

Isolasi Bakteri Penghasil Antibiotik dari Tanah Sawah Naen Kabupaten Timor Tengah Utara

Adelya Manalu¹, Lukas Pardosi^{1*}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, TTU – NTT, Indonesia, email*: lukaspardosi51@gmail.com

Article Info

Article history:

Received: 12 Mei 2022

Received in revised form: 25 Mei 2022

Accepted : 16 Juni 2022

DOI: <https://doi.org/10.32938/slk.v5i1.1780>

Keywords:

Isolasi

Bakteri tanah

Antibiotik

Abstrak

Tanah merupakan habitat hewan kecil dan mikroorganisme. Mikroorganisme yang paling melimpah jumlahnya di tanah adalah bakteri tanah yang digunakan pada penelitian merupakan tanah yang diperoleh dari tanah sawah di Naen, Kabupaten Timor Tengah Utara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik isolat bakteri yang didapatkan dari tanah sawah tersebut yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik. Sampel tanah sawah diambil dengan kedalaman sekitar 15 cm dari permukaan tanah kemudian dikultur dalam media *Nutrient Agar* dengan pengenceran bertingkat, kemudian dilakukan pengamatan pertumbuhan dan morfologi koloni. Setelah itu, dilakukan uji aktivitas antibiotik terhadap bakteri *S. aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 6 isolat bakteri dengan hasil makroskopis sebagian besar berbentuk *irregular* dan 1 isolat berserabut. Terdapat 4 isolat bakteri yaitu STS1, STS3, STS4, dan STS6 memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. aureus*.

1. Pendahuluan

Tanah merupakan habitat hewan-hewan kecil dan mikroorganisme. Tanah sawah adalah tanah yang digunakan untuk bertanam padi di sawah, baik terus-menerus sepanjang tahun maupun bergiliran dengan tanaman palawija (Hardjowigeno dan Rayes, 2004). Mikroba penghasil antibiotik kebanyakan diperoleh dari mikroba tanah. Hubungan antar mikroorganisme di dalam tanah dapat berupa netralisme, kompetitif bahkan antagonisme. Hubungan antagonisme inilah yang sebenarnya menguntungkan bagi kehidupan manusia, karena dengan adanya antagonisme dimungkinkan suatu jenis mikroorganisme menghasilkan zat anti mikroba yang dapat menghambat kehidupan mikroorganisme jenis lain. *Actinomycetes* adalah bakteri yang banyak ditemukan di tanah dan juga sedimen, yang sangat bermanfaat karena dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif. Selama lebih dari 70 tahun, aktinomisetes (ordo Actinomycetales) telah diakui sebagai sumber penting bagi senyawa bioaktif alami. Dari sekitar 18.000 senyawa bioaktif bakteri yang dikenal saat ini, lebih dari 10.000 diketahui dihasilkan oleh aktinomisetes dari genus *Streptomyces* (Berdry et al., 2012). Banyak antibiotik komersial, seperti tetrasiklin, eritromisin, vancomisin, dan streptomycin, berasal dari metabolisme sekunder aktinomisetes (Weber et al., 2015).

Telah banyak penelitian yang dilakukan tentang mikroorganisme penghasil antibiotik. Diantaranya adalah penelitian tentang isolasi bakteri dari tanah sawah sebagai penghasil antibiotik (Fitriani et al., 2016). Pujiati (2014) berhasil mengisolasi *Actinomycetes* dari tanah pekarangan. Ratnakomala, et al. (2016) telah melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa tanah di daerah pesisir pantai pulau Enggano terdapat *Actinomycetes* genus *Streptomyces* dan *Dermacoccus* yaitu 7 isolat dimana 1 isolat mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji gram negatif *E. Coli* sedangkan 6 isolat lainnya menghambat bakteri gram positif *S. aureus*. Penelitian Ambarwati dan Gama (2009) melaporkan bahwa *Actinomycetes* dapat diisolasi dari tanah sawah yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik dengan spektrum kerja menghambat bakteri gram positif.

Hal itu mendorong untuk dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi isolat bakteri dari tanah sawah di daerah Naen Kabupaten Timor Tengah Utara sebagai penghasil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*.

