

OPTIMASI WAKTU PRODUKSI ANTIBIOTIKA ISOLAT BAKTERIASAL PERAIRAN MAJENE DENGAN VARIASI SUMBER NITROGEN

Fhahri Mubarak¹, Fadhillah Maryam Bau Agiel²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar (Email: fhahrimubarak@gmail.com)

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar (Email: dilla.guerjel@yahoo.co.id)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kebutuhan akan protein dari isolat air laut yang diperoleh dengan mengetahui waktu optimasi yang digunakan untuk menghasilkan antibiotika. Dalam hal ini, nutrisi yang divariasikan adalah protein yang berperan dalam mengendalikan jalur dan waktu metabolisme yang kompleks untuk menjaga kelangsungan hidup suatu organisme. Penelitian memiliki beberapa tahapan, tahap pertama pemilihan isolat dengan cara mengisolasi bakteri dari air laut asal Majene, Sulawesi Barat yang memiliki zona hambatan yang paling besar dan isolat yang menghambat mikroba uji paling banyak yang. Selanjutnya dilakukan penentuan kurva pertumbuhan dari isolat tersebut dengan menginokulasikannya ke dalam medium nutrient broth dan diinkubasi selama 2 kali 24 jam. Dimana setiap interval 2 jam diukur transmittansinya pada spektrofotometer untuk menentukan fase stasionernya. Hasil dari kurva pertumbuhan diperoleh fase stasioner dari jam ke-0 sampai jam ke-48. Selanjutnya dilakukan penentuan kondisi optimum fermentasi dengan variasi sumber nitrogen yaitu pepton dan tripton. Isolat yang terpilih diinokulasikan ke dalam medium produksi kemudian difermentasi menggunakan medium produksi dimana setiap interval 4 jam dilakukan pengambilan produk fermentasi mulai dari jam ke-0 hingga jam ke-48. Aktivasinya diujikan menggunakan metode difusi agar dalam medium Glukosa Nutrient Agar (GNA) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella tiphy*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sumber nitrogen tripton lebih baik daripada pepton dan waktu optimum untuk memproduksi antibiotika adalah pada jam ke-40.

Kata kunci : optimasi, air laut, antibiotika, nitrogen

PENDAHULUAN

Pencarian antibiotik pada zaman sekarang ini sangat dibutuhkan. Ini dikarenakan aplikasi dari antibiotik itu sendiri tidak hanya terbatas pada kemoterapi saja melainkan dalam beberapa aplikasi antibiotik lainnya, seperti antibiotik sebagai bahan tambahan makanan, antibiotik dalam bidang peternakan, antibiotik pada kesehatan hewan dan beberapa aplikasi lainnya.

Mikroorganisme dalam suatu lingkungan akuatik mungkin terdapat pada semua kedalaman, berkisar dari permukaan sampai ke dasar parit-parit yang paling dalam di dasar lautan. Populasi terbesar mikroorganisme menghuni lapisan teratas dan sedimen dasar, terutama di perairan dalam (Pelczar, 2005).

Perairan alami memiliki sifat yang dinamis dan aliran energi yang kontinyu. Hal ini terjadi selama sistem di dalamnya tidak mendapatkan gangguan atau

hambatan, antara lain dalam bentuk pencemaran. Lingkungan perairan meliputi air laut, air payau (peralihan air tawar ke air laut), dan air tawar. Di lingkungan laut lepas memiliki populasi mikroorganisme yang relatif lebih rendah, di lingkungan pantai populasi mikroorganisme terdapat lebih banyak, hal ini karena lingkungan pantai kaya akan nutrien yang berasal dari daratan (Sofa, 2008).

