

POTENSI ANTIBIOTIK ISOLAT BAKTERI RIZOSFER TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* MULTIRESISTEN

THE POTENCY OF ISOLATE ANTIBIOTIC OF RHIZOSFER BACTERIA TOWARD *Escherichia coli* MULTIRESISTEN BACTERIA

Triastuti Rahayu

Jurusan Pendidikan Biologi, FKIP
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jln. A. Yani, Tromol Pos I, Pabelan Kartasura, Surakarta 57102

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dari rizosfer rumput pangola (*Digitaria decumbens*) dan ternyata mempunyai potensi antibiotik yang besar terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, jamur *C. albicans*, *T. mentagrophytes*, tetapi belum diketahui apakah antibiotik dari isolat bakteri rizosfer tersebut juga berpotensi terhadap bakteri *Escherichia coli* multiresisten. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri rizosfer rumput pangola (*D. decumbens*) yang sudah diperoleh mempunyai potensi antibiotik terhadap bakteri *E. coli* multiresisten antibiotik. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Penelitian Acak Lengkap Pola Faktorial yaitu jenis isolat dan lama fermentasi 2, 4, 6, dan 8 hari masing-masing dengan ulangan sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan deskriptif kualitatif. Pada penelitian ini potensi antibiotik isolat bakteri rizosfer rumput pangola diuji dengan metode sumuran yaitu dengan membuat lubang pada medium agar yang sudah diinokulasi bakteri *E. coli* multiresisten antibiotik. Lubang sumuran diisi dengan isolat bakteri rizosfer rumput pangola masing-masing dibuat 3 kali ulangan dengan lama fermentasi 2, 4, 6, dan 8 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri rizosfer rumput pangola tersebut mempunyai potensi antibiotik “sangat kuat”, “kuat”, dan “sedang”. Isolat bakteri rizosfer rumput pangola yang mempunyai potensi antibiotik “sangat kuat” yaitu P6 (isolat fermentasi 2 hari), dan P1, P5, P6 (isolat fermentasi 8 hari). Potensi antibiotik “kuat” yaitu P1, P2, P4, P5 (isolat fermentasi 2 hari), P1, P2, P4, P5, dan P6 (isolat fermentasi 4 dan 6 hari), P2 dan P4 (isolat fermentasi 8 hari) dan potensi antibiotik “kuat” tetapi

bersifat irradikal yaitu P9 (isolat fermentasi 2 hari) P7 (isolat fermentasi 8 hari). Potensi antibiotik “sedang” yaitu P9 (isolat fermentasi 6 hari). Lama fermentasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* multiresisten antibiotik adalah 8 hari

Kata Kunci: Isolat bakteri rizosfer, rumput pangola, *E. coli*, multiresisten antibiotik

ABSTRACT

The isolation has been done from Rizosfer Pangola Grass (*Digitaria decumbens*) and the fact shows that it has a great antibiotic potency toward *E. coli*, *S. aureus*, jamur *C. albicans*, *T. mentagrophytes* bacteria, although it has not known if that bacteria also has potency toward *Escherichia coli* multiresisten. The purpose of this research is to describe whether the obtained isolate bacteria of rizosfer pangola grass (*D. decumbens*) has antibiotic bacteria toward *E. coli* multiresisten antibiotic bacteria or not. This research applies an experiment method by using Factorial Complete Random Pattern Design, that is isolation and length of fermentation 2, 4, 6, and 8 days each with repeating three times. The collected data is analyzed by using qualitative descriptive. In this research, the potency of isolate antibiotic of pangola grass rizosfer bacteria is tested by sumuran method. It is a method to make a hole in the medium so that the *E. coli* multiresisten antibiotic bacteria can be inoculated. The hole of sumuran is fulfilled by isolate of pangola grass rizosfer bacteria, each is made three times with length of fermentation 2, 4, 6, and 8 days. The result of the research shows that Isolate bacteria of pangola grass rizosfer that has antibiotic potency; “quite strong”, “strong” and “sufficient”. Isolate bacteria of pangola grass rizosfer that has antibiotic potency “quite string” that is P6 (isolate fermentation in 2 days), and P1, P5, P6 (isolate fermentation in 8 days). Antibiotics potency “strong” are P1, P4, P5 (isolate fermentation in 2 days). P1, P2, P4, P5, and P6 (isolate fermentation 4 and 6 days), P2 and P4 (isolate fermentation 8 days) and antibiotic potency “strong” but radically it is P9 (isolate fermentation 2 days) P7 (isolate fermentation 8 days). Antibiotic Potency “sufficient” is P9 (isolate fermentation 6 days). The most effective length of fermentation in preventing the growth *E. coli* multiresisten antibiotic is 8 days.

