

PENAPISAN AKTIVITAS AMILOLITIK DAN ANTIBAKTERI DARI BAKTERI SEDIMEN PERAIRAN PULAU LEMUKUTAN

Nora Idiawati, Kristina Adelita, Mega Sari Juane Sofiana

*Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia
E-mail : noraidiawatisrg@gmail.com*

Received February 2019 , Accepted April 2019

ABSTRAK

Resistensi bakteri saat ini menjadi permasalahan dalam bidang kesehatan. Hal ini dikarenakan meningkatnya *Multiple Drug Resistance* (MDR) oleh bakteri patogen. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai sumber senyawa antibakteri, salah satunya dari bakteri pada sedimen laut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada bakteri sedimen laut dari Perairan Pulau Lemukutan. Isolasi bakteri dari bakteri sedimen laut diperoleh sebanyak 4 isolat. Penapisan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *cross streak*. Bakteri patogen yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhimurium*. Aktivitas antibakteri terbaik diperoleh pada bakteri SKA04 dapat menghambat bakteri patogen *S. typhimurium*. Penapisan aktivitas enzim ekstraseluler dilakukan untuk mengetahui potensi isolat bakteri sedimen laut dalam menghasilkan enzim amilolitik dan lipase. Uji aktivitas enzim amilolitik diperoleh 3 isolat menghasilkan enzim amilolitik yaitu SKA02, SKA03 dan SKA04 yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri.

Kata kunci : Amilolitik, Antibakteri, Bakteri Sedimen Laut, Lemukutan

ABSTRACT

**AMYLOLYTIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES ASSESSMENT OF
SEDIMENTARY BACTERIA OF LEMUKUTAN ISLAND.** Bacterial resistance is currently a complication in the health sector. This is due to receiving several resistance drugs (MDR) by pathogenic bacteria. Therefore, it is necessary to do research on antibacterial sources, one of which is from bacteria in marine sediments. The purpose of this study was to study the antibacterial activity of marine sedimentary bacteria from Lemukutan Island. The isolation of bacteria from marine sediment bacteria obtained 4 isolates. Screening of antibacterial activity was carried out using the *cross streak* method. The pathogenic bacteria used are *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas*

aeruginosa, and *Salmonella typhimurium*. The best antibacterial activity obtained in SKA04 bacteria can inhibit pathogenic bacteria *S. typhimurium*. Screening of extracellular enzyme activity was carried out to determine the potential of marine sediment bacteria isolates in producing amylolytic enzymes and lipases. The amylolytic enzyme activity test obtained 3 isolates which produced amylolytic enzymes, namely SKA02, SKA03 and SKA04 which were characterized by the formation of clear zones around bacterial colonies.

Keywords : Amylolytic, Antibacterial, Marine Sedimentary Bacteria, Lemukutan

PENDAHULUAN

Resistensi bakteri saat ini menjadi permasalahan dalam bidang kesehatan dimana antibiotik sudah tidak efektif lagi melawan bakteri patogen. Hal tersebut terjadi karena meningkatnya *multiple drug resistance* (MDR) oleh bakteri patogen (Saha *et al.*, 2014; Chang *et al.*, 2015; Thirumalairaj *et al.*, 2015). Bakteri patogen yang telah resisten memerlukan senyawa antibakteri baru yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhannya. Senyawa antibakteri dapat diperoleh dari bakteri sedimen laut. Bakteri sedimen laut dilaporkan telah menghasilkan isolat yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur (Jafarzade *et al.*, 2013; Dalisay *et al.*, 2013; Claverias *et al.*, 2015).

Beberapa penelitian mengenai bakteri sedimen laut penghasil senyawa antibakteri telah banyak dilakukan. Sekhar *et al* (2012) melaporkan sebanyak 6 isolat dari 23 isolat sedimen laut di India menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. *Bacillus sonorensis* MT39 menghasilkan Sonoresin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Listeria monocytogenes* dan *Staphylococcus aureus* (Chopra *et al.*, 2015).

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2017 hingga Oktober 2018. Pengambilan sampel sedimen diambil di Perairan Pulau Lemukutan. Pengambilan sampel sedimen menggunakan SCUBA. Sampel sedimen diambil 130 m dari pantai pada kedalaman 5 m. Sampel sedimen diambil dengan menggunakan botol *falcon* steril. Sampel dimasukkan ke dalam *cool box* sebelum dianalisis di laboratorium.

