

## **OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT BAKTERI (ISOLAT TE 234) DAN UJI AKTIVITAS CAIRAN KULTUR TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

**Sandi Kurniawan, Alfian Syarifuddin\*, Herma Fanani Agusta,  
Missya Putri Kurnia Pradani**  
Departemen Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan,  
Universitas Muhammadiyah Magelang

\*Email: [alfiansy@ummgl.ac.id](mailto:alfiansy@ummgl.ac.id)

Artikel diterima: 08 Februari 2020; Disetujui: 24 Agustus 2020  
DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i2.449>

### **ABSTRAK**

Antibiotika merupakan produk metabolik yang dihasilkan suatu mikroorganisme tertentu dalam konsentrasi kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain. Sekitar 22.000 metabolit sekunder berupa antibiotik yang dihasilkan oleh mikroba, 70% diproduksi oleh actinomycetes, 20 % oleh fungi, 7% *Bacillus spp.* dan 1–2% oleh bakteri lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui waktu optimal bakteri memproduksi antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan yaitu metode sumuran dengan diameter lubang sumur 6,00 mm. Hasil uji yang didapatkan, isolat TE234 yang diisolasi dari Rizosfer Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) dapat memproduksi optimal senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada hari ke- 13 dengan diameter zona hambat  $16,00 \pm 4,00$  mm sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* pada hari ke-14 dengan diameter zona hambat  $15,33 \pm 1,15$  mm sehingga bisa sebagai penentu lama inkubasi untuk memproduksi senyawa antibakteri. Isolat TE 234 mampu memproduksi Antibiotik yang berpotensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara optimal pada hari ke-13, sedangkan pada *Escherichia coli* pada hari ke-14.

**Kata kunci:** Antibakteri, *Escherichia coli*, Isolat Te234, *Staphylococcus aureus*

### **ABSTRACT**

*Antibiotics are metabolic products produced by certain microorganisms that can also damage other microorganisms. About 22,000 secondary metabolites in the form of antibiotics are produced by microbes, 70% are produced by actinomycetes, 20% by fungi, 7% Bacillus spp. and 1–2% by other bacteria. This research was conducted to determine the optimal time for bacteria to produce antibacterial which can inhibit the growth of Staphylococcus aureus and Escherichia coli. The method used is the well method with a diameter of 6.00 mm wellbore. The test results obtained, isolates of Te234 can produce optimal antibacterial which can inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria on the 13th day with inhibition zone diameter of  $16.00 \pm 4.00$  mm against Escherichia coli bacteria on the 14th day with*

*inhibitory zone diameter of 15, 33 ± 1.15mm so that it can be used as a determinant of the incubation time to produce antibacterial compounds. The TE 234 isolates are able to produce antibiotics that have the potential for the Staphylococcus aureus bacteria optimally on the 13th day, while on Escherichia coli on the 14th day.*

**Keywords:** *Antibacterial, Escherichia coli, Isolate TE 234, Staphylococcus aureus.*

## **PENDAHULUAN**

Antibiotika merupakan produk metabolik yang dihasilkan suatu mikroorganisme tertentu dalam konsentrasi kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain. Antibiotika merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Owaga E.E, 2009). Mikroorganisme penghasil antibiotik salah satunya adalah bakteri Actinomycetes. Actinomycetes memiliki potensi yang sangat besar untuk menghasilkan senyawa antibiotik baru. Sekitar 22.000 metabolit sekunder berupa antibiotik yang dihasilkan oleh mikroba, 70% diproduksi oleh actinomycetes, 20 % oleh fungi, 7% *Bacillus spp.* dan 1–2% oleh bakteri lainnya (Ratnakomala dkk., 2016).

Pertumbuhan mikroorganisme melewati beberapa fase, antara lain fase lag, merupakan fase awal kondisi jumlah sel sangat sedikit karena

belum mengalami pembelahan dalam media baru. Fase ini berlangsung selama satu jam atau selama beberapa hari. Fase log dimana mulai membelah dan mulai memasuki masa pertumbuhan atau penambahan jumlah sel secara logaritmik dan disebut fase eksponensial. Fase stasioner pada fase ini jumlah yang mati mengimbangi jumlah sel yang baru dan populasi menjadi stabil, aktivitas metabolisme juga melambat pada fase ini. Fase terakhir yaitu fase kematian dimana jumlah kematian pada akhirnya melampaui jumlah sel baru yang terbentuk dan populasi memasuki penurunan jumlah sel.

