

## Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *Bacillus subtilis* terhadap *Shigella dysenteriae* secara In Vitro

### *In Vitro Antibacterial Activity of The Extracellular Metabolites of Bacillus subtilis towards Shigella dysenteriae*

Desi Ambarwati\*, Muslimin Ibrahim

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: desiambarwati1998@gmail.com

**Abstrak.** *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen penyebab shigellosis pada manusia dengan tingkat prevalensi tinggi. *S. dysenteriae* mengalami peningkatan resistensi sehingga diperlukan senyawa antibakteri baru. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan keefektifan filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* dan konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler yang optimal dari *B. subtilis* dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* secara in vitro. Uji antibakteri filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* terhadap *S. dysenteriae* menerapkan metode difusi sumuran dengan perlakuan konsentrasi filtrat *B. subtilis* yang terdiri atas konsentrasi 100%, 90%, 80%, dan 70%, kontrol positif (Ampicilin 0,02%), dan kontrol negatif (*Nutrient Broth*) dengan 4 pengulangan. Filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* dipanen dengan sentrifugasi dan difiltrasi dengan mikrofilter 0,22 $\mu$ m. Analisis data diameter zona penghambatan menggunakan Uji Kruskal Wallis dengan *post hoc* Bonferroni. Berdasarkan uji Kruskal-Wallis ( $0,01 < 0,05$ ) konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Semakin tinggi konsentrasi filtrat *B. subtilis* maka semakin tinggi daya hambat pertumbuhan terhadap *S. dysenteriae*. Konsentrasi optimal filtrat *B. subtilis* berdasarkan *post hoc* Bonferroni yaitu 80% ( $4,25 \pm 0,96$  mm), 90% ( $5,00 \pm 1,23$  mm), dan 100% ( $9,88 \pm 3,45$  mm). Konsentrasi filtrat *B. subtilis* efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* secara in vitro sehingga berpotensi digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit shigellosis.

**Kata kunci:** Antibakteri; *Bacillus subtilis*; *Shigella dysenteriae*; Zona Hambat

**Abstract.** *Shigella dysenteriae* is pathogenic bacteria that cause shigellosis with a high prevalence rate. *S. dysenteriae* has increased resistance, so new antibacterial compounds are needed. The research goals were to describe the effectiveness of the *B. subtilis*'s extracellular metabolite filtrate and the optimal concentration of *B. subtilis*'s filtrate, which causes inhibition of *S. dysenteriae*'s growth in vitro. The antibacterial test for *B. subtilis*'s filtrate against *S. dysenteriae* applied the microwell diffusion with *B. subtilis*'s filtrate concentration of 100%, 90%, 80%, and 70%, positive control (Ampicillin 0.02%), and negative control (*Nutrient Broth*) with four repetitions. The *B. subtilis*'s filtrate was harvested by centrifugation and filtered with a 0.22 $\mu$ m microfilter. The Kruskal-Wallis test was used to analyze the data of inhibition zone diameter with the *posthoc* Bonferroni Test. Based on the Kruskal-Wallis test ( $0.01 < 0.05$ ), the *B. subtilis*'s extracellular metabolite filtrate concentration is effective to inhibit *S. dysenteriae*'s growth. The higher the *B. subtilis*'s filtrate concentration, the higher the inhibition of *S. dysenteriae*'s growth. The optimal concentration of *B. subtilis*'s filtrate based on Bonferroni's *post hoc* was 80% ( $4.25 \pm 0.96$  mm), 90% ( $5.00 \pm 1.23$  mm), and 100% ( $9.88 \pm 3.45$  mm). The concentration of *B. subtilis*'s filtrate is effective in inhibiting *S. dysenteriae*'s growth in vitro, so it is potentially used as a drug to treat shigellosis.

**Kata kunci:** Antibacterial; *Bacillus subtilis*; *Shigella dysenteriae*; Inhibition Zone

## PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu penyakit dengan persentase mortalitas tertinggi di Indonesia (Muhaimin *dkk.*, 2003). Penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur (Mutsaqof *dkk.*, 2015). Salah satu penyakit infeksi yang umum terjadi dan menyebabkan persentase mortalitas pada anak-anak tinggi selain pneumonia dan malaria yaitu diare (WHO, 2016). Diare adalah suatu kondisi tidak normalnya feses yang diekskresikan dengan frekuensi diatas normal dalam sehari dimana

konsistensi feses lunak bahkan berair (Departemen Kesehatan RI, 2011). Penyakit diare di Indonesia merupakan masalah kesehatan yang sangat beresiko karena tingginya persentase morbiditas dan mortalitas. Berdasarkan riset Subdit Diare, Departemen Kesehatan pada tahun 2003-2010 terjadi peningkatan jumlah penduduk yang mengalami diare yaitu dari 301 penduduk menjadi 411 penduduk dari 1000 total penduduk (Balitbang Kementerian Kesehatan RI, 2013). Sebanyak 1213 orang menderita diare di 11 provinsi, 18 kabupaten/kota yang terjadi pada tahun 2017 (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