Sampel sedimen ditimbang sebanyak 1 g. Sampel kemudian di suspensi dalam air laut steril 45 mL dan diencerkan hingga 10^{-4} . Sampel bakteri hasil pengenceran 10^{-2} – 10^{-4} diambil masing-masing 100 μ l dan ditumbuhkan pada media agar dengan metode tuang dan di inkubasi selama 5 hari pada suhu 37°C. Morfologi koloni bakteri yang terbentuk diamati diameter, warna, bentuk, elevasi, serta tepian koloni.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *cross streak*. Koloni isolat bakteri sedimen ditumbuhkan dengan cara menggoreskannya di tengah petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya bakteri uji ditumbuhkan tegak lurus pada isolat bakteri sedimen dan di inkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya zona hambat di sekitar isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

Pengambilan sampel sedimen dilakukan pada tanggal 7 Mei 2017 di Perairan Pulau Lemukutan. Hasil isolasi dari bakteri sedimen di peroleh sebanyak 4 isolat. Berdasarkan hasil pengamatan morfologinya diperoleh koloni dengan perbedaan diameter, warna, bentuk, tepian, dan elevasi (Tabel 1).

Hasil isolasi yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dan uji aktivitas enzim amilolitik dan lipase dengan melihat zona bening yang terbentuk pada isolat bakteri sedimen (Gambar 1 dan Gambar 2).



Gambar 1. Sampel sedimen laut

Tabel 1. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Sedimen

Kode Bakteri	Diameter (mm)	Warna	Bentuk	Elevasi	Tepian
SKA01	0,48	Putih	Bulat	Datar	Bergelombang
SKA02	0,69	Putih	Bulat	Cembung	Bergelombang
SKA03	1,42	Putih	Bulat	Datar	Bergerigi
SKA04	0,41	Putih	Bulat	Datar	Bergerigi

Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri bakteri sedimen laut diperoleh 4 isolat. Satu diantaranya menunjukkan aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona bening (Tabel 2). Isolat bakteri sedimen laut tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada media tumbuhnya. Hal tersebut disebabkan karena media tumbuh yang mengandung cukup nutrisi bagi pertumbuhan bakteri sehingga metabolit sekunder tidak terbentuk. Isolat bakteri sedimen tersebut ditumbuhkan ke media *Zobell* mengandung zat penginduksi berupa glukosa dan gliserol. Penambahan senyawa penginduksi pada media tumbuh dapat meningkatkan aktivitas antibakteri pada isolat bakteri. Senyawa penginduksi merupakan prekursor yang dibutuhkan isolat untuk menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri (Lygo dan Wainwright, 1997).

Hasil menunjukan aktivitas antibakteri setelah ditambahkan senyawa penginduksi terdapat pada isolat SKA04 yang dapat menghambat bakteri uji *S. typhimurium* glukosa yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada koloni bakteri (Gambar 2). Zona bening terbentuk dari hasil ekskresi senyawa dengan aktivitas antibakteri. Senyawa antibakteri tersebut dihasilkan dari metabolit sekunder. Metabolit sekunder terbentuk apabila terjadi penurunan kecepatan pertumbuhan, penambahan senyawa penginduksi dan keterbatasan ketersediaan nutrisi (Demain, 1998).

Tabel 2. Uji Aktivitas Antibakteri Sedimen Laut

Media	Bakteri Uji	Isolat Bakteri			
		SKA01	SKA02	SKA03	SKA04
NA	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
	<i>V. cholerae</i>	-	-	-	-
M13	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
	<i>V. cholerae</i>	-	-	-	-
Zobell	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
	<i>V. cholerae</i>	-	-	-	-

Media	Bakteri Uji	Isolat Bakteri			
		SKA01	SKA02	SKA03	SKA04
Z ⁻¹	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
	<i>V. cholerae</i>	-	-	-	-
Z ⁻¹ A	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	+
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
	<i>V. cholerae</i>	-	-	-	-
Z ⁻¹ B	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
	<i>V. cholerae</i>	-	-	-	-

Keterangan : Z⁻¹, Z⁻¹A (*Zobell* + Glukosa) Z⁻¹B (*Zobell* + Gliserol)
 Positif (+) (terbentuk zona bening) Negatif (-) (tidak terbentuk zona bening)



Gambar 2. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas Enzim

Isolat bakteri sedimen laut selanjutnya diuji aktivitas enzimnya untuk mengetahui aktivitas enzimatis isolat bakteri sedimen laut dengan uji amilolitik dan lipase. Hasil uji aktivitas enzim diperoleh 3 isolat yang berpotensi menghasilkan enzim amilolitik (Tabel 3). Amilase merupakan enzim ekstraseluler yang dikeluarkan oleh bakteri untuk menghidrolisis pati yang ada di luar sel. Hasil hidrolisis diserap kembali ke dalam sel oleh

bakteri dan digunakan sebagai sumber energi, berkembang biak, dan cadangan nutrisi (Kaneko *et al*, 2005).