Optimasi pertumbuhan isolat *Streptomyces sp.* A11 dalam medium glukosakhmir-pepton menunjukkan bahwa fase lag terjadi sampai dengan jam ke-8, fase pertumbuhan cepat (fase logaritma) terjadi pada selang waktu jam ke-9 sampai dengan jam ke-48, dan fase stasioner terjadi pada selang waktu jam ke-48 sampai

dengan jam ke-144. Terjadi pertumbuhan sel cepat maka pada saat itu terjadi represi antibiotik sintetase, sehingga mikroba tidak menghasilkan metabolit sekunder (Sunaryanto, 2011). Optimasi produksi metabolit sekunder menunjukkan bahwa hari kedua merupakan waktu inkubasi terbaik untuk memanen antibiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat T24M Actinomycetes rizosfer tanaman tin (*Ficus carica L.*) menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan MRSA atau bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (Warsi. N, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti akan melakukan optimasi pertumbuhan bakteri isolat Te234 dan melakukan optimasi waktu produksi metabolit sekunder/antibiotik isolat Te234 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Laboratorium Farmasi  
Universitas Muhammadiyah

Magelang, bulan November-Februari 2020

### **Bahan**

Starch nutrient broth (SNB), medium Mueller Hinton, aquades, etil asetat, DMSO 10%, metanol.

### **Preparasi Kultur**

Isolat TE 234 hasil isolasi dari rizosfer tanah tebu di Madugondo, Desa Sitimulyo, Kecamatan Piyungan, Kabupaten Bantul, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta (7°49'57.9"S 110°26'01.1"E), sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 50 mL medium SNB steril (Wang dkk., 2010). Kultur bertingkat dilakukan dengan perbandingan antara starter dengan medium kultur (1:10), yaitu 50 mL kultur ke dalam 500 mL medium SNB steril dan inkubasi pada suhu kamar selama 14hari (Khucharoenphaisan dkk., 2012) disertai agitasi selama 14 hari menggunakan *magnetic stirrer* (Syarifuddin dkk., 2019).

### **Penyiapan Biomassa Sel dan Supernatan**

Hasil kultur uji yang diinkubasi selama 14 hari, setiap hari diambil 2 mL cairan kultur dan

dimasukkan dalam *eppendorf*. Pemisahan biomassa sel dengan supernatan menggunakan alat sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan dari endapannya (biomassa sel), lalu dimasukkan dalam tabung *eppendorf* yang baru dan disimpan dalam *freezer*. Supernatan ini disebut sampel cairan kultur (Syarifuddin dkk., 2018).

#### **Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder berdasarkan Aktivitas Antibakteri**

Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder dapat digunakan untuk menentukan jangka waktu optimal dalam melakukan fermentasi isolat tersebut sampai diproduksi antibakteri. Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder ini ditentukan dengan membuat grafik dengan sumbu X adalah lama fermentasi (hari) dan sumbu Y adalah rata-rata diameter zona hambat (Hamza & Woldesenbet, 2017).

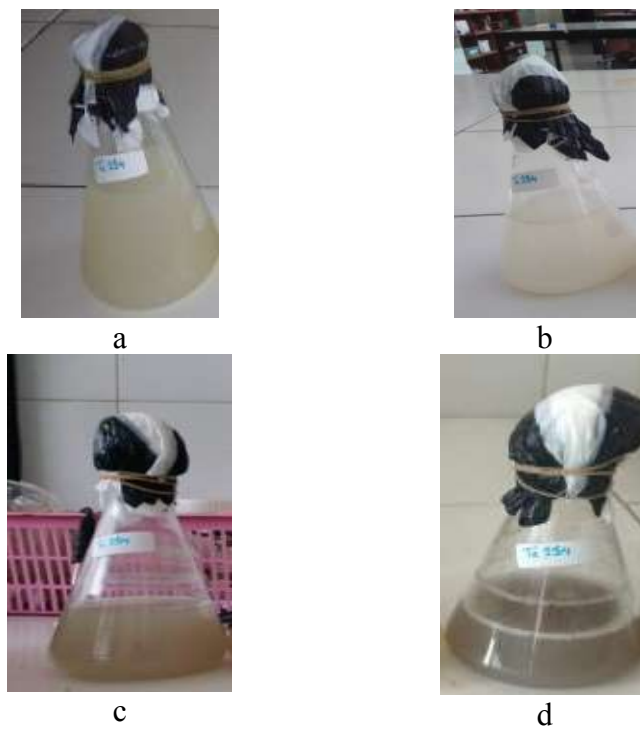
#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Preparasi cairan kultur.**  
Pembuatan kultur starter *Actinomyces* dengan