2. Metode

2.1 Pengambilan Sampel Tanah

Sampel diambil dari tanah sawah di Naen, Kabupaten Timor Tengah Utara. Pengambilan sampel tanah sawah dilakukan dengan sistem diagonal (Ardiwinata, 2007). Tanah diambil dengan cara digali dengan menggunakan tajak pada kedalaman ±15 cm. Sampel tanah yang sudah diambil kemudian disimpan di dalam plastik klip.

2.1 Isolasi Bakteri

Sampel seberat 0,1 g ditimbang menggunakan timbangan analitik, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL aquades steril. Tabung reaksi yang sudah diisi oleh sampel tanah ditutup dengan menggunakan sumbat, kemudian dihomogenkan. Sampel tanah lalu diambil secara aseptis sebanyak 1 mL dengan menggunakan pipet volumetrik. Kemudian dilakukan pengenceran berseri 10^{-0} sampai 10^{-6} . Hasil pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-6} diambil sebanyak 1 mL dan diinkubasi dengan metode agar sebar (*spread plate*) kemudian diinkubasikan. Dilakukan pengamatan pertumbuhan dan morfologi koloni yang tersebar di permukaan agar, sebagai kultur campuran antara lain pengamatan terhadap bentuk, elevasi, warna, tepi dan ukuran.

2.2 Uji Aktivitas Antibiotik

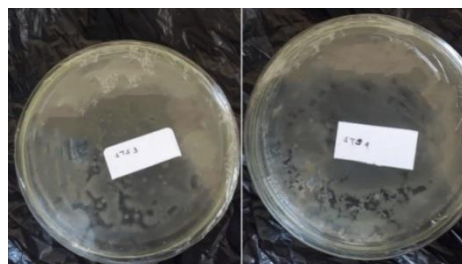
Deteksi tepi Biakan bakteri uji ditanam pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA), kemudian kertas cakram dengan diameter 0,55 cm dicelupkan ke dalam suspensi isolat bakteri. Kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media dan biakan tersebut, lalu diinkubasi pada

suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram diukur menggunakan penggaris.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi

Isolasi bakteri yang diperoleh pada penelitian ini berasal dari tanah sawah yang telah selesai masa panen, sehingga tanah yang diambil memiliki konsistensi yang semipadat. Sampel tanah ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* dengan terlebih dahulu membuat pengenceran bertingkat. Tujuan dilakukan pengenceran untuk memperkecil jumlah bakteri yang akan diisolasi. Isolasi bakteri dilakukan terhadap pengenceran dari pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} dikarenakan pada pengenceran setelahnya bakteri tidak tumbuh (Gambar 1). Berdasarkan teori menurut Dewi (2008), isolasi bakteri merupakan pengambilan atau memindahkan mikroba dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan. Medium yang dipilih harus sesuai dengan kebutuhan nutrisi dari bakteri yang akan diisolasi. Medium *Nutrient Agar* dipilih karena tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri secara umum.



Gambar 1. Hasil isolasi mikroba tanah pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4}

Setelah dilakukan isolasi, selanjutnya tahapan pemurnian. Pemurnian isolat bertujuan untuk mendapatkan biakan murni, pada penelitian ini pemurnian isolat dilakukan sebanyak empat kali sehingga diperoleh isolat yang benar-benar murni, isolat yang diperoleh sebanyak 6 isolat. Pengamatan morfologi pada isolat dilakukan secara makroskopis yaitu dengan mengamati bentuk koloni, bentuk tepi koloni, ukuran koloni dan warna koloni (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pengamatan isolat bakteri secara makroskopik

Isolat	Ukuran	Warna	Bentuk Koloni	Tepi	Elevasi
STS 1	Kecil	Putih	Bundar	rata	datar
STS 2	Sedang	Putih	Tidak teratur	Bergelombang	Cembung
STS 3	Kecil	Putih	Bundar	Bergelombang	Cembung
STS 4	Sedang	Putih	Tidak teratur	Bergelombang	Cembung
STS 5	Besar	Putih	Tidak teratur	Bergelombang	Cembung
STS 6	Besar	Putih	Berserabut	Lobate	Cembung

3.2 Uji Aktivitas Antibiotik

Pengujian aktivitas antibiotik bertujuan untuk mengetahui aktivitas isolat bakteri terhadap bakteri uji. Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Pengujian dilakukan pada isolat yang diperoleh dari hasil pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} sampel tanah sawah terhadap *S.aureus* dikarenakan pengenceran setelahnya tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Kemampuan isolat sebagai penghasil antibiotik dapat dilihat dari diameter zona bening yang merupakan parameter potensi isolat tersebut dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus* (Gambar 2). Diameter zona bening yang dihasilkan pada masing-masing isolat memiliki perbedaan, hal ini terjadi karena terdapat jenis senyawa antibiotik yang berbeda (Handayani, 2020).