Penyakit diare salah satunya *shigellosis* atau disentri basiler disebabkan oleh *Shigella dysenteriae* (Centers Disease Control and Prevention, 2016). Disentri merupakan penyakit dengan gejala seperti diare namun juga terjadi pendarahan, terdapat sputum dalam feses, adanya rasa perih saat feses dikeluarkan, dan disertai dengan demam (IDAI, 2013). Menurut Hosseini *et al.* (2007) dan Bangkele *dkk.* (2015) kasus disentri terjadi pada 165 juta jiwa di seluruh dunia dan setiap tahunnya sekitar 11 juta jiwa meninggal dunia, sedangkan di Indonesia sekitar 29% kematian terjadi karena kasus disentri dengan korban yang didominasi dari kelompok balita dengan rentang usia 1-4 tahun.

Pemberian antibiotik digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi oleh mikroorganisme patogen. Namun bakteri akan resisten terhadap antibiotik apabila antibiotik yang digunakan tidak sesuai dosis (Abimbola, 2013). Di Indonesia penggunaan antibiotik sekitar 40-60% tidak sesuai dengan dosis (Kementerian Kesehatan RI, 2011). *S. dysenteriae* mengalami resistensi terhadap antibiotik Azithromycin, Ciprofloxacin, dan Ceftriaxone (Rahman *et al.*, 2007). Resistensi terhadap antibiotik terjadi karena adanya mutasi spontan yang dialami oleh bakteri karena paparan antibiotik dalam jangka panjang (Najafi and Pezeshki, 2013). Karena tingginya kasus resistensi terhadap antibiotik maka diperlukan senyawa antibakteri baru. Senyawa antibakteri dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme terutama jamur dan bakteri (Supartono *dkk.*, 2011).

Salah satu bakteri yang mampu memproduksi senyawa antibakteri yaitu *Bacillus subtilis*. *B. subtilis* merupakan bakteri yang tidak bersifat patogen terhadap manusia sehingga aman untuk digunakan sebagai probiotik dan untuk diteliti dalam taraf laboratorium (Allen *et al.*, 2011). *B. subtilis* ditemukan dan diisolasi di lingkungan baik pada tanah maupun perairan.

Genus *Bacillus* mampu menghasilkan senyawa antibakteri yaitu bakteriosin yang berpotensi menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme lain terhambat (Awais *et al.*, 2010). Bakteriosin merupakan senyawa peptida yang memiliki keuntungan yaitu tidak bersifat toksik, dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain dan mudah terdegradasi oleh enzim proteolitik, serta tidak berbahaya terhadap mikroflora di usus karena mudah dicerna oleh enzim pencernaan (Jagadesswari *et al.*, 2010). Jumlah bakteriosin yang dihasilkan oleh genus *Bacillus* yaitu sekitar 167 dan 66 diantaranya merupakan senyawa antibiotik yang berasal dari *B. subtilis*. Senyawa bakteriosin yang dihasilkan oleh *B. subtilis* terdiri atas senyawa polymyxin, diffidicin, subtilin, mycobacilin, dan basitrasin (Awais *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Supartono *dkk.* (2011) *B. subtilis* BAC4 mampu menghambat pertumbuhan *Serratia marcescens* ATCC 27117. *B. subtilis* bersifat antagonistik terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* (Das *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian Budianto dan Suprastyani (2017) *B. subtilis* mampu menghambat bakteri *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. Namun belum ditemukan penelitian terkait potensi *B. subtilis* sebagai penghambat pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *S. dysenteriae*.

Oleh sebab itu mendeskripsikan keefektifan konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yang berbeda sebagai penghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* dan mendeskripsikan konsentrasi optimal dari filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yang menyebabkan pertumbuhan *S. dysenteriae* terhambat menjadi tujuan dari penelitian ini.

## BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan penelitian selama bulan September hingga November 2020 dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya dengan bahan dan alat yang terdiri atas suspensi bakteri *Bacillus subtilis* FNCC 0059 dan *Shigella dysenteriae* DKY 4 didapatkan dari Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, akuades, antibiotik ampicilin, media *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth*, larutan NaCl fisiologis 0,9%, alkohol 70%, neraca analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, tabung reaksi, cawan Petri, inkubator, penggaris, *cork borer* ukuran 0,5 cm, spuit 1 cc, spuit 10 cc, mikrofilter ukuran 0,22 µm merk Sartorius, jarum ose, *rotary shaker*, *centrifuge*, dan *vortex*.

