



PROSIDING

Seminar Nasional Biologi dan Pembelajaran Biologi

Biodiversitas Kepulauan Maluku dan Pemanfaatannya dalam menunjang Pembelajaran Biologi

26 Oktober 2017



**UNIVERSITAS PATTIMURA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI**

ISBN 978-602-18237-1-2

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOLOGI DAN PEMBELAJARAN BIOLOGI 2017

“Biodiversitas Kepulauan Maluku dan Pemanfaatannya
dalam menunjang Pembelajaran Biologi”

Ambon, 26 Oktober 2017



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS PATTIMURA
2017**

Potensi Antibakteri *Streptomyces* spp yang Disolasi dari Tanah Sekitar Kampus Universitas Pattimura Ambon Terhadap *Escherichia coli*

Martha Kaihena¹, Victoria Febiola Patty¹, dan Josep Pagaya¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pattimura

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Streptomyces* spp. dari tanah di sekitar Kampus Poka Universitas Pattimura dan menguji kemampuan antimikroba yang dihasilkan terhadap *Escherichia coli*. Analisis dilakukan dengan cara pengamatan secara makroskopis (bentuk dan warna koloni). Setelah itu dilanjutkan dengan Pewarnaan Gram, Pewarnaan Tahan Asam dan Uji Katalase. Analisis uji antimikroba dilanjutkan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar potongan agar isolat *Streptomyces* spp. Dari 3 sampel tanah yang diambil dari Sekitar Kampus Poka Universitas Pattimura Ambon diperoleh 6 isolat *Streptomyces* spp. yaitu ISH, ISP1, ISP2, ISP3, ISA1, dan ISA2. Keenam isolat ini dapat menghambat *Escherichia coli*, dengan diameter zona hambat terbesar adalah 33,33 mm, dan yang terkecil adalah 26,33 mm. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang proses atau mekanisme penghambatan dari *Streptomyces* spp. terhadap *E. coli* dan bakteri patogen lainnya. Dalam upaya mendapatkan isolat *Streptomyces* spp. yang lebih baik, perlu dilakukan perbandingan lokasi pengambilan sampel pada kondisi lingkungan yang berbeda.

Kata-kata kunci: *Streptomyces* spp, Uji Antimikroba, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Negara Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis sehingga sering terjadi kasus berbagai penyakit infeksi yang disebabkan mikroorganisme. Oleh sebab itu, penggunaan antibiotik menduduki persentase tertinggi dalam pemakaian obat-obatan. Selain memiliki arti penting di bidang kesehatan manusia, antibiotik juga digunakan di bidang kedokteran hewan untuk mengobati penyakit infeksi dan untuk meningkatkan pertumbuhan hewan ternak. Antibiotik diaplikasikan juga dalam bidang pertanian untuk meningkatkan hasil-hasil pertanian. Melihat kenyataan ini dan mengingat adanya kemungkinan mikroorganisme akan resisten/kebal terhadap antibiotik tertentu, maka penelitian untuk peningkatan dan pengembangan antibiotik sampai saat ini masih tetap dilakukan.

Kebutuhan antibiotik baru masih sangat diperlukan, terutama yang efektif melawan bakteri resisten, virus, protozoa, fungi dan tumor (Suwandi, 1993). Infeksi-infeksi serius akibat bakteri yang menjadi resisten karena terbiasa menggunakan antibiotik telah menjadi masalah utama kesehatan global pada abad ke-21 (Alanis, 2005 dikutip oleh Ceylan et al, 2008).

Resistensi mikroba yang timbul akibat adanya mutan-mutan baru, mengakibatkan antibiotik tidak bisa digunakan sesuai dosis anjurannya, karena tidak lagi efektif. Kalau dipaksakan untuk tetap digunakan, dosis yang digunakan harus lebih tinggi. Namun, apabila hal ini dilakukan, dapat mengakibatkan efek samping yang tidak dikehendaki seperti nyeri perut, demam, pembengkakan hati, berkurangnya sekresi ginjal, dan lain-lain. Dengan demikian, perlu dicari galur antimikroba baru yang menghasilkan antibiotik dengan potensi lebih tinggi dalam membunuh mikroba patogen.

