

EKSPLORASI BAKTERI TANAH LOKAL PENGHASIL ANTIMIKROBA DI CAGAR ALAM TANJUNG API TELUK TOMINI SULAWESI TENGAH, INDONESIA

Exploration of Local Antimicrobial Soil Bacteria in Tomini Bay Tanjung Api Natural Reserves Central Sulawesi, Indonesia

Muhammad Alwi, Widiawati, Umrah dan Orryani Lambui

Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu Jl. Soekarno-Hatta Km 9, Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

ABSTRACT

Keywords:
Exploration of bacteria, antimicrobials, and Nature Reserve

Tanjung Api Nature Reserve is a headland located in Tomini Bay Ampana District Tojo Una-Una Regency, Central Sulawesi Province. This study aims to obtain local soil bacteria isolates as antimicrobial producers. The method used in this research is purposive sampling and screening method using "Agar Dua Lapis" (Double Layer Method). The testing of antimicrobial potency used the well diffusion method using three microbes pathogens (*S. aureus*, *E. coli*, and *C. albicans*). Total of 500 μ L of bacterial cultures were inoculated in the well and incubated at a temperature of 37 oC for 24 hours and continued for 48 hours. The observed parameter is a clear zone formed around the well. The result showed that total of 24 bacterial isolates have a potency to produce antimicrobes five isolates namely S2U1, S3U3, S7U3, S9U3, and S10U3. S10U3 isolate was the best isolate with the inhibition zone diameter was about 12.25 mm but only against *S. aureus*, while S9U3 is the best isolate because it is able to inhibit the three test microbes namely *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* by 5.50 mm, 9.25 mm, and 5.50 mm respectively.

ABSTRAK

Kata Kunci:
Eksplorasi bakteri, antimikroba, dan Cagar Alam

Cagar Alam Tanjung Api adalah sebuah tanjung yang terletak di Teluk Tomini Kecamatan Ampana Kabupaten Tojo Una-Una, Provinsi Sulawesi Tengah. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri tanah lokal sebagai penghasil antimikroba. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah purposive sampling dan metode penyaringan menggunakan "Agar Dua Lapis" (Double Layer Method). Pengujian potensi antimikroba menggunakan metode difusi sumuran menggunakan tiga mikroba patogen (*S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*). Sebanyak 500 μ L kultur bakteri diinokulasikan ke dalam sumuran dan diinkubasi pada suhu 37 oC selama 24 jam dan dilanjutkan selama 48 jam. Parameter yang diamati adalah zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 24 isolat bakteri berpotensi menghasilkan antimikroba, lima isolat yang terseleksi yaitu S2U1, S3U3, S7U3, S9U3, dan S10U3. Isolat S10U3 merupakan isolat terbaik dengan diameter zona hambat 12,25 mm tetapi hanya terhadap *S. aureus*, sedangkan S9U3 merupakan isolat terbaik karena mampu menghambat ketiga mikroba uji yaitu *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* masing-masing sebesar 5,50 mm, 9,25 mm, dan 5,50 mm.

*Corresponding Author : alwimillang@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan salah satu kelompok mikroba tanah yang banyak dikaji potensinya karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi, diantaranya sebagai penghasil antibiotik. Barakate dkk. (2002) menyatakan bahwa semua antibiotik yang telah ditemukan, dua pertiganya dihasilkan dari kelompok Actinomycetes dan bakteri. Antibiotik yang dihasilkan dari kelompok bakteri digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk kesehatan manusia, peternakan, hortikultura, dan agrobiologi lainnya (Berdy, 2005; 2012; Nurkamto dkk., 2008; Solecka dkk., 2012).

Semakin meningkatnya jumlah penyakit menular dan makin resistennya mikroba patogen terhadap obat-obatan yang ada, merupakan tantangan bagi industri farmasi dalam menyediakan produk antibiotik. Terbatasnya jumlah antibiotik merupakan masalah serius dalam pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh meningkatnya resistensi mikroba patogen terhadap antibiotik yang tersedia. Masalah resistensi pada mikroba tersebut berkembang seiring dengan penggunaan antimikroba yang tidak rasional sehingga menimbulkan dampak yang merugikan dan efek samping hingga kematian (Abbanat dkk., 2003; Mardiasuti dkk., 2007).

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan tidak terkontrol telah mengakselerasi

timbulnya strain mikroba yang bersifat resisten terhadap antibiotik yang biasa disebut MDR (multi drug resistance) (Abbanat dkk., 2003). Kecemasan yang muncul dalam penanganan penyakit infeksi akibat oleh strain MDR mendorong berbagai penelitian dalam mengeksplorasi mikroba untuk menghasilkan senyawa antibiotik yang baru (Subramani & Aalbersberg, 2013). Berdasarkan data penelitian bahwa tingkat kematian akibat penyakit infeksi masih relatif tinggi. Setiap tahun penyakit infeksi dapat menyebabkan kematian sekitar 3,5 juta orang per tahun (WHO, 2014).