*S. dysenteriae* sebanyak satu ose dibiakkan dalam erlenmeyer berisi 100 mL media *Nutrient Broth* selama sehari dengan suhu pemeliharaan 37°C. Bakteri berumur 24 jam diambil 0,5 ml dicampurkan dengan 4,5 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% steril. Larutan selanjutnya divortex dan diencerkan hingga kekeruhannya sebanding dengan standar Mc Farland 0,5 yang sebanding dengan konsentrasi bakteri  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml (Dalyn Biologicals, 2014).

Pembiakan satu ose *B. subtilis* dalam 50 mL *Nutrient Broth* dilakukan menggunakan *rotary shaker* berkecepatan 130 *cycles*/menit selama dua hari (48 jam) pada suhu ruang (37°C). Bakteri kemudian dipanen dengan sentrifugasi selama 15 menit dalam kecepatan 12.000 rpm. Filtrasi dengan mikrofilter ukuran 0,22  $\mu$ m dilakukan untuk memperoleh filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* dan penyimpanan dilakukan pada temperatur 6-8°C. Filtrat metabolit ekstraseluler diencerkan dengan *Nutrient Broth* steril hingga mencapai konsentrasi yang ditentukan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Ansari *et al.*, 2012; Budiando dan Suprastyani, 2017).

Uji Aktivitas Antibakteri Filtrat Metabolit Ekstraseluler *B. subtilis* terhadap *S. dysenteriae*. Suspensi bakteri uji dituang ke cawan Petri sebanyak 1 ml kemudian tuangkan media *Nutrient Agar* 15 mL pada kondisi temperatur media  $\pm$  65-75°C lalu homogenkan. Setelah media memadat selanjutnya dibuat lubang dengan jarak tertentu menggunakan *cork borer* ukuran 0,5 cm. Teteskan filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* dengan masing-masing konsentrasi di setiap sumuran sebanyak 0,1 ml, dan media *Nutrient Broth* sebagai kontrol negatif, serta kontrol positif dengan antibiotik ampicilin (0,02%). Inkubasi media selama 2 hari dengan suhu pemeliharaan 37°C, selanjutnya mengukur diameter daerah penghambatan menggunakan penggaris.

Rancangan Acak Lengkap digunakan untuk merancang variabel penelitian yang terdiri atas beberapa level konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yaitu 70%, 80%, 90%, 100%, kontrol negatif dengan media *Nutrient Broth*, serta kontrol positif dengan ampicilin 0,02% dengan masing-masing empat pengulangan. Data berupa rata-rata diameter zona penghambatan pertumbuhan dihitung dari selisih diameter zona hambat dengan diameter sumuran seperti pada rumus berikut (Tuna, 2015).

$$D = \frac{(D1 - A) + (D2 - A)}{2}$$

Keterangan:

D: rata-rata diameter zona penghambatan (cm)

D1: diameter horizontal zona jernih (cm)

D2: diameter vertikal zona jernih (cm)

A: diameter sumuran (cm)

Uji Kruskal Wallis dan analisis *post hoc* Bonferroni digunakan untuk menganalisis signifikansi data hasil pengukuran diameter zona penghambatan.

## HASIL

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan efektivitas konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* sebagai penghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro* dengan menerapkan metode difusi sumuran. Pada tabel 1. menunjukkan hasil diameter zona penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae*.

Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa setiap perlakuan konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* membentuk zona penghambatan di sekitar sumuran sehingga filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* berpotensi menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Perlakuan kontrol positif (Ampicilin 0,02%) membentuk rata-rata diameter zona penghambatan paling tinggi yaitu sekitar  $27,33 \pm 0,50$  mm, diikuti konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* 100% ( $9,88 \pm 3,45$  mm), 90% ( $5,00 \pm 1,23$  mm), 80% ( $4,25 \pm 0,96$  mm), dan 70% ( $2,75 \pm 0,50$  mm). Sementara itu perlakuan kontrol negatif dengan media *Nutrient Broth* pada setiap pengulangan tidak membentuk zona hambat. Gambar 1. memvisualisasikan zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae* oleh filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* dan antibiotik ampicilin.

Pengujian data dalam menentukan hasil normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov ( $0,00 < (0,05)$ ) menunjukkan bahwa data diameter zona penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae* tidak berdistribusi normal. Pengujian data dalam menentukan hasil homogenitas menggunakan uji Levene menunjukkan bahwa data tidak homogen ( $0,003 < (0,05)$ ). Berdasarkan hasil pengujian keduanya syarat uji Kruskal Wallis terpenuhi untuk analisis data diameter zona penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae*.