Keywords: Isolate rizosfer bacteria, pangola grass, *E. coli*, multiresisten antibiotic

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan substansi yang dihasilkan oleh organisme hidup yang dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lain (Zahner, 1972 dalam Hasim, 2003). Antibiotik mempunyai nilai tinggi terutama di bidang kesehatan karena berguna dalam mengobati berbagai penyakit infeksi. Selain mempunyai arti penting dalam bidang kesehatan manusia, antibiotik juga berguna dalam bidang kedokteran hewan untuk mengobati penyakit infeksi dan untuk meningkatkan pertumbuhan hewan ternak. Antibiotik diaplikasikan juga di bidang pertanian untuk meningkatkan hasil-hasil pertanian.

Eksplorasi Actinomycetes terutama genus Streptomyces telah banyak mendapatkan banyak jenis antibiotik, tetapi eksplorasi untuk mendapatkan spesies-spesies Streptomyces baru untuk mendapatkan antibiotik baru tetap dilakukan dan ternyata memang menghasilkan. Eksplorasi tersebut tetap dilakukan karena ada faktor resistensi kuman terhadap antibiotik yang telah ada.

Lebih dari 90 % antibiotik yang dihasilkan dari berbagai spesies Streptomyces digunakan untuk terapi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Tetapi, karena adanya resistensi bakteri yang timbul akibat adanya mutan-mutan baru, maka sering mengakibatkan antibiotik tidak bisa digunakan sesuai dosis yang dianjurkan. Antibiotik tidak efektif lagi dalam dosis anjurannya. Apabila dipaksakan tetap menggunakan dosis di atas dosis anjurannya, dikhawatirkan akan mengakibatkan efek samping yang tidak dikehendaki. Efeknya dapat menyebabkan nyeri perut, demam, pembengkakan hati, berkurangnya sekresi ginjal, dan lain-lain.

Bagi negara berkembang munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik merupakan masalah penting. Hal tersebut mengakibatkan tingkat kematian semakin tinggi. WHO telah mengadakan penelitian terhadap 30 penyakit infeksi dan diketahui bahwa banyak strain bakteri penyebab penyakit infeksi yang resisten terhadap antibiotik (Heymann, 1996). Penyebab timbulnya resistensi bakteri antara lain karena penggunaan antibiotik yang kurang tepat dan meluas.

Oleh karena itu, sangat diperlukan mencari galur-galur antimikroba baru yang menghasilkan antibiotik dengan potensi lebih tinggi dalam membunuh penyakit. Penelitian yang dilakukan Walksman tahun 1950, mendapatkan bahwa ternyata Actinomycetes banyak ditemukan di tanah berumput. Populasi Actinomycetes pada tanah rizosfer rumput mendekati 40 % dari total mikroflora tanah.

Akar rumput mempunyai kemampuan mengeluarkan eksudat (cairan sel yang keluar di sekitar akar), seperti halnya pada tumbuhan lainnya. Hasil eksu-

dasi akar tersebut kemudian menyebar ke tanah rizosfer rumput. Hasil eksudasi merupakan sumber makanan atau sumber kehidupan untuk mikroflora tanah, termasuk mikroorganisme. Akibatnya di sekitar perakaran rumput dapat ditemukan banyak mikroorganisme.

Habitat *Streptomyces* tidak hanya rizosfer rumput saja, tetapi dalam tanah secara umum yang banyak mengandung bahan organik. Bahan organik tersebut merupakan sumber energi utama untuk mikroorganisme tanah tersebut.

Telah dilakukan isolasi dari tanah rizosfer beberapa jenis rumput dan ternyata mempunyai potensi antibiotik yang besar (Wandani dkk, 2005). Tetapi belum diketahui apakah antibiotik dari isolat bakteri rizosfer tersebut juga berpotensi terhadap bakteri *Escherichia coli* multiresisten. Berdasarkan latar belakang di atas, maka akan dilakukan penelitian untuk menguji potensi antibiotik bakteri rizosfer terhadap *Escherichia coli* multiresisten.