Upaya pencarian spesies bakteri yang baru sebagai penghasil antimikroba telah banyak dilakukan. Mulai dari tanah hutan, pertanian, perkebunan, sedimen, perairan tawar sampai ke perairan laut (Debananda dkk., 2009; Xu dkk., 2014; Khandan dkk., 2015). Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah mencari antimikroba yang lebih efektif dari antimikroba yang ada melalui sintesis atau isolasi dari sumber alami yang potensial (Qin dkk., 2009). Antimikroba yang berasal dari alam tetap menjadi sumber yang menjanjikan untuk mendapatkan struktur antibiotik yang baru, meskipun perlu pendekatan baru untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri dari alam yang terfokus dari sumber tanah hutan dan habitat-habitat yang masih

alami (Qin dkk., 2009; Varghese dkk., 2012; Alwi dkk., 2020).

Kawasan Cagar Alam Tanjung Api merupakan habitat d Kawasan Cagar Alam Tanjung Api merupakan habitat dari berbagai jenis flora, fauna, dan mikroorganism. Daerah ini memiliki banyak potensi alam yang belum dieksplor (BKSDA, 2019). Kondisi lingkungan daerah ini sangat mendukung terhadap pertumbuhan berbagai mikroorganism terutama kelompok bakteri. Pencarian isolat bakteri yang

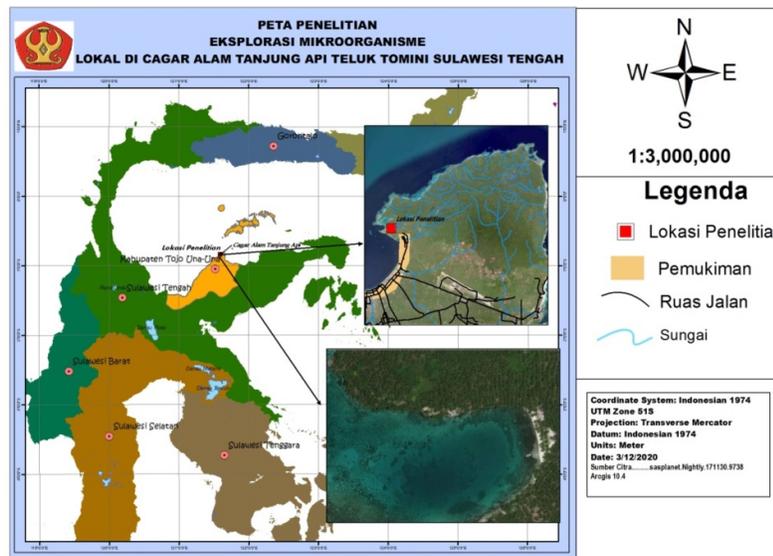
berbasis pada areal terestrial yang masih alami telah dilakukan untuk menghasilkan senyawa bioaktif baru berupa senyawa antimikroba (Kumar dkk., 2010; Cholarajan dkk., 2012; Mohamed dkk., 2017; Singh dkk., 2018). Penelitian ini adalah mencari sumber yang baru untuk mengisolasi bakteri penghasil antimikroba di areal Kawasan Cagar Alam Tanjung Api, Teluk Tomini Sulawesi Tengah. Isolat bakteri lokal yang diperoleh, nantinya akan menjadi isolat yang potensial sebagai penghasil senyawa antimikroba.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan November 2020 yang diawali dengan pengambilan sampel tanah dari Cagar Alam Tanjung Api Teluk Tomini, Sulawesi Tengah. Daerah

penelitian ini (tempat sampling) terletak pada $00^{\circ}48'780''$ - $00^{\circ}48'883''$ LS dan $121^{\circ}37'254''$ - $121^{\circ}37'346''$ BT (Gambar 1). Preservasi dan analisis sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako.



Gambar 1. Peta Cagar Alam Tanjung Api Teluk Tomini Sulawesi Tengah

Prosedur Kerja

Penelitian ini dibagi dalam beberapa tahapan yakni: tahap sampling, isolasi, dan skrining bakteri penghasil senyawa antibakteri, tahap uji antagonis senyawa antibakteri, dan tahap identifikasi morfologi dan pewarnaan isolat yang potensial menghasilkan senyawa antibakteri patogen.

Koleksi sampel tanah

Pengambilan sampel dilakukan pada lokasi Cagar Alam Tanjung Api Teluk Tomini Sulawesi Tengah. Metode sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah purposive sampling, yang dipilih sebanyak 10 spot untuk pengambilan sampel tanah. Setiap spot pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Sampel yang diambil sebanyak 20 gram pada kedalaman 20 cm dari permukaan tanah (Alwi dkk., 2019). Setiap pengambilan dimasukkan ke dalam plastik polietilen steril dan disimpan di kotak sampling dengan menggunakan sendok tanah steril. Beberapa faktor lingkungan yang diukur di lapangan yakni ketinggian dari permukaan laut, kelembaban udara, suhu dan pH tanah.