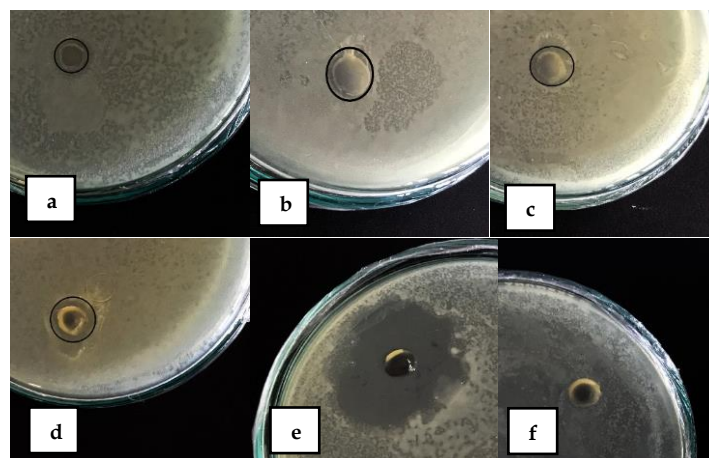
Berdasarkan hasil analisis Kruskal Wallis konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* ( $0,001 < (0,05)$ ). Konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yang berbeda menyebabkan aktivitas penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae* yang berbeda. Analisis *post hoc* Bonferroni dilakukan karena data berpengaruh secara signifikan.

Uji Bonferroni bertujuan untuk menjawab hipotesis kedua yaitu menentukan konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yang optimal dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* dan untuk menentukan kelompok yang menyebabkan perbedaan bermakna pada zona hambat yang dihasilkan. Analisis *post hoc* Bonferroni menunjukkan kelompok yang menyebabkan perbedaan bermakna yaitu kelompok kontrol negatif dan kontrol positif ( $0,001 < 0,05$ ), kelompok kontrol negatif dan konsentrasi 100% ( $0,023 < 0,05$ ), serta kelompok konsentrasi 70% dan kontrol positif ( $0,025 < 0,05$ ). Kelompok lainnya tidak menyebabkan perbedaan bermakna. Berdasarkan analisis *post hoc* Bonferroni konsentrasi 80% ( $0,377 > 0,05$ ), 90% ( $1,000 > 0,05$ ), dan konsentrasi 100% ( $1,000 > 0,05$ ) tidak ada beda terhadap kontrol positif. Oleh sebab itu perlakuan konsentrasi 80%, 90%, dan 100% dapat diasumsikan sebagai konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* optimal yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae*.

**Tabel 1.** Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *B. subtilis* terhadap *S. dysenteriae* secara in vitro.

Perlakuan	Rerata Diameter Zona Hambat $\pm$ SD (mm)
70%	2,75 $\pm$ 0,50
80%	4,25 $\pm$ 0,96*
90%	5,00 $\pm$ 1,23*
100%	9,88 $\pm$ 3,45*
Kontrol positif (Ampicilin 0,02%)	27,33 $\pm$ 0,50
Kontrol negatif	0,00 $\pm$ 0,00

Keterangan: \* menunjukkan kelompok yang tidak berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif berdasarkan analisis *post hoc* Bonferroni.



**Gambar 2.** Diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri dari filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* terhadap *S. dysenteriae*: (a) zona hambat filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* konsentrasi 70% terhadap *S. dysenteriae*; (b) zona hambat filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* konsentrasi 80% terhadap *S. dysenteriae*; (c) zona hambat filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* konsentrasi 90% terhadap *S. dysenteriae*; (d) zona hambat filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* konsentrasi 100% terhadap *S. dysenteriae*; (e) zona penghambatan ampicilin terhadap *S. dysenteriae*; (f) kontrol negatif.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan keefektifan konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Berdasarkan analisis data diketahui bahwa setiap perlakuan menunjukkan respon penghambatan dengan menghasilkan zona penghambatan (*clear zone*). Area jernih yang terbebas dari pertumbuhan bakteri akibat pengaplikasian filtrat yang mengandung senyawa bioaktif disebut sebagai zona penghambatan (Amalia dan Trimulyono, 2018).

Pengujian Kruskal Wallis menunjukkan konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* ( $0,001 < (0,05)$ ). Konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *Bacillus subtilis* yang berbeda menyebabkan perbedaan efektivitas penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae* secara in vitro. Hal ini terjadi karena pada filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* mengandung senyawa bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Jagadeswari *et al.*, 2010).

Menurut Chavan and Rhiley (2007) bakteriosin akan menghambat pertumbuhan bakteri yang reseptor permukaannya selnya dikenali oleh senyawa tersebut. Reseptor utama tempat senyawa bakteriosin berikatan dengan bakteri yaitu lipid karena lipid bersifat nonpolar sehingga memudahkan masuknya senyawa bakteriosin yang bersifat nonpolar ke dalam sel bakteri (Kusumawati, 2016). Lipid merupakan penyusun dinding sel bakteri gram negatif paling banyak yaitu sebesar 11-12% dibandingkan kandungan peptidoglikan (Pelczar and Chan, 2005). *S. dysenteriae* merupakan bakteri gram negatif yang membran luarnya tersusun atas lipopolisakarida, fosfolipid, dan polisakarida (Astuti dan Sasongko, 2014). Pada susunan lipopolisakarida dan peptidoglikan bakteri gram negatif mengandung gugus COO<sup>-</sup> sehingga membran sel bakteri bermuatan negatif (Nurainy *dkk.*, 2012).