Beberapa bakteri laut dapat tumbuh pada temperatur rendah antara 0 sampai 4°C, temperatur optimalnya antara 18-22°C, proporsi bakteri psikropilik di laut menempati area yang cukup luas. Bakteri psikrofilik obligat juga didapatkan di laut, dimana pertumbuhan optimalnya di bawah suhu 20°C (Waluyo, 2008).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mikrobia berperan atas perubahan kimiawi yang terjadi di dalam air laut dalam menghasilkan antibiotik. Peranan mikrobia dalam beberapa siklus

unsur hara yang penting, seperti siklus Karbon, Nitrogen, Sulfur, ditunjukkan oleh Winogradsky dan Beijerinck. Winogradsky menemukan bakteri yang mempunyai fisiologis khusus, yang disebut bakteri autotrof. Bakteri ini dapat tumbuh pada lingkungan yang seluruhnya anorganik. Energi diperoleh dari hasil oksidasi senyawa anorganik tereduksi, dan menggunakan CO₂ sebagai sumber Karbon. Bakteri autotrof dapat dicirikan dari kemampuannya menggunakan sumber anorganik tertentu. Sebagai contoh, bakteri Belerang dapat mengoksidasi senyawa Belerang anorganik. Penemuan lain bersama Beijerinck adalah adanya bakteri penghambat Nitrogen nonsimbiotik dan simbiotik, yang dapat memanfaatkan Nitrogen dalam bentuk gas N₂.

Fahri Mubarak (2011) telah melakukan penelitian tentang optimasi waktu produksi antibiotika menggunakan variasi nutrisi dari sumber karbon yaitu fruktosa dan glukosa, dan mendapatkan hasil yang berbeda dari kedua sumber tersebut. Nutrisi merupakan substansi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energi. Berdasarkan kebutuhannya, nutrisi dibedakan menjadi dua yaitu makroelemen, yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah yang banyak (gram) dan mikroelemen, yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah sedikit (dalam takaran mg hingga ppm) (Pratiwi, 2008).

Hal inilah yang mendasari dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kebutuhan akan protein dari isolat yang diperoleh dengan mengetahui waktu optimasinya yang digunakan untuk menghasilkan antibiotika. Dalam hal ini, nutrisi yang divariasikan adalah protein berupa nitrogen dimana berperan dalam mengendalikan jalur dan waktu metabolisme yang kompleks untuk menjaga kelangsungan hidup suatu organisme.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini adalah autoklaf,

batang pengaduk, cawan petri (Normax), enkas, inkubator (Memmert), labu erlenmeyer, Laminar Air Flow (LAF), lampuspiritus, osebulat, autoklaf (Smic), oven (Memmert), sendok tanduk, shaker, spoit, tangas air, timbangan analitik (AND), dan vial.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat Air Laut, air suling, alkohol 70%, aluminium foil, *Antimicrobial susceptibility test discs* (Oxoid), biakan murni (*Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*), kertas timbang, larutan NaCl fisiologis, medium GNA (Glukosa Nutrient Agar), medium Nutrient Broth (NB), dan medium produksi.

2. Rancangan Penelitian dan Lokasi Penelitian

Rencana penelitian ini dilakukan pada bulan September 2017 sampai selesai. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar.

3. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air laut dilakukan di perairan Majene, Sulawesi Barat. Sampel diambil di beberapa titik bagian perairan (Gambar 1).

4. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci hingga bersih dengan air suling, kemudian alat-alat gelas dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat gelas yang berskala dan tidak tahan terhadap pemanasan dan yang terbuat dari plastic disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada lampu spiritus.

5. Penyiapan mikroba uji

Bakteri yang telah diremajakan, disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis steril lalu diukur transmittannya 25%T menggunakan spektrofotometer UV-Visibel dengan panjang gelombang 580 nm.

6. Identifikasi isolat aktif

Isolat diperoleh dari hasil isolasi mikroorganisme penghasil antibiotika dari perairan Majene yang diuji aktivitasnya terhadap beberapa mikroba uji.

7. Penentuan kurva pertumbuhan

Isolat yang terpilih diinokulasikan ke dalam medium Nutrient Broth lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (kultur starter). Pengambilan produk fermentasi dilakukan setiap 2 jam mulai pada jam ke-0 hingga lebih 48 jam. Selanjutnya diukur %T setiap produk fermentasi tersebut pada spektrofotometer UV-Visibel.

8. Penentuan kondisi optimum fermentasi

Penentuan waktu fermentasi Isolat yang terpilih diinokulasikan ke dalam medium produksi lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (kultur starter). Sebanyak 50 mL kultur starter diinokulasikan ke dalam labu fermentasi yang berisi 250 mL medium produksi lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Pengambilan produk fermentasi dilakukan setiap 4 jam mulai pada jam ke-0 hingga jam ke-48. Penentuan komposisi medium fermentasi

Sebanyak 50 mL kultur starter diinokulasikan ke dalam labu fermentasi yang berisi 250 mL medium produksi dengan variasi beberapa sumber nitrogen.