METODE PENELITIAN

Bakteri uji menggunakan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik (*amphicillin*, *amphicillin sulbactam*, dan *ciftizoxin*). Isolat bakteri rizosfer rumput Pangola (isolat P1, P2, P4, P5, P6, P7, dan P9) difermentasikan pada medium cair selama 2, 4, 6, dan 8 hari.. Uji antibiotik dilakukan dengan metode sumuran, yaitu cawan petri diinokulasi masing-masing dengan organisme uji (*Escherichia coli* multiresisten) pada medium nutrisi agar. Pada permukaan medium agar dibuat lubang dengan bantuan silinder gelas. Lubang yang terbentuk pada agar kemudian diisi dengan kultur cair isolat bakteri rumput Pangola (pada fermentasi 2, 4, 6, dan 8 hari) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar.

Apabila ada potensi antibiotik, maka di sekitar lubang tadi terlihat zona penghambat pertumbuhan organisme uji. Potensi antibiotik diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar lubang. Langkah ini dilakukan pada semua isolat (ada 7 isolat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji antibiotik ke-7 isolat bakteri rizosfer rumput pangola yaitu isolat P1, P2, P4, P5, P6, P7, dan P9 ke bakteri *E. coli* multiresisten antibiotik diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Diameter Zona Penghambatan Isolat P1-P9 terhadap *E. coli* Multiresisten Antibiotik

Sumber Isolat	Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)
Rumput Pangola (<i>D. decumbens</i>)	P1L2	17,7 **
	P2L2	15 **
	P4L2	18,5 **
	P5L2	12,5 **
	P6L2	21,5***
	P7L2	-
	P9L2	12,7 **
	P1L4	14,7 **
	P2L4	12,3 **
	P4L4	12,5 **
	P5L4	11,8 **
	P6L4	14,5 **
	P7L4	-
	P9L4	-
	P1L6	12,8 **
	P2L6	11 **
	P4L6	12,3 **
	P5L6	11,2 **
	P6L6	12,8 **
	P7L6	-
	P9L6	8,5 *
	P1L8	20,5***
	P2L8	17,5 **
	P4L8	12,3 **
	P5L8	20,3***
	P6L8	20,5 **
	P7L8	10,2*
P9L8	-	

Keterangan

Ir : Zona Hambatan Irradikal

* : Potensi antibiotik “sedang”

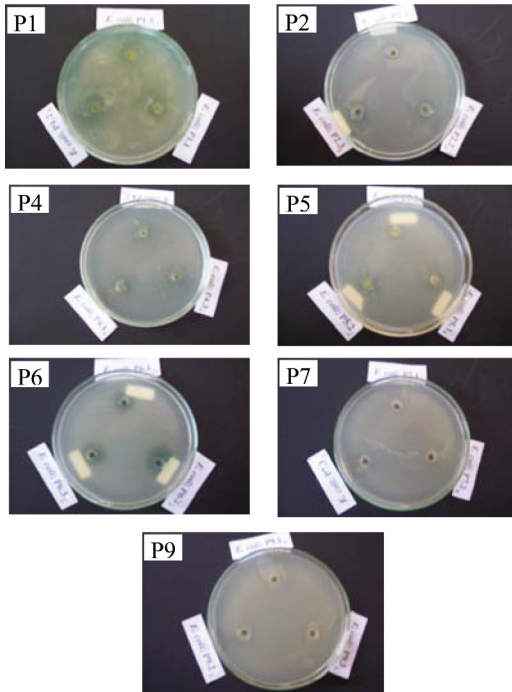
** : Potensi antibiotik “kuat”

*** : Potensi antibiotik “sangat kuat”

P : Jenis isolat bakteri rizosfer rumput pangola (*D. decumbens*)

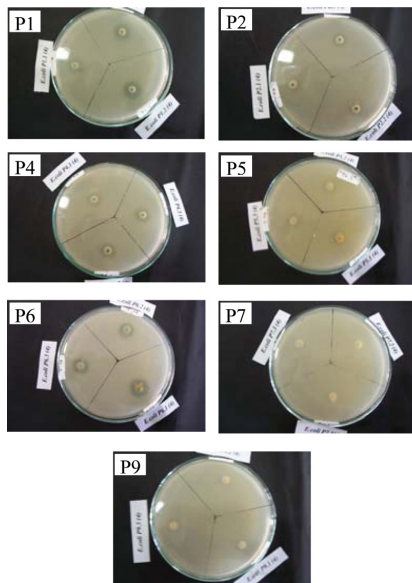
L : Lama fermentasi (hari)

Pada tabel 1 terlihat bahwa isolat bakteri rizosfer rumput pangola P1-P9 yang berpotensi antibiotik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* multiresisten antibiotik. Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat bakteri rizosfer tersebut mempunyai potensi antibiotik “sangat kuat”, “kuat” dan “sedang”, ditandai dengan terbentuknya zona hambat.

