hari ke 6 ditunjukkan oleh isolat D (S<sub>4</sub>) dengan diameter zona hambat iradikal 17,25 mm, pada fermentasi hari ke 7 oleh isolat G (S<sub>8</sub>) dengan diameter zona hambat radikal 7 mm, dan pada hari ke 8 ditunjukkan oleh isolat A (S<sub>1</sub>) dengan diameter zona hambat radikal 10 mm.

#### DAFTAR PUSTAKA

Agnisia, Sinarita. 2012. *Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L.) dan Siprofloksasin Terhadap Bakteria Escherichia coli dan Escherichia coli Multiresisten*. Skripsi. UMS.

Brooks, Geo. F. et al. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.

Brooks, Marianne S et al. 2012. *Changes in Cell Structure, Morphology and Activity of Streptomyces venezuelae during the Growth, Shocking and Jadomycin Production Stages*. J:3 Microbiology Biochemical Technology. Dalhousie University, Canada.

Dewick, P.M. 1999. *Medicinal Natural Products, a Biosynthetic Approach*. London: Wiley & Sons Ltd. England.

Gibson, J. M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*. Jakarta: EGC.

Isnaeni. 2005. *Bioautografi Antibiotika Hasil Fermentasi Mutan Streptomyces griseus ATCC 10137*. Majalah Farmasi Airlangga, Vol.5 No.1. Universitas Airlangga.

Jawetz, Ernest. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.

Lo, CW., Lai, NS., Cheah, HY., Wong, NKI. 2002. *Actinomycetes Isolated from Soil Samples from The Crocker Range Sabah*. ASEAN review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC), Juli-September 2002.

Mann J. 1987. *Secondary metabolism*. Oxford University Press, USA

Rahayu, T. dan Astuti, D.S. 2010. *Rare Actinomycetes dari Material Vulkanik Merapi sebagai Sumber Antibiotik Baru : Isolasi dan Karakterisasi*. Laporan penelitian, LP2M, UMS, Surakarta.

Spicer, W. John. 2000. *Clinical Bacteriology, Mycology and Parasitology*. Edinburgh: Churchill Livingstone.

Sudiby, RS. 1999. *A Secondary metabolism Inducer of Saccharopolyspora erythraea ATCC 11635*. Berkala Ilmiah Biologi, 2(8), 411-418. UGM

- Supardi, Imam dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan Pangan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Yayasan Adikarya Ikapi.
- Vandepitte, J. et.al. 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis*. Alih Bahasa: Lyana Setyawan. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Waluyo, Lud. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press.
- Wink, M. 1999. *Function of Plant Secondary Metabolites and Their Exploitation in Biotechnology*. Annual Plant Review, Vol.3.
- Yarbrough GG, Taylor DP, Rowlands RT, Crawford MS, Lasure LL. 1993. *Screening microbial metabolites for new drugs--theoretical and practical issues*. J Antibiotic (Tokyo) 46: 535-544.