Isolasi dan skrining bakteri tanah penghasil antimikroba

Sampel tanah penelitian sebanyak 10 gram disuspensikan ke dalam 90 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0,9 %) steril, lalu dihomogenkan dengan rotary

shaker selama 10 menit. Suspensi tanah 1 mL diencerkan dengan 9 mL akuades steril secara bertingkat sampai pengenceran 10⁻⁶. Suspensi sampel sebanyak 0,1 mL disebar (spread plate) ke dalam cawan Petri steril yang berisi media isolasi Nutrient Agar (NA) yang telah ditambahkan anti fungi nystatin (25 µg/mL) dan sikloheksamid (50 µg/ mL) (Alwi dkk., 2019). Cawan agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilanjutkan sampai 48 jam. Jumlah bakteri yang tumbuh dihitung dan dianalisis untuk penentuan densitas bakteri pada setiap spot lokasi penelitian. Koloni bakteri yang morfologinya berbeda diseleksi dan dimurnikan secara berulang-ulang dengan metode gores kuadran sampai diperoleh koloni tunggal pada media isolasi. Isolat bakteri yang murni disimpan dalam media agar miring untuk uji selanjutnya.

Karakterisasi morfologi koloni dan sel bakteri tanah penghasil antimikroba

Morfologi bakteri yang terpilih dikarakterisasi dengan mengamati bentuk koloni pada media NA, dengan mengamati warna, bentuk, elevasi, pinggiran, tekstur permukaan, dan warna sebalik koloni (Cappucino and Sherman, 2008; Holt dkk., 1994). Selain itu dilakukan pula pengamatan dengan pewarnaan sel bakteri melalui pewarnaan Gram untuk menentukan kelompok bakteri Gram positif dan negatif.

Skrining awal dengan uji antagonis bakteri tanah terpilih penghasil antimikroba

Uji antagonis isolat bakteri terpilih dilakukan dengan metode agar dua lapis (Double Layer Method) (Santos dkk., 2009; Alwi dkk., 2019). Mikroba uji (*S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*) diinokulasikan pada media Nutrient Agar (NA) sebagai lapisan pertama secara pour plate dengan kepadatan sel 106 sel/mL dan dibiarkan selama 15 menit, kemudian dituang lagi media Nutrient Agar (NA) sebagai lapisan kedua dan dibiarkan memadat. Selanjutnya dilakukan inokulasi semua bakteri terpilih terhadap masing-masing bakteri uji secara goresan (streak). Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilanjutkan 48 jam, lalu diamati adanya daerah hambatan pertumbuhan yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan Faktor Lingkungan Tanah dengan Densitas Bakteri di Cagar Alam Tanjung Api Teluk Tomini Sulawesi Tengah

Tanjung Api diambil dari nama api unik yang terus saja keluar dari dalam tanah secara alami. Tanjung Api secara geografis terletak antara 0°53'– 0°58' Lintang Selatan (LS) dan 121°35'– 121°37' Bujur Timur (BT). Tanjung Api memiliki banyak potensi alam yang belum

Pengujian potensi bakteri tanah penghasil antimikroba

Bakteri yang terpilih pada uji Double Layer akan diuji potensinya dengan menggunakan metode sumuran (well diffusion). Mikroba uji yang bersifat patogen (*S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*) diinokulasikan pada media Nutrient Agar (NA) masing-masing sebanyak 1 mL (106 sel/mL) pada setiap cawan agar. Setiap cawan dibuat lima sumuran (diameter 6 mm), kemudian pada setiap sumuran dimasukkan isolat uji yang terseleksi masing-masing sebanyak 500 µL dengan kepadatan sel 106 sel/mL (dihitung dengan menggunakan hemocytometer). Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dan diamati zona hambat yang terbentuk. Data zona hambat yang terbentuk pada masing-masing bakteri yang terpilih/terseleksi akan dianalisis ragam dengan α 5% pada Program SPSS versi 24.00.

dieksplor (BKSDA, 2019). Salah satunya yang belum dieksplor adalah keberadaan bakteri penghasil antimikroba yang hidup di lingkungan tanah yang ada di kawasan tersebut.

Kondisi lingkungan di daerah Cagar Alam Tanjung Api relatif berbeda dengan kondisi lingkungan pada umumnya. Namun demikian faktor lingkungan seperti ketinggian dari permukaan laut serta kelembaban udara masih dalam kondisi

lingkungan hutan tropis. Kelembaban udara pada 10 spot titik pengambilan sampel tanah rata-rata 75%. Kelembaban seperti ini masuk kategori kelembaban udara yang tinggi yang biasanya terdapat pada area hutan hujan tropis (Rosianty *et al.*, 2018). Sedangkan faktor lingkungan suhu dan pH tanah relatif berbeda dengan suhu dan pH tanah pada umumnya yang ada di Sulawesi Tengah. Rata-rata suhu tanah pada 10 spot pengambilan sampel adalah 33,29 °C. Keadaan suhu ini bila dihubungkan dengan pertumbuhan mikroba masih dalam kategori pertumbuhan mesofilik. Hal ini sesuai dengan pengelompokan mikroba berdasarkan hubungan suhu dengan pertumbuhan mikroba oleh Madigan dkk. (2005) yang mengelompokkan mikroba menjadi empat kelompok yakni: (1) psikrofil (4 °C); (2) mesofil (39 °C); (3) termofil (60 °C); dan (4) hipertermofil (88 °C). Rata-rata pH tanah pada 10 spot pengambilan sampel berada pada pH 4,4. Keadaan tanah ini dikategorikan sebagai tanah masam (tanah ber pH asam). Keadaan tanah menjadi asam di lokasi penelitian ini diduga karena Kawasan ini masih berada dalam kawasan hutan mangrove. Faktor lingkungannya masih dipengaruhi oleh keadaan vegetasi mangrove yang ada. Seperti serasah-serasah mangrove dan pelapukannya. Secara umum bahwa dari 10 spot titik pengambilan sampel tanah di Cagar Alam

Tanjung Api berada pada topografi lembah. Kenampakan tekstur tanah pada umumnya adalah berpasir dan berwarna coklat tua. Rata-rata pH dan suhu tanah di Kawasan ini adalah berkisar 4,4 dan 33,29 °C. Kelembaban udaranya berada pada kisaran 75%. Keadaan faktor lingkungan seperti ini dapat mendukung untuk diperolehnya mikroba, utamanya bakteri penghasil antimikroba.

