

**PENAPISAN BAKTERI LAUT PENGHASIL
ANTIMIKROBA DARI PESISIR SERDANG BEDAGAI
SUMATERA UTARA**
**(The Screening of Marine Bacteria of Producing
Antimicrobial from Coastal Area of Serdang Bedagai North
Sumatera)**

Syafrina Sari Lubis
Prodi Biologi, UIN Ar-Raniry, Banda Aceh, Indonesia
sarisyafrina@yahoo.com

Abstract: Screening of marine bacteria producing antimicrobial was done. Thirty six potential isolates shown antimicrobial activity inhibition zone around colony. Antagonistic assay showed that three isolates SB5, BG3 and BG4 inhibited growth of *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, *Candida albicans* with inhibition zone of 31 mm; 27,9mm; 26mm respectively.

Keywords: marine bacteria, antimicrobial activity, inhibition zone.

Abstrak: Telah dilakukan penapisan bakteri laut yang menunjukkan aktivitas antimikroba. Penapisan tahap pertama diperoleh tiga puluh enam isolat potensial yang menunjukkan zona hambat pertumbuhan disekitar koloni. Uji antagonis tiga isolat SB5, BG3, dan BG4 terhadap *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, *Candida albicans* menunjukkan zona hambat besar, berturut-turut 31 mm; 27,9mm; 26mm.

Kata Kunci:bakteri laut, aktivitas antimikroba, zona hambat.

A. Pendahuluan

Lingkungan laut menutupi 70% permukaan bumi dan memiliki beragam kondisi habitat mulai dari tropik, laut dangkal dengan terumbu karang sampai laut dalam, palung laut. Habitat ini dihuni berbagai tumbuhan dan invertebrata yang mayoritas merupakan keunikan laut. Laut merupakan ekosistem terluas di bumi, dengan garis pantai 312,000 km (193,000 mil) dengan volume $137 \times 10^6 \text{ km}^3$.^[1] Diperkirakan air laut mengandung 10^4 - 10^6 bakteri/ml.^[2] Mikroba laut merupakan sumber yang potensial untuk komersialisasi komponen bioaktif dan dapat digunakan dalam bioremediasi. Selain itu komunitas mikroba laut juga berperan penting dalam dekomposisi bahan organik dan siklus

nutrin.

Bila dibandingkan organisme terestrial, produk metabolit sekunder yang dihasilkan organisme laut potensial untuk dikembangkan dan memiliki struktur yang khas karena kondisi lingkungan yang kompleks, keanekaragaman spesies dan bioaktifitas yang kuat. Studi lebih lanjut tentang biosintesis produk alami laut menunjukkan banyak komponen bioaktif yang ditemukan pada tumbuhan dan hewan laut yang dihasilkan sendiri atau berasosiasi dengan mikroorganisme^[3]. Bakteri laut dan terestrial banyak memiliki kesamaan, tetapi kemampuan beradaptasi organisme pada lingkungan laut mengakibatkan terjadiperubahan genotif dan menyebabkan bakteri dapat bertahan.^[4]

Eksplorasi potensi antibiotik alami yang dihasilkan oleh bakteri laut dapat dilakukan dengan mengisolasi bakteri dari air laut, sedimen, invertebrata laut, dan tumbuhan laut (rumput laut), dari pantai atau laut dalam. Spesies bakteri laut yang telah diidentifikasi antara lain genus *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Xanthomonas*, dan *Achromobacte*^[5].

Kabupaten Serdang Bedagai memiliki potensi kelautan yang cukup besar dengan posisi geografis berhadapan langsung dengan Selat Malaka yang merupakan akses untuk penangkapan ikan di daerah zona ekonomi eksklusif dan laut lepas. Garis pantai sepanjang 95 km mencakup lima kecamatan yaitu: Pantai Cermin, Perbaungan, Teluk Mengkudu, Tanjung Beringin dan Bandar Khalifah. Potensi kelautan tidak hanya ada pada sektor perikanan, tetapi juga dapat dikembangkan dari pemanfaatan organisme atau mikroorganisme yang terdapat pada habitat laut dalam menghasilkan komponen bioaktif. Salah satu sumber penghasil senyawa kimia dari laut adalah bakteri laut.