menggunakan media SNB (*Starch Nitrat Borth*) steril karena mengandung karbon dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan maupun aktivitas bakteri. Sumber karbon media SNB berasal dari soluble starch yang mengandung sejumlah C yang beragam dari pati dan gliserol. Sumber nitrogen anorganik ( $\text{NO}^3$ ) berasal dari  $\text{KNO}_3$ , mineral-mineral dari magnesium, natrium, besi, kalium yang merupakan komposisi media SNB. Kultur starter pada penelitian ini diinkubasi pada suhu ruangan dengan pengadukan menggunakan termoline. Hal ini karena suhu optimum untuk pertumbuhan *Actinomyces* sekitar  $25-37^\circ\text{C}$ , sedangkan fungsi dari pengadukan media selama inkubasi dengan termoline adalah dapat mempengaruhi aerasi dan pencampuran nutrient dalam media fermentasi, sehingga hasil metabolit dapat ditingkatkan melalui peningkatan agitasi tersebut. Proses inkubasi dilakukan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung untuk mengantisipasi apabila senyawa yang terkandung dalam starter tersebut mudah

terdegradasi (Warsi. N, 2018). Kultur bertingkat bertujuan untuk mengkondisikan isolat Te234 berada pada fase log (eksponensial). Perbedaan waktu fase pertumbuhan pada setiap jenis actinomycetes g sangat variatif (Wang dkk., 2010) Sehingga memerlukan optimasi

waktu pertumbuhan bakteri. Isolat TE 234 mengalami perubahan pigmen warna pada cairan kultur yang diinkubasi selama 14 hari (Gambar 1) dan (Tabel 1). Terdapat varian warna hasil metabolisme sekunder dari isolat Actinomycetes (Syarifuddin dkk., 2019).



**Gambar 1.** Cairan kultur isolat bakteri Te234: a) hari 1; b) hari 5; c) hari 10; d) hari 14

**Tabel 1.** Hasil pengamatan perubahan warna cairan kultur

Hari ke-	Warna	Hari ke-	Warna
1	Putih	8	Coklat muda
2	Putih	9	Coklat muda
3	Putih	10	Coklat muda
4	Putih	11	Coklat +
5	Putih	12	Coklat +
6	Coklat muda	13	Coklat ++
7	Coklat muda	14	Coklat +++

**Optimasi Waktu produksi metabolit sekunder isolat TE 234.**

Optimasi waktu produksi metabolit sekunder berupa antibiotik bertujuan untuk menentukan kapan waktu optimal untuk memproduksi metabolit sekunder berupa antibiotik sehingga dapat untuk menentukan waktu yang tepat untuk melakukan fermentasi cairan kultur isolat Actinomycetes. Waktu optimal produksi metabolit sekunder dapat ditentukan dengan cara membuat grafik hubungan antara waktu inkubasi (sumbu X) dengan diameter zona hambat (sumbu Y). Uji optimasi waktu produksi metabolit sekunder cairan kultur isolat Actinomycetes ini menggunakan supernatan cairan kultur uji dari hari ke-1 sampai hari ke-14 (Gambar 2) (Tabel 2 dan 3).