Berdasarkan hasil penghitungan *total plate count* (TPC) dari 10 spot tempat pengambilan sampel tanah di Cagar Alam Tanjung Api, maka spot 1,2,6,7,8, 9, dan 10 (Ring Kedua) diperoleh densitas bakteri sebesar 10^6 cfu/gram tanah. Sedangkan spot 3, 4, dan 5 yang merupakan spot yang berada di "Ring Pertama" yang jauh dari vegetasi tumbuhan diperoleh densitas bakteri lebih rendah yakni 10^5 sel/gram, bahkan ada yang lebih rendah lagi yakni 10^4 sel/gram (yang dekat dengan sumber api) (Tabel 1). Hal ini membuktikan bahwa keberadaan jumlah bakteri tanah di daerah tropis yang masih dipengaruhi oleh vegetasi tumbuhan pada umumnya ditemukan sebesar 10^6 sampai dengan 10^7 sel/gram. Hal ini selaras dengan Sylvia dkk. (2005) dan Barreto dkk. (2008) yang menyatakan bahwa mikroba yang mendominasi di habitat tanah rhizosfer adalah kelompok bakteri yang bisa ditemukan mencapai populasi 10^6 - 10^7 sel/gram. Demikian pula hasil penelitian

Alwi dkk. (2019); (2020) yang menentukan densitas *Actinomycetes* salah satu kelompok bakteri tanah yang hidup di tanah rhizosfer tumbuhan *Leda* di Taman Nasional Lore Lindu mencapai 10^7 sel/gram tanah.

Tabel 1. Densitas bakteri tanah pada setiap spot penelitian di Cagar Alam Tanjung Api Teluk Tomini Sulawesi Tengah

No.	Spot Penelitian	Densitas Bakteri (sel/g)
1	Spot 1	$2,17 \times 10^6$
2	Spot 2	$2,57 \times 10^6$
3	Spot 3	$2,00 \times 10^5$
4	Spot 4	$3,30 \times 10^4$
5	Spot 5	$6,67 \times 10^5$
6	Spot 6	$1,00 \times 10^6$
7	Spot 7	$1,70 \times 10^6$
8	Spot 8	$1,87 \times 10^6$
9	Spot 9	$3,00 \times 10^6$
10	Spot 10	$1,07 \times 10^6$

Skrining Isolat Bakteri Tanah Penghasil Antimikroba

Hasil skrining dengan menggunakan antimikroba *nystatin* (25 µg/mL) dan *sikloheksamid* (50 µg/ mL) diperoleh 24 isolat bakteri tanah. Keduapuluh empat isolat ini dilakukan pengamatan morfologi koloni secara makroskopis dengan mengacu pada Cappucino dan Sherman (2008). Keduapuluh empat isolat bakteri ini memiliki karakter koloni yang beragam. Karakter koloni tersebut didasarkan pada ciri-ciri morfologi koloni yang terlihat. Warna koloni dari masing-masing bakteri dari setiap spot penelitian adalah didominasi warna putih dan keabu-abuan, namun ada juga warna putih, keabu-abuan, dan kuning muda. Bentuk dari masing-masing koloni terlihat bulat sering

ada (tetesan air ditengah koloni), bulat, dan bergerombol tidak teratur. Elevasi dari masing-masing koloni terlihat cembung dan menggungung. Tepi koloni dari masing-masing koloni terlihat berserabut dan rata. Tekstur permukaan dari masing-masing koloni terlihat halus, berdebu, dan kasar berdebu. Selain pengamatan morfologi koloni maka dilakukan pula pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Hasil pengamatan diperoleh 16 isolat bakteri tanah yang bersifat Gram negatif dan delapan yang bersifat Gram positif (Tabel 2).

Skrining bakteri tanah sebagai penghasil antimikroba dilakukan dengan pengujian terhadap mikroba patogen uji. Mikroba uji yang digunakan meliputi *S. aureus*, *E.*

coli, dan *C. albicans*. Metode yang digunakan untuk melakukan skrining terhadap 24 isolat bakteri yang berpotensi sebagai penghasil antimikroba adalah metode uji antagonis agar dua lapis (*Double Layer Method*).