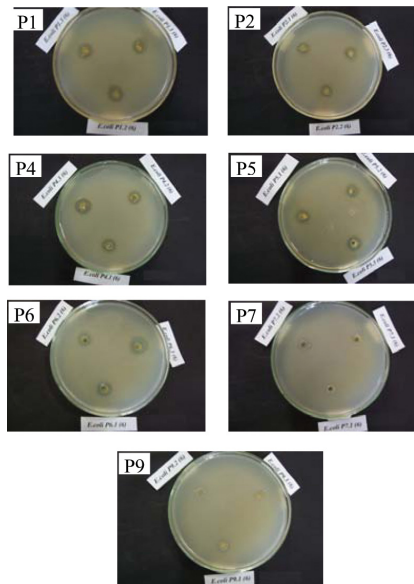


Gambar 2. Diameter Zona Penghambatan Isolat Bakteri Rizosfer Rumput Pangola terhadap Bakteri *E. coli* multiresisten, fermentasi 2 hari

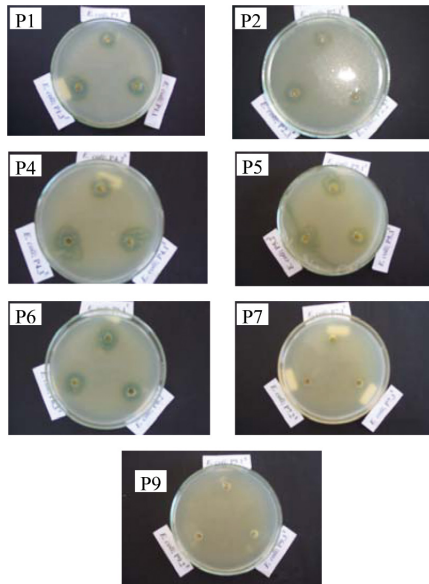
Isolat yang berpotensi antibiotik “sangat kuat” yaitu P6 dengan lama fermentasi 2 hari dan P1, P5, P6 dengan lama fermentasi 8 hari. Isolat yang berpotensi antibiotik “kuat” yaitu P1, P2, P4 dan P5 dengan lama fermentasi 2 hari, P1, P2, P4, P5, P6 dengan lama fermentasi 4 dan 6 hari, P2, dan P4 dengan lama fermentasi 8 hari. Potensi antibiotik “kuat” tetapi bersifat irradikal yaitu P9 dengan lama fermentasi 2 hari. Potensi antibiotik “sedang” yaitu P9 dengan lama fermentasi 6 hari dan potensi antibiotik “sedang” tetapi bersifat irradikal yaitu P7 dengan lama fermentasi 8 hari (Gambar 2 - 5).



Gambar 3. Diameter Zona Penghambatan Isolat Bakteri Rizosfer Rumput Pangola terhadap Bakteri *E. coli* multiresisten, fermentasi 4 hari



Gambar 4. Diameter Zona Penghambatan Isolat Bakteri Rizosfer Rumput Pangola terhadap Bakteri *E. coli* multiresisten, fermentasi 6 hari



Gambar 5. Diameter Zona Penghambatan Isolat Bakteri Rizosfer Rumput Pangola terhadap Bakteri *E. coli* multiresisten, lama fermentasi 8 hari

Zona jernih di sekitar lubang sumuran menunjukkan adanya penghambatan bakteri uji oleh substansi antibakteri yang dihasilkan isolat bakteri rizosfer rumput pangola. Substansi antibakteri tersebut kemungkinan merupakan senyawa metabolit sekunder yaitu suatu senyawa yang diproduksi oleh bakteri melalui alur sintesis khusus. Produksi metabolit sekunder tersebut terbentuk dalam kultur cair yang diinkubasi selama 2-8 hari. Produksi metabolit sekunder oleh substansi antibakteri menghasilkan pigmen yang berwarna hijau.