Borodina *et al.* (2005) dan Lestari (2001) yang dikutip oleh Dharmawan dkk (2009) menyatakan bahwa, *Streptomyces* sangat menarik perhatian para ahli bakteriologi karena kemampuannya dalam mensintesis metabolit sekunder berupa bahan antimikroba atau antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Streptomyces* spp. dari tanah di sekitar Kampus Poka Universitas Pattimura Ambon dan menguji kemampuan antimikroba yang dihasilkan, terhadap *Escherichia coli*.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel tanah untuk isolasi *Streptomyces* dilakukan di sekitar kampus Poka Universitas Pattimura Ambon. Sedangkan Isolasi dan pengujian daya hambat terhadap *E.coli* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pattimura Ambon.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sampel tanah, media *Trypticase Soy Agar* (TSA), Media *Nutrient Broth* (NB), media *Nutient Agar* (NA), alkohol 70%, aquades, aluminium foil, kertas pembungkus, kertas label, kertas cakram, kertas saring, tissue, kapas steril, spirtus, larutan iodium Gram, safranin, Carbol Fuchsin, methylene blue, etanol 95%, H₂O₂ 3 %, minyak imersi, ungu Kristal, bakteri indikator (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), *Tetracyclin*.

Prosedur Kerja

1) Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat yang terbuat dari gelas dicuci dengan detergen dan bilas dengan air sampai bersih. Kemudian gelas ukur dan erlenmeyer ditutup dengan kertas aluminium, tabung reaksi disumbat dengan kapas steril sedangkan alat-alat gelas lainnya dibungkus dengan kertas pembungkus (Ristiati dan Muliadihardja, 2008). Selanjutnya alat-alat tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

2) Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan pipa paralon dengan kedalaman 0-15 cm secara random sampling. Sampel tanah dimasukkan ke dalam polibag, diberi label, kemudian dibawa ke laboratorium. Sampel tanah dikeringanginkan kemudian disaring menggunakan saringan dengan diameter lubang 1000 μm (Widawati dkk, 2008), selanjutnya sampel tanah tersebut dipanaskan pada suhu 60°C selama 20 menit di dalam oven untuk mengurangi pertumbuhan bakteri lain.

3) Isolasi

a. Pembuatan Media

Media TSA ditimbang sebanyak 40 gram dan ditambahkan 1 liter aquadest steril. Kemudian panaskan hingga larut di atas *hot plate*. Setelah itu media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

b. Pengenceran Suspensi

Isolasi bakteri *Streptomyces* spp. yang berasal dari tanah dilakukan dengan teknik agar sebar. Timbang 1 gram tanah, masukkan ke dalam 9 ml larutan aquades steril dalam tabung reaksi, kemudian dikocok dengan menggunakan vortex, diperoleh seri pengenceran 10^{-1} (Purwaningsih, 2005). Pipet 1 ml suspensi dari seri pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril, sehingga diperoleh seri pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilanjutkan hingga diperoleh seri pengenceran 10^{-5} (Pelczar Jr. *et al*, 1993 *dikutip oleh* Dharmawan dkk, 2009).

c. Isolasi *Streptomyces* spp.

Pipet masing-masing 1 ml suspensi dari 3 pengenceran terakhir, yaitu pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-5} (Pradika, 2008). Sebar di media TSA sebagai media dasar, kemudian ratakan dengan batang penyebar. Inkubasi pada temperatur kamar (27° - 28° C) selama 5 – 7 hari (Purwaningsih, 2005). Koloni bakteri yang diduga sebagai *Streptomyces* dan berbeda satu sama lain, dipisahkan dengan ditanam kembali pada media dalam cawan petri. Selanjutnya inkubasi pada suhu 25°C selama 5 – 7 hari (Dharmawan dkk, 2009).

4) Karakterisasi Isolat *Streptomyces* spp.

Koloni yang diduga sebagai *Streptomyces* kemudian dikarakterisasi secara makroskopis (bentuk dan warna koloni). Setelah itu dilanjutkan dengan pewarnaan Gram, pewarnaan tahan asam dan uji katalase (Dharmawan dkk, 2009).

5) Penyiapan Bakteri Uji

1. Pembuatan Media

a. Media Nutrien Agar (NA)

Timbang media NA sebanyak 5g (20 gr dalam 1000 ml akuadest steril), campurkan dengan akuadest steril 250 ml, kemudian panaskan di atas hot plate. Setelah itu media disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

b. Media Nutrien Broth (NB)

Sebanyak 0,2g media NB (8g dalam 1000 ml akuadest steril) dicampurkan dengan akuades steril sebanyak 25 ml dan dipanaskan di atas hot plate. Pipet masing-masing 5 ml ke dalam 5 tabung reaksi. Setelah itu media disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

2. Isolasi Bakteri Uji

Penanaman bakteri uji dilakukan dengan teknik agar sebar. Encerkan 1 mata ose suspensi bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, yang telah diperemajakan. Masukkan biakan tersebut ke dalam media 5 ml *Nutrient Broth* (NB) dan divortex sampai homogen, kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan standard McFarland yang setara dengan 10^6 sampai dengan 10^8 sel/ml. Pipet masing-masing 0,1 ml inokulum suspensi ke dalam cawan Petri yang telah berisi medium NA, kemudian ratakan dengan batang penyebar.