Tabel 3. Hasil Seleksi Heterofik Berdasarkan Kemampuan Lipase Bakteri Sedimen Laut

Isolat	Isolat Bakteri
	Lipase
SKA01	-
SKA02	-
SKA03	-
SKA04	-

KESIMPULAN

Isolat bakteri sedimen laut yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu SKA04 yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. typhimurium*. Berdasarkan hasil identifikasi isolat bakteri sedimen laut diperoleh genus *Oceanospirillum*, *Pseudomonas*, dan *Methylophaga*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan ucapan terima kasih kepada Pemerintah Daerah Kabupaten Sekadau dan *Community Development & Outreaching* Universitas Tanjungpura yang telah memberikan beasiswa penuh *Satu Dusun Satu Sarjana* (SDSS) sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di FMIPA Untan.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang; Han H.; Cohen T.; Grad Y. H.; Hanage W. P.; O'brien T. F. and Lipsitch M., 2015, Origin and Proliferation of Multiple-Drug Resistance in Bacterial Pathogens, *J. Mmb.*, 79:101-116.
- Chopra L.; Singh G.; Jena K. K. and Sahoo D. K., 2015, Sonorensin: A New Bacteriocin with Potential of an Anti-Biofilm Agent and a Food Biopreservative, *Scientific Reports.*, 5:1-41.
- Claverias F. P.; Barrena A. U.; González M.; Seeger M. and Cámara B., 2015, Culturable Diversity and Antimicrobial Activity of Actinobacteria from Marine Sediments in Valparaíso Bay, Chile, *Frontiers in Microbiol.*, 6:737.

- Dalisay D. S.; Williams D. E.; Wang X. L.; Centko R.; Chen J. and Andersen R. J., 2013, Marine Sediment-Derived *Streptomyces* Bacteria from British Columbia, Canada are a Promising Microbiota Resource for the Discovery of Antimicrobial Natural Products, *Plos One.*, 8: E77078.
- Demain A. L., 1999, Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Microorganisms, *Appl Microbio.*, 52:455-463.
- Jafarzade M.; Yahya N. A.; Mohamad S.; Usup G. and Ahmad A., 2013, Isolation and Characterization of Pigmented Bacteria Showing Antimicrobial Activity from Malaysian Marine Environment, *Malaysian J of Microbiology.*, 9: 152-160.
- Kaneko T., Ohno T., and Ohisa A., 2005, Purification and Characterization of a Thermostable Raw Starch Digesting Amylase from a *Streptomyces* sp. Isolated In a Milling Factory, *J. Bioscience Biotechnology. Biochemistry.*, 6:1073-1081.
- Lygo B., and Wainwright P. G., 1997, Biosynthetic Induction of a Secondary Metabolites by a Marine Bacterium Under Nutritional Stress: Potential Role of the Incomplete Oxidation of an organic acid, *Biol Bull.*, 193:274-275.
- Saha A.; Das R.; Dasgupta M.; Dutta S.; Haque G. and Mitra A. K., 2014, Isolation and Characterization of Multi Drug Resistant Pathogen from Soil Samples Collected from Hospital Disposal Site, *J. of Environmental Science, Toxicology and Food Technology.*, 8:74-80.
- Sekhar G. A. D. M. C.; Krishna E. R.; Kumar P. S. and Mohan C. M., 2012, Isolation and Screening of Antimicrobial Activity of Marine Sediment Bacteria from Bay of Bengal Coast, Visakhapatnam, *J of Pharmacy Research.*, 5:1318-1319.
- Thirumalairaj J.; Shanmugasundaram T.; Sivasankari K.; Natarajaseenivasan K. and Balagurunathan R., 2015, Isolation, Screening and Characterization of Potent Marine *Streptomyces* sp. Pm105 Against Antibiotic Resistant Pathogens, *Asian J of Pharmaceutical and Clinical Research.*, 8:439-443.