Hasil uji antagonis dengan mikroba uji diperoleh lima isolat bakteri tanah yang terpilih yaitu S2U1, S3U3, S7U3, S9U3, dan S10U3 yang mampu memberikan zona hambat pada pertumbuhan mikroba uji yang diberikan. Isolat S2U1, S7U3, S9U3, dan S10U3 memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* dengan ditandai terbentuknya zona hambat di area koloni masing-masing isolat bakteri tanah, sedangkan isolat S3U3 tidak menghasilkan zona hambat. Hal ini berarti bahwa keempat isolat ini (S2U1, S7U3, S9U3, dan S10U3) memiliki aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus*. Berdasarkan Gofar dkk. (2014) bahwa isolat mikroba yang menghasilkan zona bening di sekitar pertumbuhan koloninya berpeluang besar menghasilkan senyawa-senyawa aktif utamanya senyawa-senyawa antimikroba. Isolat S3U3 dan S9U3 setelah diantagoniskan dengan bakteri uji *E. coli* dinyatakan memiliki aktivitas antimikroba dengan ditandai terbentuknya zona bening di area koloni masing-masing isolat, sedangkan isolat S2U1, S7U3, dan S10U3 tidak menghasilkan zona hambat. Hal ini berarti bahwa kedua isolat S3U3

dan S9U3 memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli*.

Isolat S9U3 setelah diantagoniskan dengan jamur uji *C. albicans* dinyatakan memiliki aktivitas antimikroba dengan ditandai terbentuknya zona bening di area koloni, sedangkan isolat lainnya tidak menghasilkan zona hambat. Hal ini berarti bahwa isolat S9U3 memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *C. albicans*.

Uji Potensi Isolat Bakteri Tanah Penghasil Antimikroba

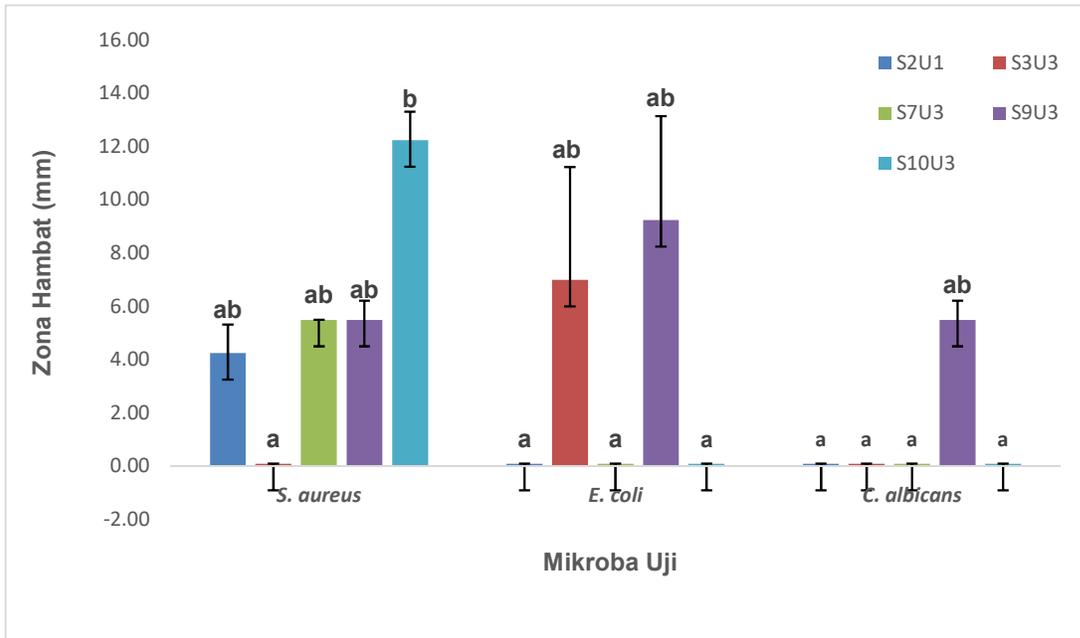
Berdasarkan hasil seleksi/skrining isolat bakteri yang dilakukan terhadap mikroba patogen uji (*S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*), maka didapatkan lima isolat potensial yaitu S2U1, S3U3, S7U3, S9U3, dan S10U3 yang menunjukkan adanya aktivitas zona hambat (Gambar 2). Potensi massa sel (suspensi sel) kelima isolat bakteri terhadap mikroba patogen uji dilakukan dengan menggunakan metode *Agar Well Diffusion*. Isolat S10U3 merupakan isolat yang paling tinggi zona hambatnya yaitu 12,25 mm terhadap bakteri patogen uji *S. aureus*, sedangkan hasil antagonis terhadap *E. coli* dan *C. albicans* tidak ada zona hambat yang terbentuk (Gambar 2).

Oleh karena itu isolat ini berpotensi menghasilkan senyawa yang dapat menghambat atau mematikan pertumbuhan *S. aureus*. Selain S10U3

yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* yakni S2U1 (4,25 mm), S7U3 (5,50 mm), dan S9U3 (5,50 mm).
yang mampu menghambat pertumbuhan

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni dan sel bakteri tanah penghasil antimikroba dari Cagar Alam Tanjung Api.

