Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam
Vol. 3, No. 1, Th. 1994 ISSN : 0853 - 0033

ISOLASI BAKTERI DAN JAMUR TANAH PENGHASIL ANTIBIOTIKA

Helmi Arifin
Staf Pengajar Jurusan Farmasi FMIPA Unand

ABSTRACT

The isolation of soil microorganism producing antibiotics found in soil sample at the "Gunung Padang" West Sumatera have been conducted, by inoculating the diluted sample into Nutrient Agar and Potato Dextrose Agar media.

Eventually three colonies of microorganism which produce some substances that inhibit the growth of other microorganism in their sorrounding, were identified as Gram negative bacil, *Penicillium sp.* and *Aspergillus sp.*

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit infeksi di Indonesia masih menduduki urutan teratas, sehingga dibutuhkan biaya penanggulangan yang relatif besar terutama untuk pengadaan obat-obat dari golongan antibiotika (Sukandar, E.Y., 1987, Dhanutirto,H.,1987). Padahal Indonesia sendiri punya potensi dan kaya akan sumber alam untuk memproduksi bahan baku antibiotika tersebut. Kekurangmampuan Indonesia dalam hal pengadaan bahan baku antibiotika ini disebabkan penelitian yang intensif kearah itu belumlah banyak dilakukan. Dilain pihak, negara-negara maju seperti Amerika Serikat, Jerman dan Jepang sudah lama melakukan penelitian yang intensif untuk pengadaan bahan baku antibiotika ini. Ternyata hampir semua antibiotika yang telah ditemukan saat ini dihasilkan oleh mikroba tanah, yaitu golongan actinomycetes, jamur dan bakteri (Sukandar,E.Y., 1987,Dhanutirto,H.,1987,Alexander,M.,1987,Crueger,W.,1984, Hemzairil,E.S.,1987).

Pada daerah hutan pegunungan banyak tertimbun dedaunan, hewan-hewan yang mati dan sisa berbagai bahan organik lainnya. Di dalam tanah mikroba berperan penting dalam proses dekomposisi bahan- bahan organik tersebut. Karena begitu padatnya populasi mikroba di dalam tanah, akan

terjadi persaingan. Untuk mempertahankan diri dari serangan mikroba lain biasanya suatu mikroba akan memproduksi zat toksin yang dapat membunuh dan atau menghambat pertumbuhan mikroba lain disekitarnya. Zat toksin yang dihasilkan oleh mikroba tersebut dikenal dengan antibiotika (Hemzairil,E.S.,1987,Rehm,H.J.,1985, Norris,J.R.,1981).

Bertitik tolak dari hal di atas terutama untuk menggali sumber alam Indonesia untuk pengadaan bahan baku antibiotika ataupun mencari antibiotika baru maka menarik untuk dilakukan penelitian pendahuluan tentang penapisan mikroba tanah penghasil antibiotika di berbagai kawasan hutan di Indonesia yang banyak mengandung populasi mikroba. Pada penelitian ini dicoba untuk mengisolasi bakteri dan jamur tanah penghasil antibiotika di kawasan Gunung Padang Sumatera Barat.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memecahkan persoalan pembangunan dibidang kesehatan terutama dalam pengadaan bahan baku antibiotika untuk mengobati berbagai penyakit infeksi, agar ketergantungan akan bahan baku antiboitika kepada negara lain dapat dikurangi atau ditiadakan.

METODOLOGI PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

1). Alat-alat gelas (berupa cawan petri, test tube, gelas ukur, beker gelas, erlenmeyer, deg gelas dan objek gelas), autoclave, inkubator, lemari es, mikroskop, Spectronic 20 dan alat lain yang sering digunakan di Laboratorium mikrobiologi.

2). Bahan-bahan berupa medium perbenihan Nutrient Agar (Oxoid), Potatos Dextrose Agar (Difco), Nutrient Broth (Oxoid), TSIA (Oxoid), Simon sitrat (Oxoid), Larutan NaCl fisiologis steril (Otsuka), Air suling steril dan beberapa zat untuk pewarnaan.

b. Prosedur Penelitian

1). Pengambilan sampel kelapangan

Sampel diambil secara acak di 20 lokasi dengan kedalaman 10 - 15 cm dari permukaan tanah.

2). Pengerjaan sampel di laboratorium

Pengerjaan sampel tanah di laboratorium dilakukan secara aseptis. Masing-masing sampel tanah dibersihkan dari partikel-partikel kasar, diaduk homogen, lalu dilakukan penapisan dengan larutan fisiologis steril mulai 1×10^{-1} s/d 1×10^{-9}. Semua hasil penapisan tersebut ditanam masing-masing 0,5 ml dalam medium padat Nutrient Agar (NA) dan Potato Dekstrose Agar (PDA) selama 2 sampai 7 hari. Selama masa inkubasi setiap harinya dilakukan mengamatan pada petri yang mana dijumpai koloni yang mempunyai daerah hallow (bening) sebagai pertanda dihasilkannya antibiotika. Koloni yang mempunyai daerah hallow trsebut dilakukan pemurnian berulang-ulang sampai didapatkan biakan murni. Biakan yang sudah murni dilakukan identifikasi yang meliputi pengamatan morfologi koloni, pewarnaan dan mortilitas sel serta beberapa reaksi biokimia lainnya.