B. Bahan dan Metode

Isolasi bakteri diperoleh dari sampel air laut yang diambil dari 5 kawasan pesisir daerah Serdang Bedagai, Sumatera Utara yaitu ; pantai Gudang Garam, pantai Kwala Putri, pantai Klang, pantai Sialang Buah, pantai Bogak.

Alat yang digunakan antara lain: inkubator, autoklaf, labu Erlemenyer, aluminium foil, lampu bunsen, cawan petri, gelas

ukur, tabung reaksi, kapas, pipet serologi, mikroskop binokuler, kaca objek, hockey stick, jarum ose, *hand refractometer*, *Global Positioning System (GPS)*, pH meter, timbangan, vorteks, pipet ukur, *rotavapor*, jangka sorong, kapas lidi.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu; sampel air laut, media nutrient agar (NA), media Muller Hilton Agar (MHA), media Thiosulfate-Citrat-Bile-Sucrose agar (TCBS), media-media uji biokimia (TSIA, gelatin, SIM, SCA, TSA), bahan uji pewarnaan gram (kristal violet, luogol iodine, safranin, alkohol 70%, aquades, hidrogen peroksida, larutan fisiologis, larutan standar McFarland, kertas saring, biakan *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, *Candida albicans*, pelarut Dimethyl Sulfoxide (DMSO), kertas cakram (blank disks).

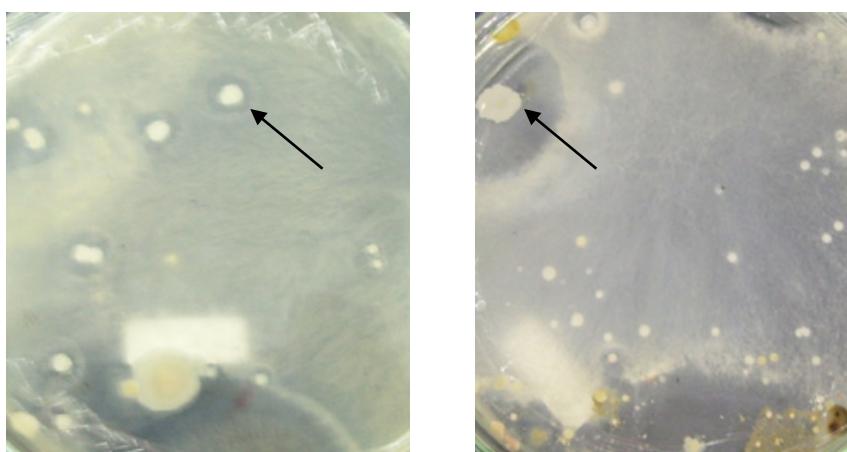
Penapisan bakteri dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media NA dengan air laut. Sebanyak 0,1 ml sampel air laut disebarluaskan pada media, kemudian diinkubasi selama 24-96 jam pada inkubator $30\pm2^{\circ}\text{C}$. Potensi antimikroba yang dimiliki isolat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri^[6].

Karakterisasi bakteri yang potensial penghasil antimikroba dilakukan dengan pengujian biokimia sederhana. Pengujian fisiologis bakteri meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, uji gelatin, uji motilitas, uji TSIA, dan pengamatan morfologi.