6) Uji Daya Hambat Isolat *Streptomyces* spp.

Potongan koloni *Streptomyces* dengan diameter 0,5 cm diuji produktivitas antibiotiknya dengan cara meletakkannya pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri indikator, kemudian diinkubasi selama 5 – 7 hari pada suhu 37°C (Suwandi, 1993; Lay dan Hastowo, 1994 *dikutip oleh*

Dharmawan dkk, 2009). Petunjuk adanya aktivitas antibiotik dapat dilihat dengan adanya zona hambat di sekitar potongan agar (Suwandi, 1993).

Untuk kontrol positif, digunakan kertas cakram dengan diameter 0,5 cm yang mengandung antibiotik tetracyclin konsentrasi 30 µg/l yang dibuat dengan meresapkan tetracyclin pada kertas cakram yang ditambahkan sedikit air kemudian dimasukkan ke dalam oven suhu 40°C sampai semua airnya menguap (Dharmawan dkk, 2009). Untuk kontrol negatif, digunakan kertas cakram dengan diameter 0,5 cm yang mengandung aquades steril.

7) Pengukuran Diameter Zona Hambat

Diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar biakan *Streptomyces* dengan menggunakan kaliper dan dibandingkan dengan kontrol. Pengulangan dilakukan tiga kali pada setiap perlakuan dan kontrol (Dharmawan dkk, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi *Streptomyces* spp.

Isolat-isolat ini diberi nama sesuai lokasi pengambilan sampel yaitu Isolat *Streptomyces* Hukum (ISH), Isolat *Streptomyces* Pertanian 1 (ISP1), Isolat *Streptomyces* Pertanian 2 (ISP2), Isolat *Streptomyces* Pertanian 3 (ISP3), Isolat *Streptomyces* Auditorium 1 (ISA1), dan Isolat *Streptomyces* Auditorium 2 (ISA2) (Tabel 1).

Tabel 1. Pengamatan Makroskopis (koloni) Isolat *Streptomyces* spp

NOMOR ISOLAT	NAMA ISOLAT	KARAKTERISTIK							
		BENTUK	UKURAN	TEPI	ELEVASI	PERMUKAAN	MISELIUM VEGETATIF (5 hari)	MISELIUM AERIAL (2 minggu)	PIGMENTASI
1	ISH	Lingkar.	Pinpoint (titik) – Small (kecil)	Lobate	Tidak Beraturan.	Berbulu.	Putih.	Abu-abu Kehitaman	Coklat Kehitaman
2	ISP1	Lingkar.	Large (besar)	Entire	Cembung.	Berbulu.	Putih. Coklat di tengah.	Coklat	-
3	ISP2	Lingkar.	Moderate (sedang) – Large (besar)	Entire	Cembung.	Berbulu.	Putih.	Putih.	-
4	ISP3	Tidak Beraturan.	Moderate (sedang)	Lobate	Tidak Beraturan.	Berbulu.	Putih.	Putih.	-
5	ISA1	Tidak Beraturan.	Moderate (sedang)	Lobate	Cembung.	Berkasut kemudian menjadi berbulu.	Putih.	Putih.	Coklat
6	ISA2	Tidak Beraturan.	Small (kecil)	Lobate	Tidak Beraturan.	Berbulu.	Putih.	Putih.	Coklat

2. Pewarnaan Gram

Keenam isolat *Streptomyces* spp. yang didapat tergolong bakteri Gram positif ditunjukkan dengan warna ungu pada apusan yang diamati dengan menggunakan mikroskop, setelah dilakukan Uji Pewarnaan Gram. Menurut Dharmawan dkk (2009), *Streptomyces* banyak ditemukan di tanah alami, memiliki kemampuan membentuk spora dan tergolong dalam bakteri Gram positif.