No	Kode Isolat	Karakter Morfologi dan Sel Bakteri						
		Warna Koloni	Bentuk Koloni	Elevasi	Tepi Koloni	Tekstur Permukaan	Warna Sebalik Koloni	Sel Bakteri
1	S1U1	Putih	Bulat (tetesan air ditengah)	Cembung	Berserabut	Berdebu	Putih	Gram Negatif
2	S1U2	Putih keabu-abuan	Bulat	Cembung	Rata	Berdebu	Abu-abu	Gram Negatif
3	S1U3	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Putih	Gram Negatif
4	S2U1							
5	S2U2	Putih keabu-abuan	Bergerombol	Menggunung	Berserabut	Berdebu	Putih keabu-abuan	Gram Negatif
6	S2U3	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Putih	Gram Negatif
7	S3U1	Putih keabu-abuan	Bulat	Menggunung	Berserabut	Kasar berdebu	Abu-abu	Gram Positif
8	S3U2	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Kuning muda	Gram Positif
9	S3U3	Putih	Bulat	Cembung	Berserabut	Berdebu	Putih	Gram Positif
10	S4U3	Kuning muda	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Kuning muda	Gram Negatif
11	S5U3	Kuning muda	Bulat (tetesan air ditengah)	Cembung	Berserabut	Berdebu	Kuning muda	Gram Negatif
12	S6U1	Putih	Bulat (tetesan air ditengah)	Cembung	Rata	Berdebu	Kuning muda	Gram Negatif
13	S6U2	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Putih	Gram Negatif
14	S7U1	Putih keabu-abuan	Bulat	Menggunung	Berserabut	Berdebu	Abu-abu	Gram Positif
15	S7U3	Putih	Bulat (tetesan air ditengah)	Cembung	Rata	Halus	Putih	Gram Positif
16	S8U1	Putih keabu-abuan	Bulat (tetesan air ditengah)	Cembung	Rata	Berdebu	Putih keabu-abuan	Gram Positif
17	S8U2	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Putih	Gram Positif
18	S8U3	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Berdebu	Putih	Gram Positif
19	S9U1	Kuning muda	Bulat	Cembung	Berserabut	Berdebu	Kuning muda	Gram Negatif
20	S9U2	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Putih	Gram Negatif
21	S9U3	Putih keabu-abuan	Bulat	Cembung	Rata	Berdebu	Abu-abu	Gram Negatif
22	S10U1	Putih	Bulat	Cembung	Rata	Halus	Kuning muda	Gram Negatif
23	S10U2	Putih keabu-abuan	Bergerombol	Cembung	Berserabut	Berdebu	Abu-abu	Gram Negatif
24	S10U3	Putih	Bulat	Cembung	Berserabut	Berdebu	Putih	Gram Negatif



Gambar 2. Hasil uji antagonis isolat bakteri dari CA Tanjung Api terhadap mikroba patogen uji yang diberikan.
Keterangan: Bar yang diikuti oleh huruf yang berbeda secara signifikan berbeda ($p \leq 0,05$).

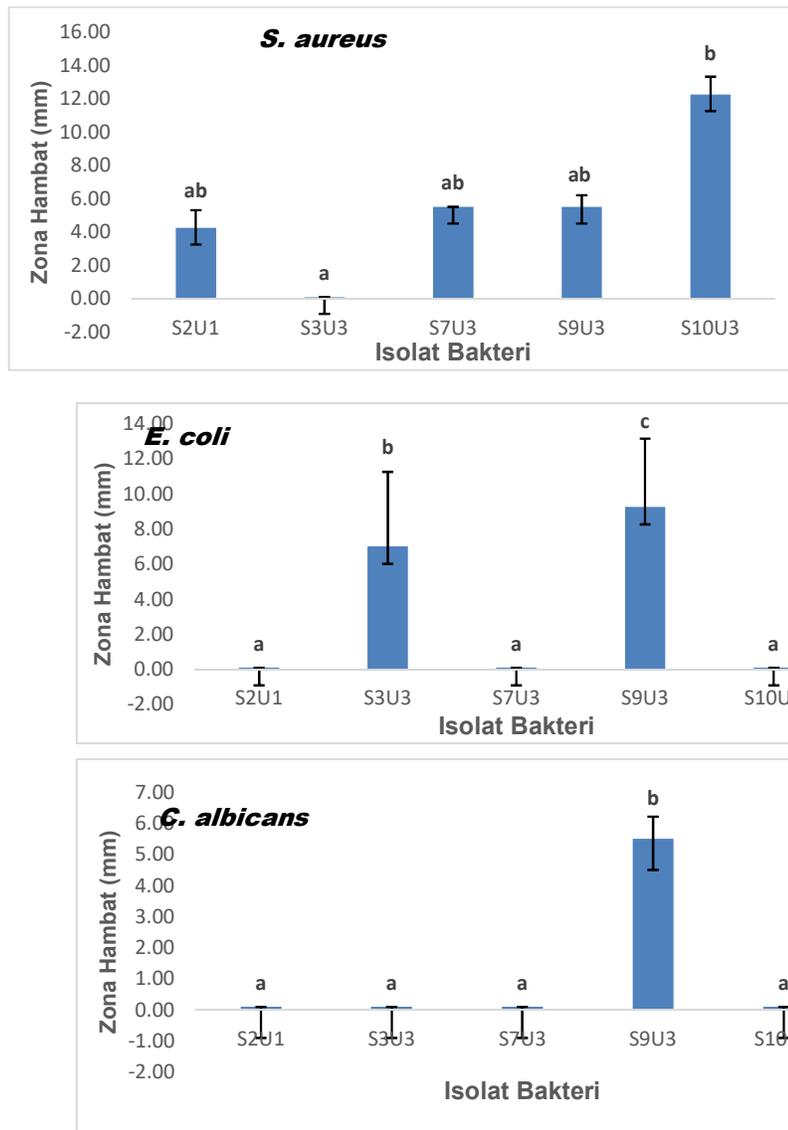
Isolat S9U3 merupakan isolat yang terbaik diantara lima isolat yang terpilih (Gambar 3). Isolat ini mampu membentuk zona bening disekitar sumuran ketiga mikroba patogen uji yang diberikan masing-masing sebesar 5,50 mm terhadap *S. aureus*, 9,25 mm terhadap *E. coli*, dan 5,50 mm terhadap *C. albicans* (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa isolat S9U3 berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat atau mematikan pertumbuhan *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*.