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan uji tantang. Isolat uji *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, ditumbuhkan pada media padat MHA dan air laut. Untuk *Candida albicans* ditumbuhkan pada media PDA dan air laut. Isolat uji disuspensi dalam larutan garam 0,9% NaCl. Suspensi setara MacFarland 0,5 standar ($10^8\text{cfu}/\text{ml}$) diusapkan pada media padat dengan menggunakan kapas lidi steril secara merata pada permukaan media dalam cawan petri, lalu dibiarkan selama 15 menit.^[5] Pengujian dilakukan dengan metode difusi cakram. Isolat potensial disuspensi dengan larutan fisiologis 0,9% NaCl kemudian disetarkan dengan MacFarland 0,5 standar. Sebanyak 10 μl suspensi isolat potensial diteteskan pada kertas cakram steril (diameter 6 mm). Cakram diletakkan pada permukaan media dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu $30\pm2^{\circ}\text{C}$ selama 24-96 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong dalam satuan mm.

C. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan hasil penapisan bakteri dari sampel air laut diperoleh sebanyak 36 isolat bakteri yang potensial penghasil antimikroba. Bakteri yang menunjukkan aktivitas antimikroba ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri (gambar 1). Berdasarkan pengujian biokimia diperoleh isolat potensial umumnya merupakan bakteri gram positif dengan bentuk batang dan koma. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Gram et al.,^[7] yang lebih banyak mendapatkan isolat potensial bakteri gram negatif berbentuk batang.



Gambar 1. Koloni isolat bakteri laut potensial penghasil antimikroba pada media NA masa inkubasi 72 jam

Zona bening yang dihasilkan oleh isolat potensial mengindikasikan bahwa bakteri tersebut mengeluarkan substansi kimia sehingga menghambat kolonisasi mikroba lainnya. Substansi kimia tersebut memiliki aktivitas antimikroba yang dapat berupa antibiotik, tokmen, dan enzim penghambat

Hasil pengukuran fisik sampel air laut diperoleh pH 7,8-8,47, salinitas 33-35 ppt. Air laut memiliki pH normal berkisar 7,5-8,5. Salinitas air sekitar 3,5 % menunjukkan bakteri yang mampu hidup dalam kondisi ini merupakan kelompok bakteri halofil. Adaptasi bakteri pada kondisi laut dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder. Penggunaan air laut sebagai pelarut media NA dalam

penelitian ini diduga mempengaruhi pertumbuhan isolat bakteri laut sehingga dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Bakteri laut membutuhkan nutrisi dari lingkungan laut. Penggunaan air laut mempengaruhi produksi antibiotik dari isolat Actinomycetes yang berasal dari sampel sedimen laut. Isolat yang ditumbuhkan tanpa air laut pada media tumbuhnya tidak dapat menghasilkan substansi antimikroba^[8].

Berdasarkan hasil pengujian antagonis diperoleh 3 isolat potensial *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, dan *Candida albicans*. Ketiga mikroba uji tahan terhadap salinitas dapat tumbuh dengan baik pada media yang memiliki kadar garam 6-15 %, sehingga relatif tidak memiliki tekanan lingkungan pada media tumbuh dengan kadar garam 3,5%. Keberadaan mikroba uji pada media tumbuh merupakan kompetitor dalam memperoleh nutrisi, dan mengeluarkan senyawa antimikroba sebagai respon untuk mempertahankan diri dan kolonisasi mikroba uji. Faktor penting yang berperan dalam pertumbuhan bakteri yang diisolasi dari air alaut antara lain; salinitas, ketersediaan nutrisi, interaksi antagonis mikroba, dan substansi antibiotik^[9].

Hasil uji antagonis menunjukkan semua isolat potensial menghasilkan senyawa antimikrob dengan kemampuan yang berbeda-beda. Sebanyak 33 isolat (91%) dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, 22 isolat (61%) menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, dan 32 isolat (88%) menghambat pertumbuhan gram negatif *Vibrio sp.*. Secara keseluruhan ada 23 isolat (64%) mampu menghambat pertumbuhan ketiga mikroba uji (*Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, *Candida albicans*) (Tabel 1).