Dari hasil penelitian terlihat bahwa diameter zona penghambatan yang terbentuk 8,5-10 mm memiliki potensi antibiotik “sedang”, zona penghambatan 10,2-20 mm memiliki potensi antibiotik “kuat”, dan zona penghambatan lebih dari 20 mm memiliki potensi antibiotik “sangat kuat”. Semakin luas diameter zona penghambatan maka akan semakin besar potensi antibiotiknya. Menurut Davis Stout dalam dalam Hasim (2003), kekuatan antibiotik dapat ditentukan sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih mempunyai potensi antibiotik “sangat kuat”, daerah hambatan 10 mm-20 mm mempunyai potensi antibiotik “kuat”, daerah hambatan 5-10 mm mempunyai potensi antibiotik “sedang” dan daerah hambatan 5 mm atau kurang mempunyai potensi antibiotik “lemah”.

Lama fermentasi isolat bakteri rizosfer rumput pangola paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* multiresisten antibiotik yaitu fermentasi selama 8 hari. Menurut Augustine (2004), untuk mendapatkan metabolit sekunder dilakukan isolasi kultur cair dalam 100 ml erlenmeyer pada suhu 37^o C, 250 rpm, dengan lama fermentasi 2 sampai 7 hari. Produksi metabolit maksimal antibakteri dapat dicapai pada fase log yang merupakan bagian dari fase stasioner, dan pada fase ini terjadi penambahan sel secara alami.

Isolat ini sudah pernah diujicobakan pada *E. coli* biasa dengan potensi antibiotik “sangat kuat” dan “kuat” (Ferani, 2005). Oleh karena itu perlu diuji cobakan pada *E. coli* multiresisten antibiotik mengingat banyaknya bakteri yang sudah resisten terhadap antibiotik. Setelah diperoleh bahwa potensi antibiotiknya juga bagus pada *E. coli* multiresisten antibiotik, maka pada pengembangan selanjutnya perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa aktif yang terkandung pada isolat tersebut.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan bakteri *E. coli* multiresisten antibiotik (resisten terhadap *amphicillin*, *amphicillin sulbactam*, dan *ciftizoxin*). Resistensi merupakan suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antimikrobia. Hal ini merupakan salah satu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup. Perubahan sifat genetik terjadi karena bakteri memperoleh elemen genetik yang membawa sifat resistensi, keadaan ini dikenal sebagai resistensi didapat (*acquired resistance*). Elemen resistensi dapat juga diperoleh dari luar dan disebut resistensi dipindahkan (*transferred resistance*). Dapat pula terjadi mutasi genetik spontan atau rangsangan antimikrobia (*induced resistance*) (Ganiswara, 1995).

E. coli merupakan bakteri gram negatif, dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan, lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida, berbentuk kapsul, merupakan jasad indikator adanya jasad yang berbahaya di dalam substrat air dan bahan makanan. Bakteri ini dapat tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana dan dapat meragikan laktosa dalam bentuk asam dan gas, selain itu *E. coli* juga dapat menyebabkan diare, meningitis pada bayi, peritonis, dan infeksi luka (Anonim, 1993; Supardi dan Sukamto, 1999).

Melihat hasil uji potensi antibiotik, menunjukkan bahwa isolat bakteri rizosfer tersebut cukup berpotensi. Terbukti dari uji potensi antibiotik terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Ferani, 2005), *K. pneumoniae* (Lestari, 2006), *C. albicans* (Saputro, 2006), *T. mentagrophytes* (Ardi, 2006) menghasilkan zona penghambatan yang “sangat kuat”, “kuat” dan “sedang”.

Antibiotik digolongkan sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam jalur metabolisme dan oleh enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel. Antibiotik merupakan suatu substansi yang dihasilkan

oleh organisme hidup yang dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lainnya (Zahner dan Mass, 1972 dalam Hasim, 2003).