Hasil diameter zona hambat dari cairan kultur isolat TE 234 terhadap bakteri *Staphylococcus*

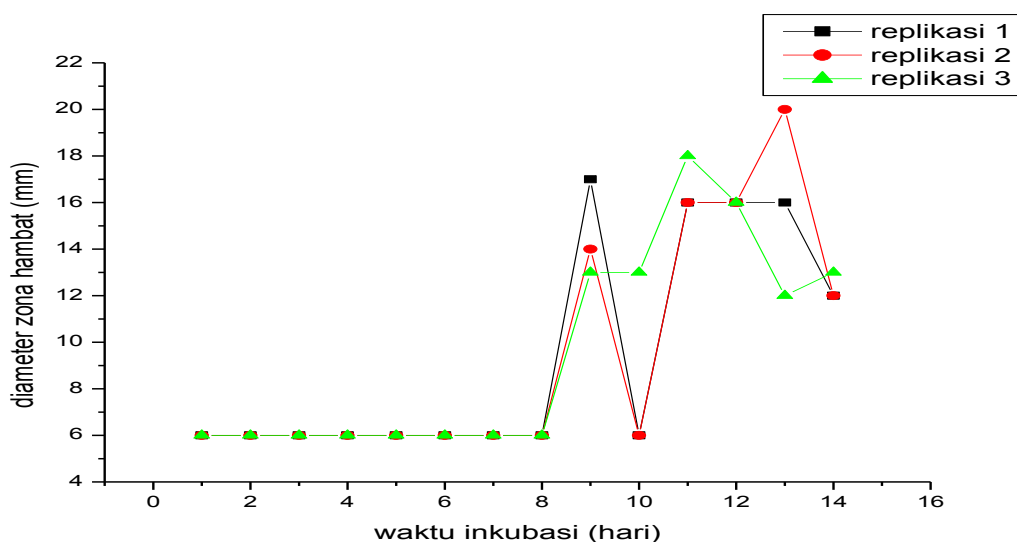
*aureus* menunjukkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* mulai diproduksi pada hari ke-9 dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar  $14,67 \pm 2,08$  mm. Produksi optimal antibakteri terjadi pada hari ke-13 dengan ditunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar  $16,67 \pm 1,15$  mm. Pada hari tersebut dapat dilakukan pemanenan senyawa antibakteri dan ekstraksi senyawa antibakteri dimungkinkan telah masuk pada fase akhir stasioner (Cheng dkk., 2009) sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* pada hari ke-14 yang berdiameter  $15,33 \pm 1,15$  mm. Antibiotik diproduksi optimal pada saat memasuki fase akhir stasioner pertumbuhan bakteri (Sulistiyani & Narwanti, 2015) (Supartono dkk., 2011).

**Tabel 2.** Diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Hari	Zona hambat			Rata-rata ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
2	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
3	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
4	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
5	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$

Hari	Zona hambat			Rata-rata ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
6	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
7	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
8	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
9	17,00	14,00	13,00	14,67 ± 2,08
10	6,00	6,00	13,00	8,33 ± 4,04
11	16,00	16,00	18,00	16,67 ± 1,15
12	16,00	16,00	16,00	16,00 ± 0,00
13	16,00	20,00	12,00	16,00 ± 4,00*
14	12,00	12,00	13,00	12,33 ± 0,57

\*) waktu produksi optimal antibakteri



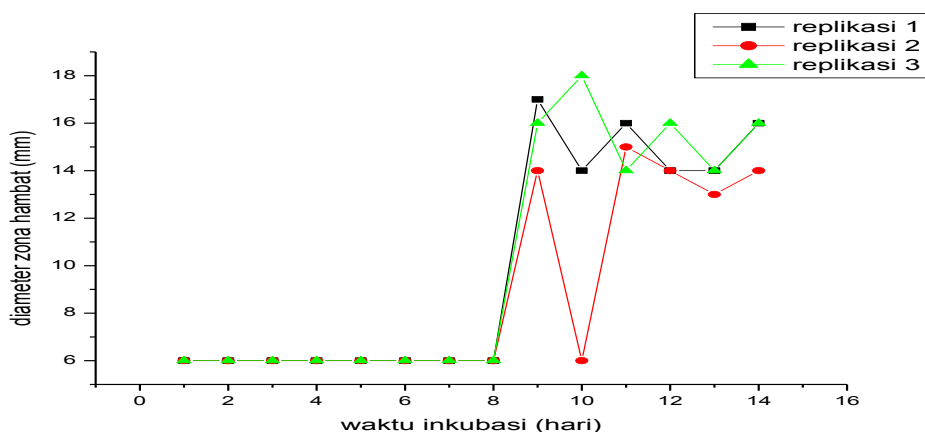
**Gambar 2.** Profil hasil optimasi waktu produksi antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