Isolat bakteri penghasil antimikroba memiliki kemampuan berbeda dalam menghambat mikroba patogen uji. Kemampuan isolat bakteri dalam

menghambat mikroba patogen uji dapat di golongan menjadi dua yaitu bersifat bakterisidal dan bakteristatik (Kumar dkk., 2010 dalam Alwi dkk., 2019). Kemampuan senyawa antibakteri yang baik adalah bersifat bakterisidal dan sensitif, yang digunakan karena dengan kedua sifat ini maka bakteri uji atau patogen yang digunakan lisis dan membentuk zona hambat yang tinggi meskipun dengan kuantitas antibakteri yang rendah. Aktivitas penghambatan terjadi melalui banyak mekanisme. Mekanisme kerja senyawa antimikroba dapat berupa: 1) penghambatan sintesis dinding sel yakni sintesis terganggu sehingga dinding sel menjadi kurang

sempurna dan tidak tahan terhadap tekanan osmotik dari plasma sel, akibatnya dinding sel pecah dan lisis, 2) mengubah permeabilitas membran plasma dengan cara mengganggu sintesis molekul lipoprotein sehingga plasma sel dapat merembes keluar/bocor, 3) menghambat sintesis protein sel dengan

cara mengganggu proses translasi, 4) menghambat sintesis asam nukleat dengan cara mengganggu proses replikasi dan transkripsi, 5) penghambatan kerja enzim dalam sel yang dapat mengakibatkan metabolisme sel terganggu (Madigan dkk. 2005; Tortora dkk. 2010).



Gambar 3. Potensi lima isolat bakteri tanah potensial dari CA Tanjung Api terhadap mikroba patogen uji.

Keterangan: Bar yang diikuti oleh huruf yang berbeda secara signifikan berbeda ($p \leq 0,05$).

SIMPULAN

Densitas bakteri pada tanah Cagar Alam Tanjung Api yang dipengaruhi vegetasi tumbuhan yakni 106 sel/gram, sedangkan yang berada di sekitar sumber api (jauh dari vegetasi tumbuhan) densitas lebih rendah yakni 104 dan 105 sel/ gram tanah. Berdasarkan hasil skrining terpilih lima isolat bakteri penghasil antimikroba yaitu S2U1, S3U3, S7U3, S9U3, dan S10U3. Isolat S10U3 merupakan isolat yang paling tinggi zona hambatnya terhadap *S. aureus*, yaitu 12,25 mm

sedangkan terhadap *E.coli* dan *C. albicans* tidak memiliki aktivitas daya hambat. Isolat S9U3 merupakan isolat yang terbaik diantara keempat isolat lainnya karena berbeda secara signifikan dengan isolat yang lainnya (S2U1, S3U3, S7U3 dan S10U3). Isolat ini memiliki aktivitas daya hambat terhadap ketiga mikroba uji yang diberikan secara berturut-turut 5,50 mm terhadap *S. aureus*, 9,25 mm terhadap *E. coli*, dan 5,50 mm terhadap *C. albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbanat, D., Mucieleg, M., & Bush, K. 2003. Novel antibacterial agents for the treatment of serious Gram-positive infections. *Expert. Opin. Inv. Drug.* 12:379-399.
- Alwi, M., Suharjo, S., Ardyati, T., & Subandi, S. 2019. The Potential of Actinomycetes from rhizosphere *Eucalyptus deglupta* Blume. in Lore Lindu National Park, Indonesia as an antibacterial producer. *Drug Invention Today.* 12(10):2176-2184.
- Alwi, M., Suharjo, S., Ardyati, T., & Subandi, S. 2020. Eksplorasi Actinomycetes sebagai kandidat antibakteri patogen yang resisten dari rhizosfer tumbuhan Leda (*E. deglupta* Blum.) di Taman Nasional Lore Lindu, Indonesia. *Biocelbes.* 14 (3):253-267.
- Barakate, M., Ouhdouch, Y., Oufdou, K.H., & Beaulieu, C. 2002. Characterization of rhizospheric soil *Streptomyces* from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World J. Microbiol. Biot.* 18:49-54.
- Barreto, T.R., Silva, A.C.M., Soares, A.C.F., & de Sousa, J.T. 2008. Population densities and genetic diversity of Actinomycetes associated to the rhizosphere of the *Theobroma cacao*. *Brazilian J. Microbiol.* 39:464-470.
- Balai Konservasi Sumber Daya Alam [BKSDA]. 2019. Rencana Pengelolaan Jangka Panjang KPHK Morowali. Sulawesi Tengah, Palu.
- Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiototechnol.* 58 (1):1-26.
- Berdy, J. 2012. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J. Antibiotics.* 65(8):385-395.
- Cappucino, J.G. & Sherman, N. 2008. *Microbiology: A laboratory manual.* Pearson. New York.
- Cholarajan, A., Vijayanthi, G., & Vijayakumar, R. 2012. Isolation,