3. Pewarnaan Tahan Asam

Keenam isolat *Streptomyces* spp. yang didapat tergolong bakteri tidak tahan asam ditunjukkan dengan warna biru pada apusan yang diamati dengan menggunakan mikroskop, setelah dilakukan Uji Pewarnaan Tahan Asam. Berdasarkan identifikasi yang dilakukan oleh Aninda dkk (2002), *Streptomyces* termasuk bakteri tidak tahan asam. Hasil penelitian morfologi dan karakteristik lima isolate. *Streptomyces* dari tanah di sekitar kampus Unud Bukit-Jimbaran, menunjukkan bakteri ini tergolong bakteri yang tidak tahan asam (Nuri dkk, 2012).

4. Uji Katalase

Uji Katalase pada keenam isolat *Streptomyces* spp. yang didapat menunjukkan bahwa isolat ini katalase positif, terlihat pada buih yang dihasilkan setelah isolat ditetesi dengan cairan H₂O₂ 3%. Dari hasil identifikasi beberapa penelitian bakteri *Streptomyces* tergolong dalam bakteri yang katalase positif (Dharmawan dkk., 2009; Asolkar *et al.*, 2002).

5. Uji Daya Hambat Isolat *Streptomyces* spp. Terhadap *Escherichia coli*

Hasil uji daya hambat isolat *Streptomyces* spp terhadap *E. coli* ditunjukkan pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Daya Hambat Isolat *Streptomyces* terhadap *E. coli*

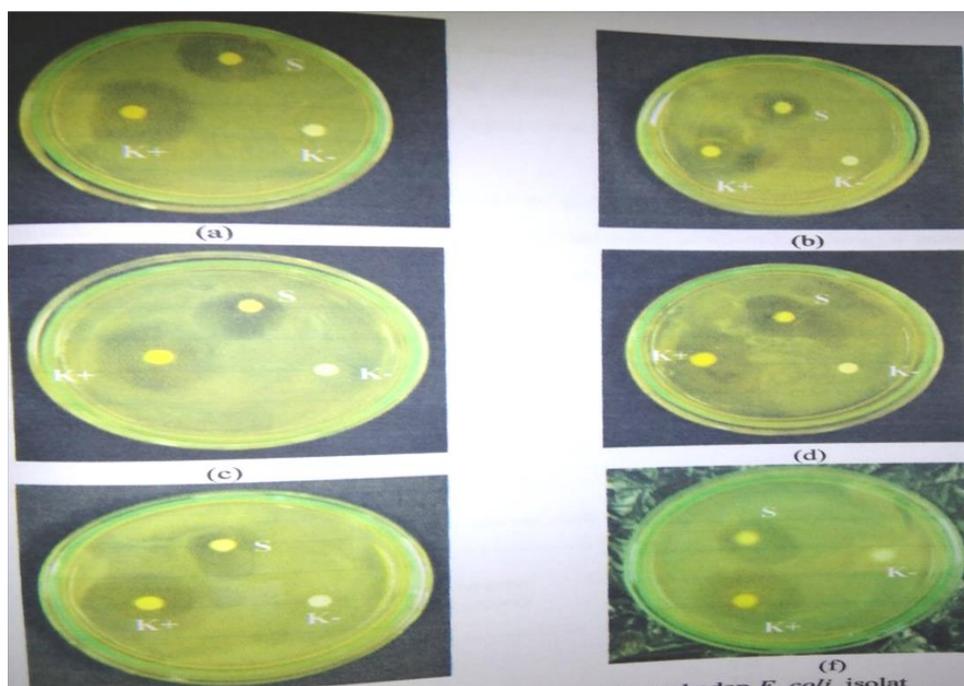
Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata Kontrol Positif (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
	I	II	III	Rata-rata (mm)		
ISH	33	34	33	33,33	38	Kuat
ISP1	28	27	24	26,33	34	Kuat
ISP2	28	27	26	27	34	Kuat
ISP3	28	29	29	28,67	33	Kuat
ISA1	27	27	27	27	35	Kuat
ISA2	31	30	32	31	38	Kuat

Zona hambat yang terbentuk di sekitar potongan agar isolat *Streptomyces* menunjukkan isolat yang diperoleh memiliki aktivitas antibiotik sehingga mampu menghambat bakteri *E. coli*, dengan ukuran zona hambat yang hampir sama dengan zona hambat kontrol positif. Dari hasil pengamatan, *Streptomyces* bersifat antagonis terhadap bakteri *E. coli*. Bakteri antagonis merupakan suatu jasad renik yang dapat menekan atau menghambat mikroba lainnya (Tasnim dkk, 2013). Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk, seperti terlihat pada Gambar 1.