9. Pemeriksaan aktivitas antibiotika

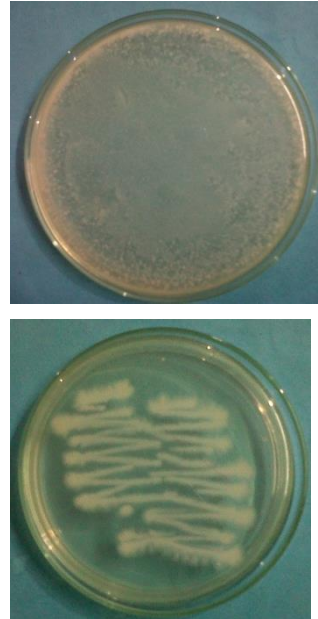
Metode pengujian aktivitas antibiotika yang umum dengan cara difusi agar menggunakan medium GNA.

Medium GNA diambil sebanyak 10 mL dan ditambahkan dengan 20 µl suspensi mikroba, kemudian dimasukkan dalam cawan petri. *Antimicrobial susceptibility test disc* secara aseptik dibenamkan dalam hasil fermentasi kemudian diletakkan di atas permukaan medium yang memadat diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini diperoleh beberapa hasil, dari isolat bakteri aktif dan penentuan kurva pertumbuhan. Isolat yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat yang memiliki zona hambatan yang paling besar dan isolat yang menghambat mikroba uji paling banyak (Gambar 2). Untuk itu dilakukan isolasi mikroba untuk menentukan isolat

aktif dan berpotensi sebagai penghasil antibiotika.



Gambar 2. Isolat air laut

Untuk menentukan waktu optimum produksi antibiotika dari isolat tersebut, terlebih dahulu dilakukan penentuan kurva pertumbuhan. Pertama-tama isolat bakteri diinokulasikan dalam 250 ml medium Nutrient Broth lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Pengambilan produk fermentasi dilakukan dengan interval 2 jam yang selanjutnya diukur transmittansinya pada spektrofotometer.