Tabel 1. Kemampuan Isolat potensial menghambat pertumbuhan mikroba uji

Isolat	Zona hambat terhadap (mm)			Zona hambat terhadap (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>Vibrio sp.</i>	<i>C. albicans</i>	Isolat	<i>S. aureus</i>	<i>Vibrio sp.</i>	<i>C. albicans</i>
SB1	6,4	8	7	KP6	--	7,6	--
SB2	9	6,2	7,2	GG1	6,6	8,4	--
SB3	8	7	8	GG2	6,7	--	--
SB4	8,2	7	8,3	GG3	7,5	7	6,6
SB5	13	8	10	GG4	7,2	7,8	6,2
SB6	8	7	9	GG5	8,6	8,2	--
SB7	6,5	6,3	--	KL1	7	7	8,2
SB8	10	--	--	KL2	7,2	9,2	8
SB9	6,6	7	6,5	KL3	10,2	6,7	6,2
SB10	6,2	6,5	--	KL4	7	7	6,5
SB11	6,6	6,7	--	KL5	8,4	6,6	6,7
SB12	8	7,5	--	KL6	7,7	6,8	--
SB13	8	8	7,2	BG1	--	--	8,7
KP1	7	6,6	6,4	BG2	9,3	9,4	9,3
KP2	6,6	6,5	6,1	BG3	9,2	9,4	9,3
KP3	7,2	6,6	6,4	BG4	8,4	7,2	10,4
KP4	6,7	--	--	BG5	7	7	7
KP5	--	6,7	7,2	BG6	6,5	6,8	7

Kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji dalam interaksi antagonis yang diperoleh dalam penelitian ini menegaskan bahwa isolat tersebut memiliki senyawa kimia yang dikeluarkan sebagai sistem pertahanan dalam kompetensi untuk mendapatkan ruang dan nutrisi yang tersedia dalam lingkungan yang kecil. Bakteri dapat menghasilkan senyawa antimikroba pada fase stasioner yaitu pada saat terjadi keterbatasan nutrisi atau respon terhadap tekanan lingkungan, penambahan senyawa penginduksi, dan penurunan kecepatan pertumbuhan. Perubahan dalam kemampuan menghambat juga dipengaruhi oleh

masa inkubasi yang menyebabkan perubahan fisiologis sehingga mempengaruhi antagonistic dan pertumbuhan bakteri^[10].

Hasil pengujian antagonis menunjukkan isolat potensial memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji. Isolat SB5 memiliki zona hambat terbesar (13 mm) terhadap *S. aureus*. Isolat BG4 memiliki zona hambat terbesar (10,4 mm) terhadap *C. albicans*. Zona hambat terbesar terhadap *Vibrio* sp. ditunjukkan oleh isolat BG3 (9,4 mm). Isolat SB5 merupakan bakteri gram positif, sedangkan isolat BG3 dan BG4 adalah bakteri gram negatif.

Berdasarkan hasil penelitian, efektifitas kemampuan menghambat isolat potensial memiliki pola; bakteri gram positif akan lebih aktif menghambat bakteri gram positif, dan bakteri gram negatif akan lebih aktif menghambat bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan bakteri gram positif memproduksi bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan bakteri gram positif, dan bakteri gram negatif memproduksi bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan bakteri gram negatif^[11].

Perbedaan besar zona hambat yang terbentuk oleh isolat potensial dalam penelitian ini mengindikasikan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan mikroba uji tumbuh dan membentuk koloni. Kemampuan menghambat berkaitan dengan kolonisasi bakteri berupa kemampuan melekat, motilitas, dan kemotaksis bakteri pada nutrisi dan materi organik. Hal ini adalah satu bentuk interaksi antagonistik yang merupakan seleksi terbaik dalam kompetisi ruang dan nutrisi pada lingkungan serta efektif untuk mengontrol populasi mikroba yang tinggal padalingkungan yang sama^[12].