Aktifitas antibiotika yang dihasilkan oleh mikroba dengan umur biakan 3-7 hari dalam medium cair dilakukan terhadap 3 mikroba uji yaitu *Bacillus cereus* (wakil bakteri Gram positif), *Enterobachter aerogenes* (wakil bakteri Gram negatif) dan *Rhyzopus sp.* (wakil jamur). Pengujian dilakukan dengan metode defusi agar sistem samur. Besarnya diameter daerah hambatan terhadap mikroba uji merupakan aktifitas antibiotika yang diuji.

HASIL DAN DISKUSI

Setelah dilakukan penapisan mikroba dari sampel tanah yang diambil dari daerah kawasan Gunung Padang Sumatera Barat diperoleh tiga bentuk koloni bakteri dan jamur yang menghasilkan antibiotika yang ditunjukkan dengan adanya daerah bening (Hallow zone) di sekeliling koloni tersebut. Daerah bening yang terbentuk ini diindikasikan bahwa bakteri dan jamur tersebut mengeluarkan zat toksik (antibiotika) ke dalam medium yang dapat menghalangi atau membunuh mikroba sekitarnya (Hemzairil,E.S.,1987,Akmal,1993).

Dalam melakukan pembiakan bakteri dan jamur tanah untuk isolasi ini banya menggunakan medium Potato Dextrose Agar dan Nutrient Agar, karena kedua medium ini merupakan medium yang umum untuk pertum-

buhan jamur dan bakteri, disamping itu mikroba tanah yang akan ditapis belum diketahui jenisnya sehingga cukup digunakan medium umum saja (Akmal,Cs,1993).

Hasil kerja penapisan pendahuluan ternyata pertumbuhan yang baik untuk melihat daerah bening disekitar koloni mikroba tersebut adalah pada penipisan 10^{-3}, dimana pada konsentrasi tersebut terlihat jelas adanya beberapa koloni bakteri dan jamur yang mempunyai daerah bening di-sekelilingnya. Untuk pengerjaan selanjutnya hanya dipakan penipisan 10^{-3}.

Pemurnian bakteri dan jamur ini perlu dilakukan berulang-ulang agar diperoleh hasil biakan yang betul-betul murni. Setelah diperoleh kultur murni yang disimpan di dalam biakan agar miring dan diremajakan setiap minggu, kemudian dilanjutkan identifikasinya.

Dari hasil identifikasi dengan pengamatan secara makroskopis melihat penampilan koloni (bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, permukaan koloni dan warna koloni) dan dilanjutkan dengan pemeriksaan secara mikroskopis baik secara segar maupun dengan pewarnaan ternyata dua koloni merupakan golongan jamur dan satu koloni golongan bakteri.

Tabel 1 : Pengamatan Koloni Bakteri dan Jamur Penghasil Antibiotika

Kode Biakan	Yang Diamati				
	Bentuk Koloni	Tepian Koloni	Elevasi Koloni	Permukaan Koloni	Warna Koloni
A-7	Tidak Teratur	Berombak	Seperti Tombol	Idak rata	Putih kemerahan
B-6	Kompleks	Seperti Benang	Berbukit	Tidak rata Buram	Hijau Lumut
D-2	Kompleks	Seperti Benang	Berbukit	Tidak rata	Hitam

Untuk golongan jamur setelah pemeriksaan secara makroskopis (penampilan koloni) maupun secara mikroskopis preparat segar dan dibandingkan dengan beberapa literatur ternyata kedua golongan jamur tersebut masing-masing *Penicillium sp.* dan *Streptomyces sp.* (Tabel 1 dan Tabel 2).

Tabel 2 : Pengamatan Mikroskopis Bakteri dan Jamur Penghasil Antibiotika

No.	Kode Biakan	Pengamatan Mikroskopis	Motilitas	Keterangan
1	A-7	sel bentuk batang jarang, tunggal, berkelompok, dan tidak beraturan	agak motil	Bentuk batang Gram negatif
2	D-6	hyfa bersekat, mycelium bercabang dan konidia uniseriat	-	Penicillium (tidak dilakukan)
3	D-2	Hifa seperti akar (rizoid), sporangiofor,stolon, miselium tidak bersekat	-	Aspergiulus (tidak dilakukan)

Untuk golongan bakteri dilanjutkan dengan pewarnaan Gram, ternyata termasuk golongan bakteri berbentuk batang Gram negatif (Tabel 2). Kemudian dilanjutkan lagi dengan pengujian secara biokimia dengan TSIA, Agar setelah padat, Simon sitrat ternyata menunjukkan reaksi positif terhadap ketiga indikator tersebut (Tabel 3). Dari pengamatan secara makroskopis (penampilan koloni) dan mikroskopis (pergerakan, pewarnaan) serta uji biokimianya, koloni bakteri hanya baru bisa dilaporkan termasuk golongan Gram negatif berbentuk batang.