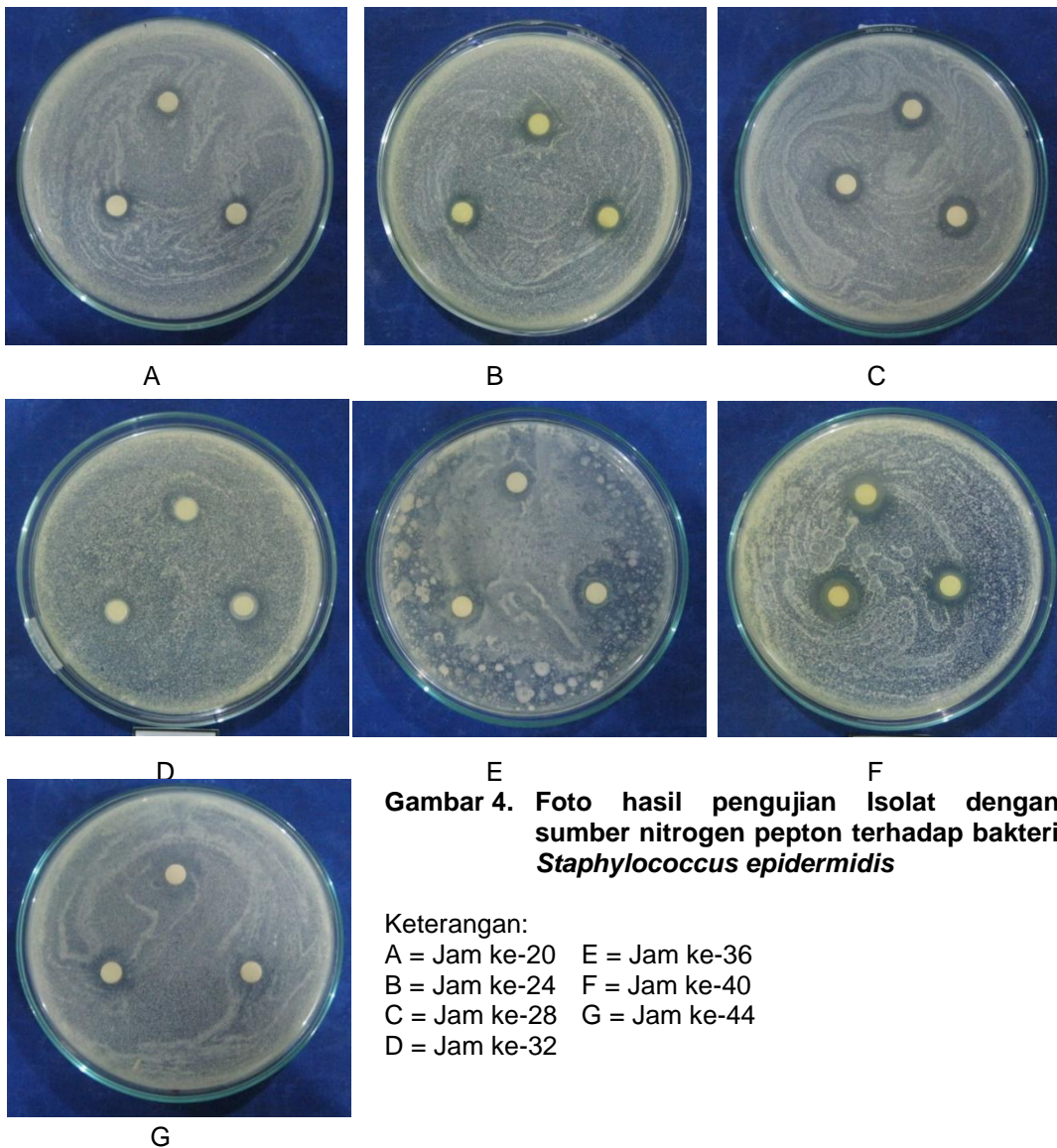
Pada kurva yang terbentuk, akan terlihat fase stasioner dimana pada fase ini pertumbuhan mikroorganisme berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dengan jumlah sel yang mati. Berdasarkan kurva pertumbuhan yang diperoleh, diketahui bahwa fase stasioner dari isolat ini berada pada jam ke-20 hingga jam ke-44. Oleh karena itu, pengerjaan untuk penentuan waktu optimum produksi antibiotik dilakukan pada waktu tersebut.