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antimikroba dapat terjadi berupa perusakan sel dengan cara menghambat pembentukan dinding sel, merusak permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya cairan dalam sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat dan protein. Kemampuan menghambat mikroba uji yang diperoleh dari isolat potensial kemungkinan juga dipengaruhi oleh pola komunikasi bakteri atau quorum sensing yang mengatur regulasi metabolisme. Hal ini memungkinkan bakteri untuk melepaskan senyawa tertentu ke lingkungan untuk mencegah kolonisasi bakteri lain. Mekanisme ini digunakan untuk menghasilkan antibiotik^[13].

D. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan penapisan bakteri laut yang memiliki potensi sebagai penghasil antimikroba mendapatkan 36 isolat potensial. Pengujian biokimia diperoleh isolat potensial umumnya merupakan bakteri gram positif dengan bentuk batang dan koma. Bakteri laut lebih mudah untuk menghambat pertumbuhan mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.*, *Candida albicans*

Daftar Kepustakaan

- [5.] Das S., Lyla PS, Khan SA, “Marine Microbial Diversity and Ecology : Important And Future Perspective”, *Journal of Current Science*, (Vol. 90, 2006) 1325-1335.
- [6.] Laatsch H, “Marine Bacterial Metabolites” University Gottigen Germany, (2005).
- [7.] Zheng L, Han X, Chen H, Lin W, & Yan X, “Marine Bacterial Associated With Marine Microorganisme : The Potential Antimicrobial Resources. *Annals of Microbiology*,(Vol. 55, 2005) 119-124
- [8.] Towse SJ, “Antimicrobial Activity Of Marine Vibrio sp., Isolat NI-22”. Thesis of Departement of Biology The University of Winnipeg (2005)
- [9.] Jayanth K, Jayasekaran G, Shakila RJ, “Isolation of Marine Bacteria, Antagonistic to Human Pathogens”, *Indian Journal of Marine Sciences*. (Vol. 31, 2001) 39-44
- [10.] Bonev B, Hooper, J, Parisot J, “Principles of Assessing Bacterial Susceptibility to Antibiotics Using The Agar Diffusion Method”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (Vol. 61, 2008) 1296-1301.
- [11.] Gram L, Melchiorsen J, Bruhn JB, “Antibacterial Activity of Marine Culturable Bacteria Collected from a Global Sampling of Ocean Surface Waters and Surface Swabs of Marine Organism”, *Marine Biotechnology* (Vol. 12, 2010) 439-451
- [12.] Imada C, Koseki N, Kamata M, KobayashiT, and Hamada N, “Isolation and Characterization of Antibacterial Substances Produced by Marine Actinomycetes in the Presence of Seawater”, *The Society for Actinomycetes Japan*,(Vol. 211, 2007)27–31
- [13.] Hrenovic J & Ivankovic T, Survival of *E. coli* and *Acinetobacterjunii* at Various Concentration of Sodium Chloride”, *EurAsian Journal of BioSci* (Vol. 3, 2009) 144-151
- [14.] Grossart HP, Andrea S, Michael B, Meinhard S & Thorsten B, “Antagonistic Activity of Bacteria Isolated from Organic Aggregates of the German Wadden Sea”, *FEMS Microbiology Ecology*, (Vol. 47, 2004) 387-396
- [15.] Hentschel U, Schmid M, Wagner M, Fiesler L, Gernert C & Hacker, Isolation and Phylogenetic Analysis of Bacteria with Antimicrobial Activities from The Mediterranean Sponges *Aplysinaaerophoba* and *Aplysinacovernicola*”,*FEMS Microbiology Ecology*, (Vol. 35, 2001) 305-312

- [16.] Giudice AL, Matteo B, Vivia B, Domenico M, Renato & Luigi M, “ Bacterium-bacterium Inhibitory Interactions Among Phychrotrophic Bacteria Isolated from Antarctic Seawater”, *FEMS Microbiology Ecology*, (Vol. 60, 2007) 383-396
- [17.] Long RA &Azam F, “Antagonistic Interaction Among Marine Pelagic Bacteria”, *Applied and Enviromental Microbiology*, (Vol.11, 2001) 4975-4983