**Tabel 3.** Diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*

Hari	Zona hambat			Rata-rata ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
2	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
3	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
4	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
5	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
6	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
7	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
8	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
9	17,00	14,00	16,00	15,67 ± 1,52

Hari	Zona hambat			Rata-rata ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
10	14,00	6,00	18,00	12,67 ± 6,11
11	16,00	15,00	14,00	15,00 ± 1,00
12	14,00	14,00	16,00	14,67 ± 1,15
13	14,00	13,00	14,00	13,67 ± 0,57
14	16,00	14,00	16,00	15,33 ± 1,15*

\*) waktu produksi optimal antibakteri



**Gambar 3.** Profil hasil optimasi waktu produksi antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli*

## KESIMPULAN

Isolat bakteri TE 234 yang diisolasi dari Rizosfer Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) memproduksi senyawa antibiotik yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* secara optimal pada inkubasi hari ke-13, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* pada hari ke-14.

## DAFTAR PUSTAKA

Cheng, M.-J., Tseng, M., Chen, I.-S., Liao, C.-C., & Yuan, G.-F. (2009). SECONDARY

METABOLITES FROM THE CULTURE BROTH OF ACTINOMYCETE ACROCARPOSPORA SP. FIRDI 001 AND THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 54(2).  
<https://doi.org/10.4067/S0717-97072009000200024>

Hamza, T. A., & Woldesenbet, F. (2017). *Optimization of Culture Growth Parameters for Production of Protease from Bacteria, Isolated from Soil*. 3(1), 1–10.

Khucharoenphaisan, K., Sripairoj, N., & Sinma, K. (2012). Isolation

- and Identification of Actinomycetes from Termite's Gut Against Human Pathogen. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(1), 68–73.  
<https://doi.org/10.3923/ajava.2012.68.73>
- Owaga E.E, O. C. A. and C. K. N. E. (2009). Wasilatul Fadilla Hehehe. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 9(3), 1–8.
- Ratnakomala, S., Apriliana, P., Fahrurrozi, & dan Wien Kusharyoto, P. (2016). Antibacterial activity of marine actinomycetes from Enggano Island. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, 15(3), 275–283.
- Sulistiyani, N., & Narwanti, I. (2015). *Aktivitas Cairan Kultur Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P301) terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder*. 13, 6.
- Sunaryanto, R. (2011). *Isolasi, purifikasi, identifikasi, dan optimasi medium fermentasi antibiotik yang dihasilkan oleh aktinomisetes laut*.
- Supartono, S., Wijayati, N., Herlina, L., & Ratnaningsih, E. (2011). PRODUKSI ANTIBIOTIKA OLEH *Bacillus subtilis* M10 DALAM MEDIA UREA-SORBITOL. *Reaktor*, 13(3), 185.  
<https://doi.org/10.14710/reaktor.13.3.185-193>
- Syarifuddin, A., Kamal, S., Yuliasuti, F., Pradani, M. P. K., & Septianingrum, N. M. A. N. (2019). Ekstraksi Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Dari Isolat AL6 Serta Potensinya Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 6(2), 210.  
<https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i2.3516>
- Syarifuddin, A., Sulistyani, N., & Kintoko, K. (2018). Activity of Antibiotic Bacterial Isolate Kp13 and Cell Leakage Analysis of *Escherichia coli* Bacteria. *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, 16(2), 137.  
<https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.529>
- Wang, X., Huang, L., Kang, Z., Buchenauer, H., & Gao, X. (2010). Optimization of the Fermentation Process of Actinomycete Strain Hhs.015<sup>T</sup>. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 1–10.  
<https://doi.org/10.1155/2010/141876>
- Warsi, N, S. (2018). *Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder dan Skrining Aktivitas Antibakteri Isolat Actinomycetes Rizosfer Tanaman Tin (Ficus carica)*. 7(1), 15–24.  
<https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v7i1.120>