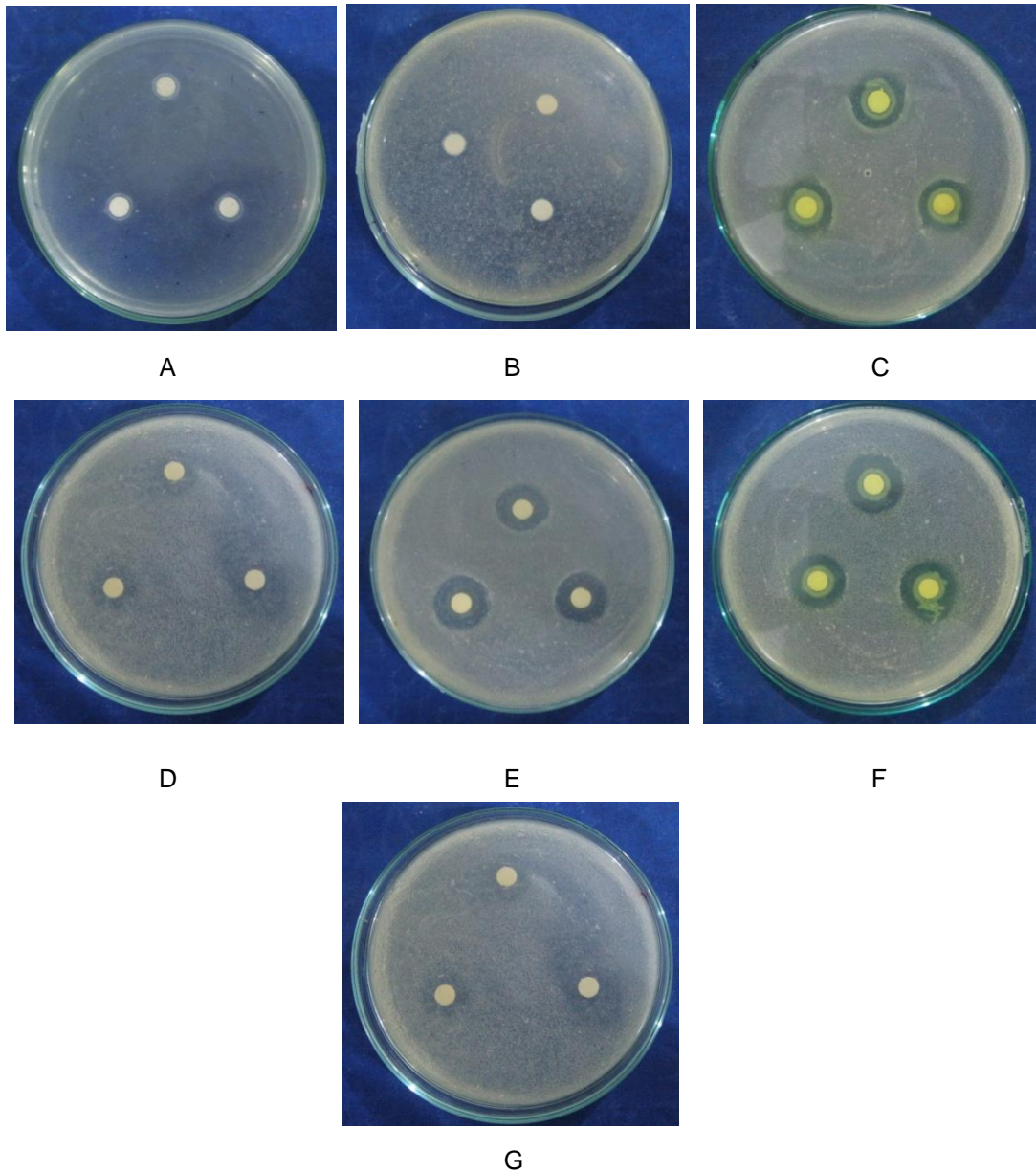
Untuk penentuan waktu fermentasi, terlebih dahulu dibuat kultur starter dimana isolat yang terpilih diinokulasikan ke dalam 50 ml medium produksi kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam. Selanjutnya kultur starter

tersebut diinokulasikan dalam 250 ml medium produksi lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam. Pengambilan produk fermentasi dilakukan setiap 4 jam mulai pada jam ke-20 hingga jam ke-44.

Pada penelitian ini, digunakan medium produksi dengan variasi sumber nitrogen yaitu pepton dan tripton. Variasi sumber nitrogen ini dilakukan untuk melihat kondisi medium yang sesuai dengan isolat untuk memproduksi antibiotik yang optimum. Pengujian aktivitas antibiotika dilakukan terhadap mikroba uji *Salmonella typhi* penyebab

tifoid dan infeksi saluran kemih, dan *Staphylococcus epidermidis* penyebab infeksi neonatus. Mikroba ini digunakan berdasarkan sifat-sifat patogeniknya yang diharapkan isolat mikroba dari air laut di Provinsi Sulawesi Barat dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen tersebut. Hasil pengujian aktivitas antibiotika yang diperoleh menunjukkan sumber nitrogen tripton lebih baik daripada pepton. Sedangkan waktu produksi antibiotika yang optimum berada pada jam ke-40 (Gambar 4-7).





Gambar 5. Foto hasil pengujian Isolat dengan sumber nitrogen pepton terhadap *Salmonella tiphy*

Keterangan:

A = Jam ke-20

B = Jam ke-24

C = Jam ke-28

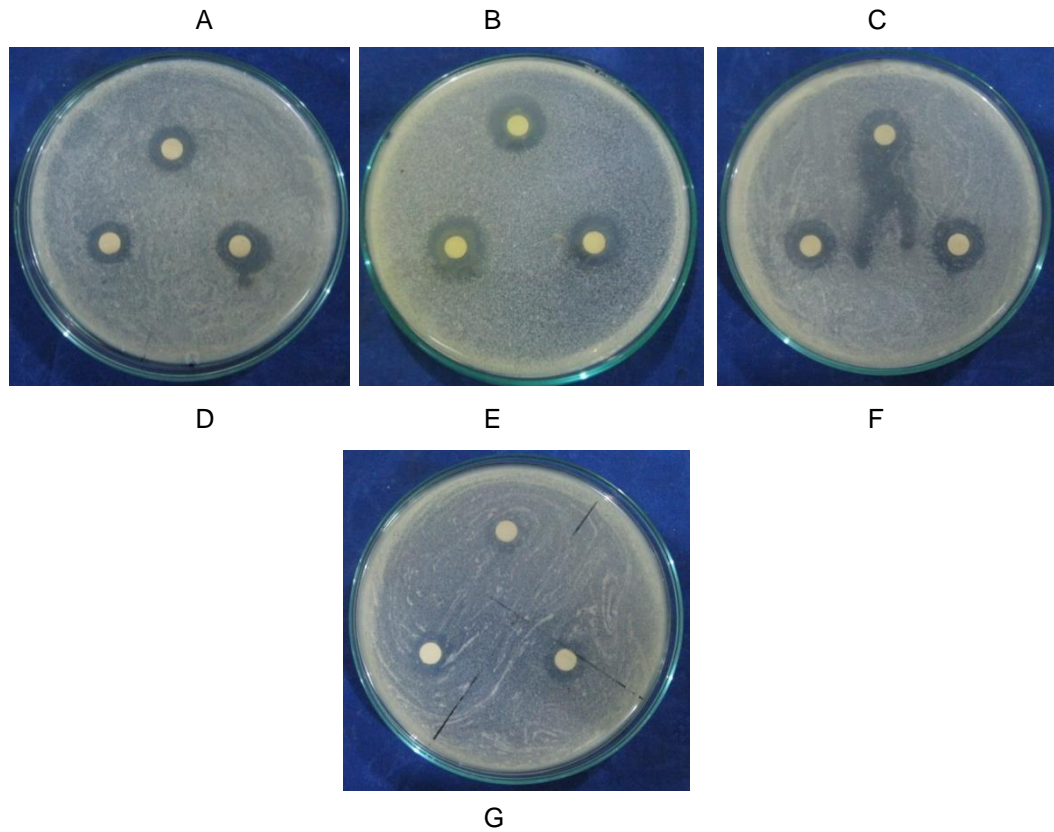
D=Jam ke-32

E = Jam ke-36

F = Jam ke-40

G = Jam ke-44





Gambar 6. Foto hasil pengujian Isolat dengan sumber nitrogen tripton terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Keterangan:

A = Jam ke-20

B = Jam ke-24

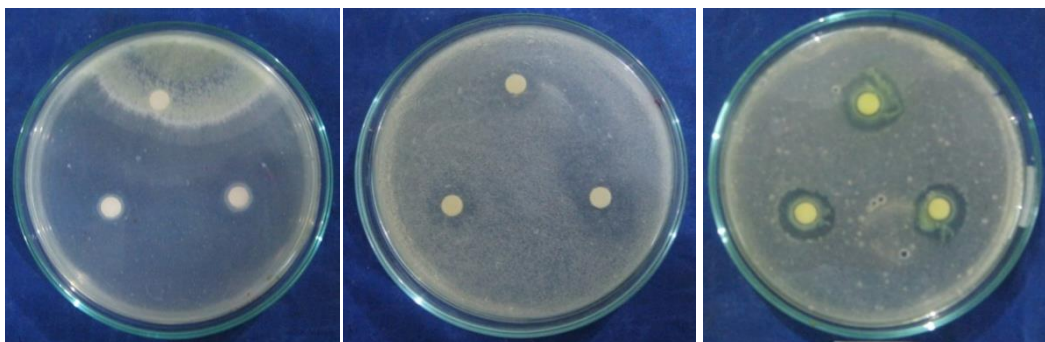
C = Jam ke-28

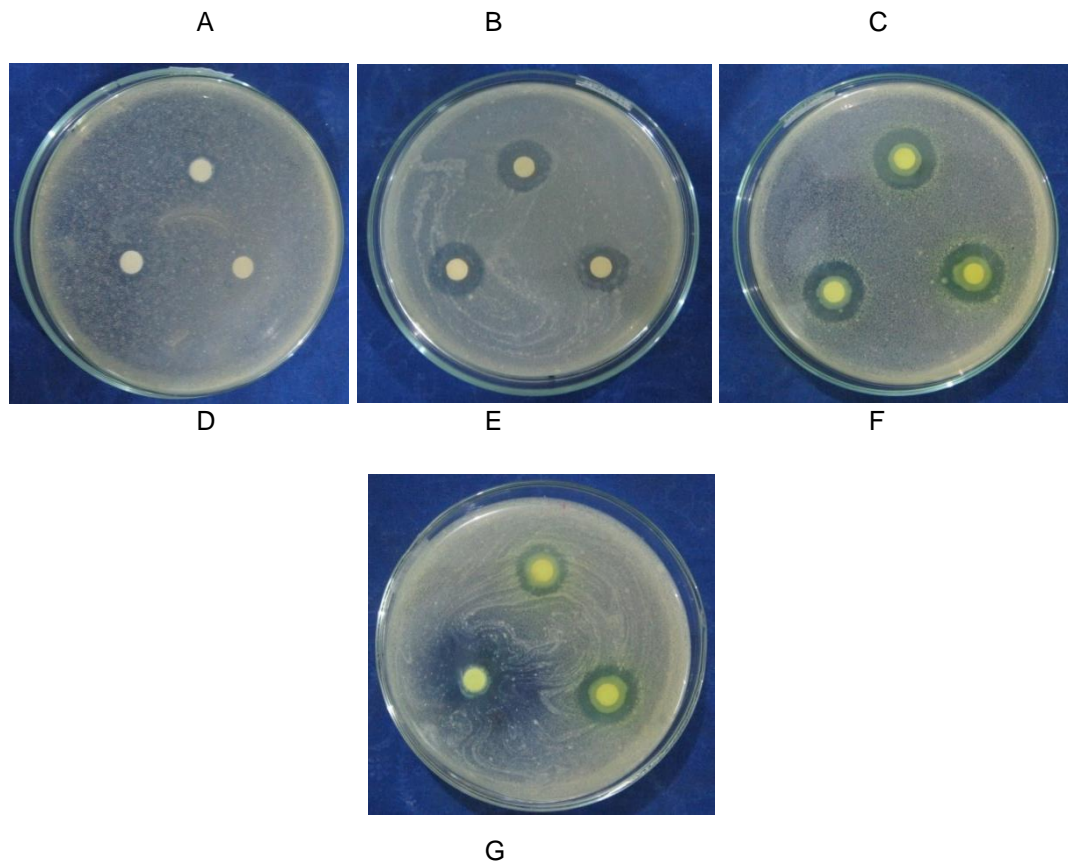
D = Jam ke-32

E = Jam ke-36

F = Jam ke-40

G = Jam ke-44





Gambar 7. Foto hasil pengujian Isolat dengan sumber nitrogen tripton terhadap *Salmonella typhi*

Keterangan:

A = Jam ke-20

B = Jam ke-24

C = Jam ke-28

D = Jam ke-32

E = Jam ke-36

F = Jam ke-40

G = Jam ke-44

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa waktu optimum dalam memproduksi antibiotika adalah pada jam ke-40 dan nutrisi yang terbaik dalam memproduksi metabolit sekunder yaitu sumber nitrogen tripton.

Saran agar dilanjutkan pada penelitian dengan menggunakan sumber nutrisi lainnya dan menggunakan sampel yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

Pelczar, M. J., 2005. **Dasar-dasar Mikrobiologi,** Penerjemah

- R.S.Hadiotomo dkk, UI-Press,
Jakarta.
- Mubarak, F, 2011. **Optimasi Waktu
Produksi Antibiotika Isolat asal
Perairan Majene dengan Variasi
Sumber Karbon.** Universitas
Muslim Indonesia, Makassar :
Indonesia.
- Pratiwi S.T. Mikrobiologi Farmasi.
Erlangga : Jakarta ; 2008.
- Sofa., 2008. **Mikroorganisme dan
Mikrobiota.** (online)
(<http://www.wordpress.com>)
- Waluyo, Lud., 2008. **Teknik Metode
Dasar dalam Mikrobiologi.**
Universitas Muhammadiyah
Malang: Malang