Gambar 2. Zona bening yang dihasilkan oleh isolat

Dari 6 isolat yang diperoleh, terdapat 4 isolat yaitu STS1, STS3, STS4, dan STS6 yang memiliki daya hambat terhadap *S.aureus*. Isolat STS 4 memiliki zona bening yang paling besar dibandingkan dengan isolat lainnya (Tabel 2). Hal ini sejalan dengan penelitian Fitriani, *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa dari 15 isolat yang diperoleh, terdapat 1 isolat yaitu 2CT yang memiliki aktivitas terhadap bakteri uji.

Tabel 2. Hasil Uji aktivitas antibiotik isolat terhadap *S.aureus*

Isolat	Diameter Zona bening(cm)
STS 1	0,1
STS 2	-
STS 3	0,1
STS 4	1,1
STS 5	-
STS 6	0,6

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji dapat diasumsikan sebagai akibat adanya senyawa antibakteri yang disekresikan oleh isolat pada media agar. Semakin banyak senyawa anti bakteri yang disekresikan ke media, semakin besar diameter zona hambatnya (Susilowati *et al.*, 2007).

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi tanah sawah didapatkan 6 isolat dengan karakterisasi morfologi koloninya sebagian besar irregular dan terdapat 1 isolat yang berserabut. Dari 6 isolat tersebut, 4 isolat menghasilkan zona bening, dan isolat STS4 memiliki zona bening yang paling besar dibandingkan dengan isolat lainnya.

Pustaka

- Ambarwati dan Gama, A. 2009. Isolasi Actinomycetes Dari Tanah Sawah Sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 10 (2): 101 – 111.
- Ardiwinata, A. S. 2007. Petunjuk Teknis Analisis Residu Pestisida. *Balai Penelitian Lingkungan Pertanian*, Pati
- Berdy J. 2012. Thoughts and Facts about Antibiotics: Where We are Now and Where We are Heading. *The Journal of Antibiotics* 65, 385–395.
- Fitriani., Meylina, L dan Rijai, L. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil antibiotik Dari Tanah Sawah. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-4*.
- Handayani, G.N., Zulfati. 2020. Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika dari Pasir Pantai Lemo-Lemo Kabupaten Bulu kamba dalam Menghambat Beberapa Bakteri Patogen. *Jurnal Kesehatan Vol 13 No 1 (2020)*.
- Hardjowigeno, S. dan M. L. Rayes. 2005. *Tanah Sawah Karakteristik, Kondisi dan Permasalahan Tanah Sawah di Indonesia*. Bayumedia Publishing. Malang.
- Pujiati. 2014. Isolasi Actinomycetes Dari Tanah Kebun sebagai Bahan Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. *Jurnal Florea Volume 1 No. 2, Nopember 2014 (42-46)*.
- Ratnakomala, S., Apriliana, P., Fahrurrozi., Lisdiyanti, P., dan Kusharyoto, W. 2016. Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes Laut Dari Pulau Enggano. *Berita Biologi* 15(3).
- Susilowati DN, RD Hastutidan E Yuniarti. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Aktinomisetes Penghasil Antibakteri Enteropatogen Escherichia coli K1. 1, Pseudomonas pseudomallei 02 05, dan Listeria monocytogenes 5407. *Jurnal Agro Biogen* 3(1), 15-23.
- Weber T, P Charusanti, EM Musiol-Kroll, X Jiang, Y Tong, HU Kim and SY Lee. 2015. Metabolic Engineering of Antibiotic Factories: New Tools for Antibiotic Production in Actinomycetes. *Trends in Biotechnology* 33 (1), 15-26.