## PETUNJUK BAGI PENULIS

1. Bioeksperimen menerima naskah artikel ilmiah dalam cakupan bidang ilmu murni dan terapan Biologi meliputi Botani, Zoologi, Lingkungan, dan Mikrobiologi dari pembaca yang belum pernah dipublikasikan pada media cetak lain.
2. Substansi naskah artikel dapat berupa artikel hasil penelitian, kajian atau telaah ilmiah kritis dan komprehensif atas isu penting dan terkini yang tercakup dalam pembedangan jurnal.
3. Naskah diketik pada kertas A4 dengan margin: atas 4 cm, kiri 4 cm, kanan 3 cm, dan bawah 3 cm. Naskah diketik dengan jarak 1.5 spasi dengan panjang naskah minimal 10 halaman A4 dengan format two columns dengan width: 6.5 cm dan spacing: 0.99 cm.
4. Naskah dapat diserahkan secara langsung pada dewan redaksi atau dikirim melalui email redaksi: [bioeksperimen@ums.ac.id](mailto:bioeksperimen@ums.ac.id) atau [bio.eksperimen@gmail.com](mailto:bio.eksperimen@gmail.com).
5. Judul artikel berbahasa Indonesia ditulis dengan spesifik dan efektif tidak lebih dari 12 kata sedangkan judul dalam bahasa Inggris tidak lebih dari 10 kata. Judul artikel hendaknya informatif, spesifik, ringkas, dan mengandung kata kunci yang mendeskripsikan isi naskah secara keseluruhan.
6. Penulis artikel ditulis dengan huruf Times New Roman 10 pt dan Bold dengan underline tanpa gelar dan tidak boleh disingkat. Jika penulis lebih dari satu, maka diberikan super script nomor yang nanti menunjukkan instansi asal penulis (jika penulis berasal dari instansi yang berbeda-beda).
7. Nama instansi, alamat, dan kode pos ditulis urut mulai dari penulis pertama dengan huruf Times New Roman 10 dan spasi 1.
8. Email korespondensi diisi alamat email korespondensi penulis yang aktif.
9. Abstrak ditulis dengan bahasa Inggris (jika ada) dan bahasa Indonesia. Abstrak terdiri 1 paragraf maksimal 200 kata. Abstrak bukan dalam bentuk ringkasan yang terdiri dari beberapa paragraf namun hanya terdiri dari 1 paragraf yang secara gam-blang, utuh, dan lengkap menggambarkan esensi isi keseluruhan tulisan meliputi latar belakang (isu-isu pokok), tujuan penelitian, metode/pendekatan penelitian, ha-sil penelitian, dan kesimpulan.
10. Kata kunci terdiri atas maksimal 5 kata, dipisahkan dengan tanda koma baik untuk berbahasa Inggris maupun bahasa Indonesia.
11. Isi naskah hasil penelitian ditulis menurut sistematika sebagai be-rikt: (1) Pendahuluan: berisi latar belakang masalah dan tujuan penelitian, tinjauan pustaka yang relevan dengan permasalahan yang diteliti (15-20% dari total panjang artikel); (2) Metode Penelitian: berisi paparan dalam bentuk paragraf yang berisi waktu dan tempat penelitian, rancangan, bahan/subyek penelitian, prose-dur/teknik pengumpulan data, instrumen, dan teknik analisis data (10-15% dari total panjang artikel); (3) Hasil dan Pembahas-an: berisi hasil analisis yang merupakan jawaban dari pertanya-an/permasalahan penelitian

sedangkan pembahasan menekankan pada hubungan antara interpretasi hasil dengan teori yang digunakan; serta (4) Simpulan, saran, dan rekomendasi: dipaparkan dalam bentuk paragraf temuan-temuan penelitian yang merupakan jawaban dari rumusan masalah.

12. Daftar pustaka berisi sumber-sumber yang digunakan sebagai rujukan dalam penelitian. Sumber rujukan minimal 80% dari pustaka terbitan 10 tahun terakhir. Referensi yang digunakan merupakan sumber primer berupa artikel yang ada dalam jurnal ilmiah atau laporan penelitian (skripsi, tesis, disertasi). Daftar pustaka ditulis urut abjad dengan font Times New Roman 12, spasi 1, indentation special hanging by 0.25" after 12 pt. Kaidah penulisan daftar pustaka mengikuti kaidah APA (American Psychological Association) sebagai berikut:

a. Untuk sitasi buku

Amri, S. (2010). *Proses Pembelajaran Kreatif dan Inovatif dalam Kelas*. PT. Pustaka Karya: Jakarta.

b. Untuk sitasi jurnal dengan satu atau lebih author

Ariani, R.P., I.B.N., Sudria, N.M., Warsiki., Made, M., I.K., Widiadnyana., M., Sudarwati. (2005). *Optimalisasi Pembelajaran Kecakapan Hidup Tentang Peningkatan Produksi Pangan pada Siswa Kelas III SMP Negeri 2 Singaraja*. *Jurnal Pendidikan dan Pengajaran IKIP Negeri Singaraja*. XXXVIII :922-934.

c. Untuk bagian tulisan yang diedit oleh seseorang

Bjork, R.A.(1988). *Retrieval inhibition as an adaptive mechanism in human memory*. In H.L. Roediger III & F.I.M. Craik (Eds), Varieties of memory & consciousness (pp. 309-330). Hillsdale, NJ: Erlbaum.

d. Untuk sitasi dari laporan atau tesis

Agustina, P. 2010. *Upaya Meningkatkan Kemampuan Afektif Siswa Kelas X-1 SMA Negeri 3 Surakarta Melalui Penerapan Strategi Active Knowledge Sharing disertai Modul Hasil Penelitian pada Pokok Bahasan Zigomycotina* Skripsi. Tidak Diterbitkan. Surakarta: FKIP UNS.

e. Untuk jurnal yang diperoleh dari internet

VandenBos, G., Knapp, S., & Doe, J. (2001). *Role of reference elements in the selection of resources by psychology undergraduates [Electronic version]*. *Journal of Bibliographic Research*. 5, 117-123.