Pigmen hijau yang dihasilkan oleh isolat P1-P6 merupakan metabolit sekunder yang diperkirakan sebagai antibiotik, sedangkan pada P9 berwarna kecoklatan dikarenakan pada P9 tidak terbentuk pigmen, oleh karena itu pada P9 tidak mempunyai potensi antibiotik. Pada P7 kemungkinan terbentuk metabolit sekunder belum sempurna sehingga mempunyai potensi antibiotik tetapi bersifat irradikal. Dari pigmen yang dihasilkan pada kultur cair menunjukkan bahwa isolat yang menghasilkan pigmen hijau semakin tua maka potensi antibiotiknya semakin bagus. Beberapa pigmen mempunyai sifat antibiotik, korelasi antara pigmentasi dan pembentukan metabolit sekunder dianggap sebagai pembentuk pigmen yang membentuk antibiotik (Schlegel, 1994). Keragaman *Actinomyces* dipengaruhi oleh keragaman jenis tanaman, sebagai contoh bakteri yang tumbuh pada tanah humus. Tanaman yang berbeda akan menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda dan beberapa diantaranya zat kimia yang mengandung racun bagi mikroorganisme dalam tanah termasuk *Actinomyces*. Melalui adaptasi *Actinomyces* mampu memproduksi metabolit sekunder.

SIMPULAN

1. Isolat bakteri rizosfer rumput Pangola (*D. decumbens*) yang sudah diperoleh mempunyai potensi antibiotik terhadap *E. coli* multiresisten sebagai berikut:
 - a. Potensi antibiotik “sedang” yaitu isolat P9 (lama fermentasi 2 hari) dan P7 (lama fermentasi 8 hari).
 - b. Potensi antibiotik :”kuat” yaitu isolat P1, P2, P4, P5, P9 (lama fermentasi 2 hari), P1, P2, P4, P5, P6 (lama fermentasi 4 dan 6hari).
 - c. Potensi antibiotik :”sangat kuat” yaitu isolat P6 (lama fermentasi 2 hari), P1, P5 (lama fermentasi 8 hari).
2. Lama fermentasi isolat bakteri rizosfer rumput Pangola (*D. decumbens*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* multiresisten antibiotik adalah fermentasi 8 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, S.K., Dennis S., and Mary Jane N. 2004. *Laboratory Exercises in Organismal and Molecular Microbiology*. New York: Mc. Graw Hill Companies.
- Ardi, M. W. 2006. Potensi Antifungi Isolat Bakteri Rizosfer Rumput Pangola (*D. decumbens*) Terhadap Jamur *T. mentagrophytes*. Skripsi. FKIP UMS.

- Atlas, R.M. and Bartha, R. *Microbial Ecology Fundamentals and Applications*. Redwood City: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Augustine, S.K. Bhavsar, S.P dan Kapadnis, B.P. 2004. *Productions of A Growth Dependent Metabolite Active Against Dermatophytes By Streptomyces AK 39*. India. Departemen of Mikrobiologi. University of Pune. Pune.
- Ferani, W.2005. *Isolasi Bakteri Rizosfer Rumput Pangola (Digitaria decumbens) Yang Mempunyai Potensi Antibiotik*. Skripsi. UMS.
- Ganiswara, S.G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Jakarta : Fak. Kedokteran UI. Gibson, J.M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat*. Cetakan I. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Hasim. 2003. *Menanam Rumput, Memanen Antibiotik*. Jakarta :Kompas No. 127. Tahun ke-39
- Heymann, D., 1996, WHO and Industry Square Up to New Challenge, 12, *Health Horizons Magazines*, No. 29, London : The Pharmaceutical Press.
- Lestari, C.2005. *Potensi Antibiotik Bakteri Rizosfer Rumput Pangola (Digitaria decumbens) terhadap Klebsiella pneumonia*. Skripsi. UMS.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. 1997. *Biology of Microorganisms*. 8th ed. Prentice Hall Int. Inc.
- Prescott, L.M., Harley, J.P and Klein, D.A. 1999. *Microbiology*. 4th ed. McGRAW-HILL. Comp. LTD. New Delhi.
- Rao. Subba, N.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Diterjemahkan oleh Herawati Susilo. Jakarta : UI Press.
- Saputro, A. D. 2006. *Potensi Antifungi Isolat Bakteri Rizosfer Rumput Pangola (D. decumbens) Terhadap Jamur C. albicans*. Skripsi. FKIP UMS
- Schlegel, Hans and Karin Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Diterjemahkan oleh Tedjo Baskoro. Yogyakarta: UGM Press.
- Supardi, I dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung : Alumni.
- Suwandi, U. 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik*. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan PT Kalbe Farma. Cermin Dunia Kedokteran. No. 76.
- Zahner dan Mass.1972 Dalam Hasim (2003). *Menanam Rumput, Memanen Antibiotik*. Kompas 2003. No. 127/tahun ke-39