Dari hasil uji aktivitas antibiotika yang dihasilkan oleh bakteri dan jamur hasil isolasi dengan menggunakan mikroba indikator *Enterobacter aerogenes*., *Bacillus sereus* dan *Rhyzopus sp.*, ternyata antibiotika dari bakteri hasil isolasi punya aktivitas sedang terhadap *Enterobacter aerogenes* dan aktivitas lemah terhadap *Bacillus sereus* dan *Rhyzopus sp.* Antibiotika dari *Penicillium sp.* punya aktivitas lemah terhadap *Enterobacter aerogenes*, aktivitas kuat terhadap *Bacillus sereus* dan tidak punya aktivitas terhadap

Tabel 3 : Identifikasi Biokimia Bakteri dan Jamur Penghasil Antibiotika

Kode Biakan	TSIA				SC	SS
	A	Alk	AG	H_2S		
A-7	+	-	-	-	+	+

Keterangan :

TSIA : Triple Sugar Iron Agar
SC : Simmon Sitrat
SS : Semi Solid
A (+) : Terbentuknya asam, ditandai dengan perubahan warna indikator fenol merah menjadi kuning
Alk (+) : Medium bersifat basa
AG : Adanya Gas (gelembung
H2S : Adanya warna hitam pada medium TSIA
SC (+) : Terjadinya perubahan warna indikator biru bromtimol dari hijau menjadi biru
SS (+) : Terjadinya pergerakan

Tabel 4 : Uji Aktifitas Antibiotika dari Bakteri dan Jamur Hasil Isolasi Terhadap Beberapa Mikroba Indikator

No.	Kode Biakan	Rata-rata Diameter Hambatan (mm)		
		E. aerogenes	*B. sereus*	*Rhyzopus sp.*
1	A-7	12,00	9,00	8,5
2	B-6	8,25	10,00	0,0
3	D-2	15,25	11,50	0,0

Keterangan

Aktifitas kuat : diameter hambatan > 20 (mm)

Aktifitas sedang	: diameter hambatan	10	>	20	(mm)
Aktifitas lemah	: diameter hambatan	> 6	-	10	(mm)
Tidak ada aktifitas	: diameter hambatan		0		(mm)
diameter sumur	: diameter hambatan		6		(mm)

Rhyzopus sp. Antibiotika dari *Aspergilus sp.* punya aktivitas sedang terhadap *Enterobacter aerogenes* dan *Bacillus sereus* dan tidak punya aktivitas terhadap *Rhyzopus sp.* (Tabel 4).

Karena penelitian ini baru tingkat pendahuluan maka perlu dilanjutkan lagi identifikasi sampai didapatkan spesiesnya.

DAFTAR PUSTAKA

Akmal, Helmi,A., Hendri, *Penelitian Pendahuluan Penapisan Mikroorganisme Tanah yang dapat Menghasilkan Senyawa Antibiotika dari Sampel Tanah di Kawasan Hutan Raya Bung Hatta Padang*, Majalah Farmasi Indonesia, 4(3),107-122 (1993).

Alexander,M., *Introduction to Soil Microbiology*, 2nd Ed. John Willey & Sons, New York, 1987.

Crueger,W., and A. Crueger, *Biotechnology : A Text Book of Industrial Microbiology*, Translated by C. Heassly and T.D. Brock, Science Tech., Inc., Medison, 1984.

Dhanutirto,H., *Produksi antibiotika di Indonesia*, Kumpulan Makalah Seminar Nasional Antibiotika, Bandung, 1987.

Hemzairi,E.S., Sutejo,R., Soedigdo,P., *Isolasi Mikroorganisme Tanah yang Memiliki Aktivitas Antibiotika*, Laporan Penelitian Hibah Bersaing, PAU Bioteknologi ITB Bandung, 1987.

Norris,J.R., and M.H. Richmond (Ed.)*Assay in Applied Microbiology*, John Willey & Sons, Chicherter, New York, Brisbane, Toronto, 1981.

Rehm,H.J., and G. Read, *Biotechnology Microbiology Fundamental*, Vol.1, Verlag Chemie, Weinhem, 1985.

Sukandar,E.Y., *Isolasi Antibiotika-Antifungi dari Streptomyces Indonesiensis ATCC 35859*, Disertasi Program Doktor, Institut Teknology Bandung, Bandung, 1987.