Senyawa bakteriosin merupakan senyawa antimikroba yang bermuatan positif yang jika berikatan dengan membran luar *S. dysenteriae* yang bermuatan negatif akan menyebabkan terbentuknya pori (Viogenta, 2010). Pori ini akan menyebabkan permeabilitas membran sel *S. dysenteriae* terganggu sehingga molekul ekstraseluler dan molekul intraseluler dapat dengan mudah keluar masuk sel. Hal tersebut akan menyebabkan kematian *S. dysenteriae* karena kerusakan membran sel berpengaruh terhadap transportasi nutrisi bagi bakteri (Amanah dan Cornelli, 2017). Selain itu, senyawa bakteriosin dapat menghambat pertumbuhan sel dengan cara menghilangkan *proton motive force*. Hal ini menyebabkan pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* terhambat karena *proton motive force* berfungsi sebagai penghasil energi. Jika sel bakteri tidak memiliki *proton motive force* maka tidak akan terbentuk protein dan ATP sehingga proses metabolisme tidak berlangsung dan sel akan mati (Rahmah *dkk.*, 2017).

Senyawa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* antara lain streptovidin, basitrasin, surfaktin, fengisin, iturin A, polymyxin, colistin, circulin, difficidin, subtilin, subtilosin, dan mycobacilin (Awais *et al.*, 2010). Senyawa subtilin akan menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri. Membran sel yang rusak menyebabkan pengontrolan keluar masuknya komponen penting sel dan komponen asing terganggu sehingga menyebabkan proses metabolisme bakteri terhambat dan berakibat pada kematian sel (Lingga *dkk.*, 2016). Selain itu, membran sel yang rusak akan mengganggu proses biosintesis enzim-enzim penting yang terlibat dalam proses metabolisme sel sehingga proses metabolisme tidak terjadi dan sel mengalami kematian (Lingga *dkk.*, 2016).

Adapun senyawa polymyxin yang memiliki prinsip kerja yaitu dengan mengganggu keseimbangan ion yang menyebabkan pembengkakan sel karena meningkatnya transport ion ke dalam sel dan tidak diimbangi dengan keluarnya ion. Hal ini akan menyebabkan sel mengalami lisis (Meles *dkk.*, 2011). Senyawa lain yang juga menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri yaitu senyawa surfaktin. Senyawa surfaktin menyebabkan penurunan tegangan permukaan membran yang berakibat pada kerusakan membran sel sehingga komponen ekstraseluler dan komponen intraseluler keluar masuk sel dengan mudah. Hal ini berakibat pada kematian sel bakteri (Yuliar, 2008).

Senyawa yang dihasilkan oleh *B. subtilis* yang menyebabkan sintesis dinding sel terhambat yaitu basitrasin, sedangkan senyawa colistin menyebabkan terganggunya permeabilitas dinding sel. Hal tersebut dapat meningkatkan resiko kebocoran membran plasma sehingga metabolisme tidak berlangsung karena komponen yang diperlukan keluar dari sel (Leclere *et al.*, 2006).

Senyawa circulin memiliki prinsip kerja yaitu dengan merusak komponen peptidoglikan pada dinding sel. Hal ini menyebabkan sintesis dinding sel tidak terjadi secara utuh yang berakibat pada kerusakan membran sitoplasma (Kim *et al.*, 2011). Membran sitoplasma berperan dalam menjaga integritas komponen sel dan mengatur transportasi senyawa atau bahan tertentu. Kerusakan membran sitoplasma akan menyebabkan kematian pada sel bakteri (Lingga *dkk.*, 2016).

Kontrol positif dengan ampicilin (0,02%) menghasilkan diameter penghambatan paling besar, sebaliknya pada kontrol negatif dengan *Nutrient Broth* tidak terbentuk zona hambat. Hal ini karena kerja enzim transpeptidase pada bakteri *S. dysenteriae* yang fungsinya membentuk peptidoglikan dinding sel dihambat oleh ampicilin (Radji, 2016).

Menurut Peach *et al.* (2013) mekanisme kerja ampicilin yaitu dengan mengikat satu atau lebih *protein binding penisilin* yang menyebabkan kerja transpeptidase terhambat sehingga sintesis dinding sel terhambat dan sel akan lisis. Tekanan osmosis yang berbeda akibat penghambatan sintesis dinding

sel akan menyebabkan kematian sel (Suheri *dkk.*, 2015). Kontrol negatif dengan *Nutrient Broth* tidak menghasilkan zona penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae*. Kontrol negatif menggunakan media *Nutrient Broth* bertujuan untuk memastikan bahwa penghambatan tidak terjadi karena media, melainkan karena filtrat metabolit ekstraseluler. Oleh sebab itu, penambahan *Nutrient Broth* pada filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* tidak mempengaruhi terbentuknya zona penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae*.