- characterization and antibacterial activity of terrestrial Actinobacteria in the soils of Thanjavur District, Tamil Nadu, India. *Research J. Sci and Tech.* 4(3):132-139.
- Debananda, Ningthoujam, S., Sanasam, S., & Nimaichand, S. 2009. Screening of Actinomycetes isolates from niche habitats in Manipur for antibiotic activity. *Am J. Biochem. Biotechnol.* 5 (4):221-225.
- Gofar, N., Munawar, M., Widjajanti, H., & Mulya, A.P. 2014. Eksplorasi Bakteri Antagonis Asal Jaringan dan Rhizosfer Tanaman Karet untuk Menekan Pertumbuhan Bakteri Proteolitik pada Bahan Olah Karet (BOKAR). *J. Ilmu Tanah dan Lingkungan.* 16(2):61-66.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th edition). Williams & Wilkins. USA.
- Khandan, D.N., & Janardhana, G.R. 2015. Isolation, identification and assessment of the antimicrobial activity of *Streptomyces flavogriseus* strain ACTK2 from soil sample from Kodagu, Karnataka State in India. *Jundishapur J. Microbiol.* 8:1-8.
- Kumar, P.S., Paulraj, M.G., Ignacimuthu, S., Al-Dhabi, N.A., & Sukumaran, D. 2010. In vitro antagonistic activity of soil *Streptomyces collinus* DPR20 against bacterial pathogens. *J. Microbiol. Biotech. Food Sci.* 7(3):317-324.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. 2005. *Biology of Microorganisms.* Pearson Education Inc. London.
- Mardiastuti, H.W., Karuniawati, A., Kiranasati, A., Ikaningsih, & Kadarsih, R. 2007. Emerging resistance pathogen: Situasi terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Maj. Kedokt. Indonesia.* 57(3):75-79.
- Mohamed, H., Miloud, B., Zohra, F., Garcia-Arenzana, JM., Veloso, A., & Rodriguez-Couto, S. 2017. Isolation and characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara soil with antimicrobial activities. *Int. J. Mol. Cell Med. Spring.* 6(2):109-120.
- Nurkanto, A., Rahmansyah, M., & Kanti, A. 2008. *Teknik Isolasi Aktinomisetes.* LIPI Press, Jakarta.
- Qin, S., Li, J., Chen, H.H., Zhao, G.Z., Zhu, W.Y., Jiang, C.L., Xu, L.H., & Li, W.J. 2009. Isolation, diversity and antimicrobial activity of rare Actinomycetes from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. *Appl. and Environ. Microbiol.* 75(19):6176-6186.
- Rosianty, Y., Lensari, D & Handayani, P. 2018. Pengaruh sebaran vegetasi terhadap suhu dan kelembaban pada Taman Wisata Alam Punti Kayu Kota Palembang. *J. Penelitian Ilmu-Ilmu Kehutanan.* 7(2):68-77.
- Santos, S.B., Carvalho, C.M., & Sillankorva, S. 2009. The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by double-layer agar technique. *BMC Microbiol.* 9:138-148.
- Singh, V., Haque, S., Khare, S., Tiwari, A. K., Katiyar, D., Banerjee, B., Kumari, K., & Tripathi, C. K. M. 2018. Isolation and purification of antibacterial compound from

- Streptomyces levis* collected from soil sample of North India. *PLoS ONE* 13(7):1-10.
- Solecka, J., Zajko, J., Postek, M., & Rajnisz, A. 2012. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. *Cent. Eur. J. Biol.* 7(3):373-390.
- Subramani, R. & Aalbersberg, W. 2013. Culturable rare Actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97:9291-9321.
- Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., & Zuberer, D.A. 2005. Principles and Applications of Soil Microbiology (2nd eds.). Pearson Education Inc. Upper Saddle Rivers. New Jersey.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., & Case, C.L. 2010. *Microbiology an Introduction* (Tenth edition). Pearson Benjamin Cummings. San Francisco.
- Varghese, R., Suchithra, R., Nishamol, S., & Hatha, A.A.M. 2012. Spatiotemporal variation and antibacterial activity of Actinomycetes isolated from high altitude grassland soils of tropical montane Forest-Kerala, India. *Studia Univ Vasile Goldis.* 22:451-455.
- World Health Organization [WHO]. 2014. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. WHO Document Production Service, Geneva, Switzerland.
- Xu, D.B., Ye, W.W., Han, Y., Deng, Z.X., & Hong, K. 2014. Natural Products from Mangrove Actinomycetes. *Mar. Drugs.* 12:2590-2613