

ISOLATION AND SCREENING FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ACTINOMYCETES FROM ANTARCTIC SOILS



DESIENA SAPTA BIN AHMAD

BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2013

ABSTRAK

Pulau Shetland Selatan merupakan segugusan kepulauan Antartika di mana beberapa aktinomisit baru telah ditemui. Aktinomisit ialah bakteria aerobik, gram positif dengan tempoh tumbesaran yang perlahan. Mempunyai hyphae filamen bercabang dengan spora aseksual yang terdapat dengan banyak di alam persekitaran. Objektif kajian ini adalah (i) untuk mengasingkan aktinomisit daripada sampel tanah antartika, (ii) untuk menyaring aktiviti antibakteria isolat aktinomisit dan (iii) untuk mengkaji morfologi aktinomisit antartika. Pengasingan bakteria dilakukan dengan menggunakan *Actinomycetes Isolation Agar*, *Nutrient Agar* dan *Oatmeal Agar* yang dicampurkan dengan cycloheximide dan kanamycin dan diinkubasi pada suhu 12°C, 20°C dan 28°C. Kultur tulen digunakan untuk analisis seterusnya. Perwarnaan gram dan methylene blue dijalankan dan pemerhatian menunjukkan semua koloni adalah gram positif yang filamen bercabang. Morfologi koloni adalah berlainan di mana sesetengah koloni berwarna putih, kelabu, coklat atau kekuningan dan kelihatan *convex*, *concave* atau mempunyai permukaan yang rata. Penyaringan antibakteria dilakukan dengan menggunakan kaedah *perpendicular* atau *cross-streak* dan *agar well test*. Sejumlah 55 strains aktinomisit telah diasingkan dan kajian antibakteria dijalankan ke atas enam patogen makanan. Kesemua 55 isolat telah diuji untuk aktiviti antibakteria ke atas enam patogen bawaan makanan. Selepas penyaringan primari dan sekunder, 23.63% atau 13 isolat daripada 55 isolat, AN3, AN4, AN6, AN7, AN8, AN9, AN11, AN13, AN26, AN27, AN28, AN29 dan AN30 didapati mempunyai potensi untuk merencat pertumbuhan satu atau lebih strain enam patogen. 16.36% atau sembilan isolat, N3, AN4, AN6, AN9, AN11, AN13, AN27, AN29 dan AN30 mampu merencat pertumbuhan *Enterobacter cloacae*. Manakala 12.73% atau tujuh isolat, AN3, AN7, AN8, AN11, AN13, AN26 dan AN28 mampu merencat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan 5.45% atau tiga isolat, AN3, AN11 dan AN13 mampu merencat kedua-dua *Enterobacter cloacae* dan *Bacillus cereus* yang menunjukkan isolate ini mempunyai spectrum antibiotik yang luas. Walaubagaimanapun, tiada zon rencatan dapat dilihat pada empat patogen yang lain, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Klebsiella pneumoniae*. Ini membuktikan bahawa sampel tanah Antartika mengandungi Aktinomisit yang mempunyai metabolit bioaktif yang boleh merencat pertumbuhan patogen bawaan makanan dan sebagai sumber kompaun antibiotik yang baik. Isolat yang berpotensi kemudiannya boleh dikenalpasti dengan kaedah analisis molekul.

ABSTRACT

South Shetland Islands are a group of Antarctic islands where a number of novel Actinomycetes have been isolated. Actinomycetes are aerobic, slow growing Gram-positive bacteria that form filamentous branching hyphae with asexual spores widely spread in nature. The aims of this study are (i) to isolate Actinomycetes from Antarctic soil samples, (ii) to screen antibacterial activity of the isolated colonies and (iii) to characterize the morphology of Antarctic Actinomycetes. Isolation of the bacteria was carried out using Actinomycetes Isolation Agar, Nutrient Agar and Oatmeal Agar supplemented with Cycloheximide and Kanamycin at 12°C, 20°C and 28°C. Pure cultures were used for the subsequent analyses. Gram staining and Methylene blue staining were performed on the isolates and all the isolates were found to be filamentous branching hyphae and identified as Gram positive. The morphology of colonies is varying from white, grey, brownish and yellow colour and appeared to be convex, concave or flat surface. Antibacterial screening was determined using perpendicular streak/cross streak method as primary screening and agar well test as the secondary screening. A total of fifty-five actinomycetes strains were isolated from Antarctic soils. All fifty-five isolates were tested for antibacterial activity against six common foodborne pathogens. After the primary and secondary screening only 23.63 % or thirteen, AN3, AN4, AN6, AN7, AN8, AN9, AN11, AN13, AN26, AN27, AN28, AN29 and AN30 of the total fifty-five strains showed inhibition potential against one or more out of the six tested pathogen strains. 16.36 % or nine, AN3, AN4, AN6, AN9, AN11, AN13, AN27, AN29 and AN30 of the isolates inhibited *Enterobacter cloacae* meanwhile 12.73 % or 7, AN3, AN7, AN8, AN11, AN13, AN26 and AN28 isolates inhibited *Bacillus cereus* and 5.45% or three, AN3, AN11 and AN13 of the isolates inhibited both *E.cloacae* and *B.cereus* which indicated broad-spectrum. However no inhibitions were observed on other four pathogens, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Klebsiella pneumoniae*. This implies that Antarctica harbours Actinomycetes which have bioactive compounds that can inhibit the growth of several foodborne pathogens and a good source of antibacterial compounds. The potential isolates can later be identified using molecular for further analysis.