Berdasarkan analisis *post hoc* Bonferroni filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* konsentrasi 80%, 90%, dan 100% tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif. Oleh karena itu terdapat konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler yang optimal dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* yaitu konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Menurut Chairunnisa (2019) terdapat empat kategori potensi antibakteri yang didasarkan pada diameter zona penghambatan yang terbentuk, antara lain kategori lemah (< 5mm), kategori sedang jika diameter berkisar antara 5 hingga 10 mm, diameter penghambatan berkisar 10 hingga 20 mm termasuk kategori kuat, dan apabila diameter lebih dari 20 mm maka aktivitas penghambatannya sangat kuat. Berdasarkan kategori tersebut konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* 70% dan 80% termasuk dalam kategori lemah. Pada konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler 90% dan 100% menghasilkan diameter zona hambat yang termasuk kategori sedang.

Konsentrasi optimal yaitu 80%, 90%, dan 100% tidak masuk dalam kategori kuat karena di dalam filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* masih terdapat senyawa bioaktif kompleks sehingga daya kerja senyawa tidak optimal (Rinawati, 2011). Filtrat yang masih mengandung berbagai jenis senyawa bioaktif akan memberikan respon penghambatan pertumbuhan yang berbeda-beda sehingga menyebabkan senyawa-senyawa bioaktif bekerja tidak sinergis (Miksusanti dan Marfinda., 2011). Selain itu, masuknya senyawa antibakteri tertentu akan dicegah oleh membran sel yang fungsinya sebagai penghalang (Fong *et al.*, 2016). Membran luar bakteri gram negatif dapat berfungsi sebagai penghalang karena mengandung lipid tinggi dan permeabilitas tinggi dengan ketebalan membran >80 nm (Dwiyanti *dkk.*, 2014). Bakteri gram negatif juga mengandung fosfatidiletanolamin yang diduga menyebabkan penurunan sensitivitas bakteri terhadap senyawa antibakteri sehingga konsentrasi tersebut tidak masuk ke dalam kategori kuat aktivitas penghambatan (Ratnasari, 2017).

Faktor-faktor yang diduga mempengaruhi potensi penghambatan termasuk ke dalam kategori sedang antara lain sifat media, kecepatan difusi senyawa, jumlah bakteri inokulan, kecepatan pertumbuhan bakteri, dan konsentrasi senyawa antibakteri (Iriano, 2008). Selain itu, aktivitas penghambatan juga dipengaruhi oleh faktor jumlah senyawa bioaktif yang diinokulasikan ke dalam media, kelarutan senyawa bioaktif, dan keefektifan senyawa tersebut (Madigan *et al.*, 2003). Berdasarkan penelitian Budianto dan Suprastyani (2017) *B. subtilis* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus iniae* dengan diameter penghambatan berkisar 7 mm-8 mm dan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan diameter penghambatan yang berkisar 6 mm-9 mm.

Menurut Noorhamdani *dkk.* (2012) semakin tinggi konsentrasi filtrat *B. subtilis* menunjukkan bahwa jumlah senyawa antibakteri yang terkandung juga semakin banyak sehingga efektivitas penghambatannya akan semakin baik. Proses masuknya senyawa antibakteri akan semakin mudah jika senyawa antibakteri yang terkandung dalam filtrat berjumlah banyak (Maleki *et al.*, 2008). Hal tersebut menyebabkan zona jernih yang terbentuk semakin besar seiring dengan meningkatnya kandungan senyawa antibakteri dalam ekstrak (Dewi, 2010). Oleh sebab itu semakin tinggi konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* maka semakin meningkat efektivitas penghambatan pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.

## SIMPULAN

Simpulan penelitian ini yaitu konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*. Konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yang berbeda menyebabkan penghambatan yang berbeda. Terdapat konsentrasi filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* yang optimal dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* yaitu konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Oleh sebab itu filtrat metabolit ekstraseluler *B. subtilis* berpotensi digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit *shigellosis* atau disentri basiler.

## DAFTAR PUSTAKA

Abimbola IO. 2013. Knowledge and practices in the use of antibiotics among a group of Nigerian university students. *International Journal of Infection Control* Vol 9 (7): 1-8.

- Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, and Dans LF. 2011. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Sao Paulo Medical Journal Vol 129 (3): 185-185.*
- Amalia R, dan Trimulyono G. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Lichen Usnea subfloridana* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* FNCC 0091 dan *Staphylococcus aureus* FNCC 0047. *LenteraBio Vol 8 (2): 175-181.*
- Amanah A. dan Cornelli DL. 2017. Keefektifan Konsentrasi Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Tunas Medika Jurnal Kedokteran & Kesehatan Vol 2 (3): 1-4.*
- Ansari A, Aman A, Siddiqui NN, Iqbal S, Qader SAU. 2012. Bacteriocin (BAC IB17): Screening, Isolation, and Production from *Bacillus subtilis* KIBGEIB 17. *Pak J Phram Sci Vol 25 (1): 195-201.*
- Astuti P, dan Sasongko, H. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Bacillus subtilis* sebagai Materi Pelajaran Biologi SMA Kelas X untuk Mencapai Kompetensi Dasar 3.4 Kurikulum 2013. *JUPEMASI-PBIO Vol 1 (1): 46-52.*
- Awais M, Pervez A, Yaqub A, and Shah MM. 2010. Production of antimicrobial metabolites by *Bacillus subtilis* immobilized in polyacrylamide gel. *Pakistan Journal of Zoology Vol 42 (3): 267-275.*
- Balitbang Kemenkes RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Bangkele EY, Nursyamsi, dan Greis S. 2015. Efek Antibakteri dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* [L] Swartz) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako Vol 1 (2): 52-60.*
- Budianto B, dan Suprastyani H. 2017. Aktivitas antagonis *Bacillus subtilis* terhadap *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. *J Veteriner Vol 18 (3): 409-415.*
- Centers for Disease Control and Prevention. 2016. *Shigella-Shigellosis*. (Online). Diakses melalui <https://www.cdc.gov/shigella/generalinformation.html>. pada 17 Desember 2019.
- Chairunnisa, A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sembung Rambat (*Mikania kunth*) dengan Variasi Pelarut Etilasetat, Kloroform dan Air terhadap *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Dipublikasikan. Palembang: STIK Siti Khadijah. Diakses melalui <http://repository.stik-sitikhadijah.ac.id/559/1/51502104.pdf> pada 17 Desember 2019.
- Chavan MA, and Riley MA. 2007. Molecular Evolution of Bacteriocins in Gram-Negative Bacteria, dalam Riley MA, Chavan MA (Ed) *Bacteriocins: Ecology and Evolution*. 5-18, ISBN 3-540-36603-2. Germany: Heidelberg.
- Dalyn Biologicals. 2014. McFarland Standard for in vitro use only. *Dalynn Biologicals*.
- Das BK, Nidhi RGN, Roy P, Muduli AK, Swain P, Mishra SS, and Jayasankar P. 2014. Antagonistic activity of cellular components of *Bacillus subtilis* AN11 against bacterial pathogens. *Int J Curr Microbiol App Sci. Vol 3 (5): 795-809.*
- Departemen Kesehatan RI. 2011. *Buku Saku Lintas Diare*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dewi FK, 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Dwiyanti W, Ibrahim M, dan Trimulyono G, 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* secara In Vitro. *Lentera Bio Vol 3 (1): 1-5.*
- Fong SC, Mulyana Y, and Girawan D. 2016. Antibacterial Effect of *Pulsatilla chinensis* towards *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, and *Salmonella typhi*. *Althea Medical Journal Vol 3 (2): 292-297.*
- Hosseini MJ, Ranjibar R, Ghasemi H, Jalalian HR. 2007. The prevalence and antibiotic resistance of *Shigella* sp recovered from patients admitted to Bouali Hospital, Tehran, Iran during 1999-2001. *J. Biol. Sci. Vol 10 (6): 2778-2780.*
- IDAI. 2013. Disentri. (Online). Diakses melalui <http://www.idai.or.id/artikel/seputarkesehatan-anak/disentri> pada 22 Desember 2019.
- Iriano A. 2008. Efek Antibakteri Infusum *Aloe vera* terhadap *Porphyromonas gingivalis* In Vitro (Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Infundasi). *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Fakultas Kedokteran Gigi Program Studi Pendidikan Dokter Gigi. Depok: Universitas Indonesia.
- Jagadesswari S, Vidya P, Kumar DM, and Balakumaran MD. 2010. Isolation and Characterization of Bacteriocin Producing *Lactobacillus* sp. From Traditional Fermented Food. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry Vol 9 (3): 575-581.*
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011a. Masalah Kebal Obat Masalah Dunia. (Online). Diakses melalui <http://www.depkes.go.id/development/site/jkn/index.php?cid=1459&id=masalah-kebal-obat-masalah-dunia-.html> pada tanggal 22 Desember 2019.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011b. Peraturan Menteri Kesehatan Indonesia tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. Profil Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2015. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim SH, Lee HS, Ryu DS, Choi SJ, and Lee DS. 2011. Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol Vol 39 (1): 77-85.*
- Kusumawati E. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung Vol 2 (2): 166-172.*

- Leclere V, Marti R, Béchet M, Fickers P. and Jacques, P. 2006. The lipopeptides mycosubtilin and surfactin enhance spreading of *Bacillus subtilis* strains by their surface-active properties. *Archives of microbiology* Vol 186 (6): 475-483.
- Lingga AR, Pato U, dan Rossi E. 2016. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Faperta Riau* Vol 3 (1): 1-15.
- Madigan MT, Martinko JM, and Parker J. 2003. *Brock Biology of Microorganism, 10th ed.* USA: Pearson Education, Inc. ISBN: 9780130662712.
- Maleki S, Seyyednejad M N, Damabi, and H Motamedi. 2008. Antibacterial activity of the fluid of Iranian *Torilis leptophylla* against some clinical pathogen. *Journal of Biological Science* Vol 11 (9): 1286-1289.
- Meles DK, SA Sudjarwo, T Juniastuti, IS Hamid, dan R Kurnijasanti. 2011. *Buku Ajar Farmakoterapi dan Toksikologi*. Surabaya: Global Persada Pers.
- Miksusanti Fitriya, dan Marfinda N. 2011. Aktivitas Campuran Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Bacillus cereus*. *Jurnal Penelitian Sains* Vol 14 (3C): 41-47.
- Muhaimin M, Liang OB, Ratnaningsih E, Purwantini E, dan Retnoningrum DS. 2003. Optimasi Proses Overproduksi, Pemurnian dan Karakterisasi Protein Mga sebagai Molekul Target untuk Pencegahan Infeksi oleh *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Matematika dan Sains* Vol 8 (3): 117-123.
- Mutsaqof AAN, Wiharto, Suryani E. 2015. Sistem Pakar untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi menggunakan Forward Chaining. *ITSSMART: Jurnal Teknologi dan Informasi* Vol 4 (1): 43-47.
- Najafi MBH, and Pezeshki P. 2013. Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review. *European Scientific Journal* Vol 3: 38-628.
- Noorhamdani AS, Aurora H, dan Aldiani A, 2012. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Bakteri *Echerichia coli* Secara In Vitro. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Malang: Universitas Brawijaya.
- Nurainy F, Rizal S, dan Yudiantoro Y. 2012. Pengaruh Konsentrasi Kitosan Terhadap Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar (Sumur). *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian* Vol 13 (2): 117-125.
- Peach KC, Bray WM, Winslow D, Linington PF, and Linington RG. 2013. Mechanism of action-based classification of antibiotics using high-content bacterial image analysis. *Molecular BioSystems*, Vol 9 (7): 1837-1848.
- Pelczar MJ, and Chan ECS. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan. Hadjoetomo RS (Ed). Jakarta: Universitas Indonesia.
- Radji M. 2016. *Mekanisme Aksi Molekuler Antibiotik dan Kemoterapi*. Jakarta: EGC.
- Rahmah RPA, Bahar M, dan Harjono Y. 2017. Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit *Lactobacillus plantarum* Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi* Vol 5 (1): 34-41.
- Rahman M, Shoma S, Rashid H, Arifeen SH, Baqui AH, Siddiqua AK, Nair GB, and Sack DA. 2007. Increasing Spectrum in Antimicrobial Resistance of *Shigella* Isolates in Bangladesh: Resistance to Azitromycin and Ceftriaxone and Decreased Susceptibility to Ciprofloxacin. *J. Health. Popul. Nutr.* Vol 25 (2): 158-167.
- Ratnasari M. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dalam Bentuk Sediaan Gel Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya.
- Rinawati ND. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.
- Suheri FL, Agus Z, dan Fitria I. 2015. Perbandingan Uji Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Obat Antibiotik Ampisilin dan Tetrasiklin. *Andalas Dental Journal* Vol 3 (1): 25-33.
- Supartono S, Wijayati N, Herlina L, dan Ratnaningsih E. 2011. Produksi Antibiotika oleh *Bacillus subtilis* M10 Dalam Media Urea-Sorbitol. *Reaktor* Vol 13 (3): 185-193.
- Tuna MR. 2015. Uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *PHARMACON* Vol 4 (4): 65-70.
- Viogenta P. 2010. Karakteristik Anti Bakteri Isolat *Lactobacillus* dari Tempoyak. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- World Health Organization. 2016. Dysentery (Shigellosis). Diakses pada 1 April 2020 melalui [http://www.who.int/selection\\_medicines](http://www.who.int/selection_medicines)
- Yuliar Y. 2008. Screening of bioantagonistic bacteria for biocontrol agent of *Rhizoctonia solani* and surfactin producer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* Vol 9 (2): 83-86.

**Published:** 31 Januari 2021

**Authors:**

Desi Ambarwati, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia email: desiambarwati1998@gmail.com  
 Muslimin Ibrahim, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: musliminibrahim@unesa.ac.id

**How to cite this article:**

Ambarwati D, Ibrahim M, 2021. Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *Bacillus subtilis* terhadap *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *LenteraBio*; 10(1): 25-32