Kemampuan *Streptomyces* sebagai mikroba antagonis dalam menghambat bakteri *E. coli* diduga akibat adanya kandungan senyawa antibakteri yang dihasilkan. Menurut Bahi & Idroess (2013), *Streptomyces sp.* mampu menghasilkan 3 senyawa metabolit sekunder yaitu reduktiomisin, asam 2,3-dihidroksibenzoat, dan asam indole-3-karboksilat. Dari uji antimikroba, senyawa reduktiomisin bersifat bioaktif terhadap bakteri, jamur dan sitotoksik terhadap *Artemia salina*.

Isnaeni (2005) mengungkapkan bahwa *Streptomyces griseus* ATCC 10137 secara alami dapat memproduksi antibiotika golongan aminoglikosida (AAG) berinti streptidin streptomisin yang memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Tasnim dkk (2013), mengemukakan bahwa *Streptomyces* merupakan bakteri yang termasuk golongan Actinomycetes, dimana golongan ini mampu menghasilkan enzim hidrolitik ekstraseluler (enzim khitinase dan β 1,3-glukanase) dan antibiotik yang mampu menghambat mikroba patogen.



Gambar 1. Zona Hambat *Streptomices spp* hasil isolasi terhadap *E. coli*.

Menurut Jawetz *et al.* (1996) dikutip oleh Dharmawan dkk (2009), mekanisme terpenting dari kerja antibiotik terhadap sel bakteri adalah menghambat sintesa protein dan asam nukleat. Selain mekanisme tersebut aktivitas antibiotik juga meliputi perusakan dan penghambatan pembentukan dinding sel, perubahan permeabilitas sel target dan penghambatan kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri.

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan adanya perbedaan respon hambatan pada tiap isolat *Streptomyces* terhadap *E. coli*. Adanya variasi besarnya zona hambat yang diperoleh dalam penelitian disebabkan oleh perbedaan sifat dari bakteri uji yang digunakan baik secara morfologi dan fisiologi (Glazer and Nikaido, 1998 ; dan Paradkar *et al.*, 2001 dikutip oleh Dharmawan, 2009).

Selain itu variasi respon hambatan kemungkinan disebabkan bakteri uji telah resisten terhadap *Streptomyces*. Menurut Jawetz *et al* (1996) yang dikutip oleh Dharmawan (2009), mekanisme resistensi disebabkan oleh adanya mutasi kromosom bakteri yang mengalami perubahan reseptor P12 pada ribosom 30S. Resistensi ditimbulkan oleh adanya plasmid-perantara yang menyebabkan perusakan antibiotik oleh enzim yang dihasilkan. Respon hambatan pertumbuhan yang berbeda-beda ini juga bisa disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing – masing isolat *Streptomyces* memiliki struktur kimia, komposisi dan kandungan atau konsentrasi yang berbeda dengan antibiotik kontrol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil, dapat disimpulkan bahwa :

1. Dari 3 sampel tanah Kampus Poka Universitas Pattimura diperoleh 6 isolat *Streptomyces* spp. yaitu ISH, ISP1, ISP2, ISP3, ISA1, dan ISA2. Keenam isolat ini dapat menghambat bakteri *E. coli*.
2. Diameter zona hambat terbesar isolat *Streptomyces* spp. terhadap bakteri *E. coli* adalah 33,33 mm, dan yang terkecil adalah 26,33 mm.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang proses atau mekanisme penghambatan dari *Streptomyces* spp. terhadap *E. coli* dan bakteri patogen lainnya.
2. Dalam upaya mendapatkan isolat *Streptomyces* spp. yang lebih baik, perlu dilakukan perbandingan lokasi pengambilan sampel pada kondisi lingkungan yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahi, M. dan Idroes, R. 2013. Isolasi Antibiotik Reduktomisin dari Bakteri *Streptomyces* sp. Jurnal Kedokteran Hewan 7 (2) : 129 – 131.
- Ceylan, O, Okmen, G, and Ugur, A. 2008. *Isolation of Soil Streptomyces As Source Antibiotics Active Against Antibiotic-Resistant Bacteria*. EurAsian Journal of BioSciences Volume 2, Hal.: 73 – 82.
- Dharmawan, I Wayan Eka, Retno Kawuri, Made Susun Parwanayoni. 2009. *Isolasi Sterptomyces spp. pada Kawasan Hutan Provinsi Bali serta Uji Daya Hambatnya terhadap Lima Strain Diarrheagenic Escherichia coli*. Jurnal Biologi Volume XIII, Nomor 1, Hal.: 1-6.
- Isnaeni. 2005. *Bioautografi Antibiotika Hasil Fermentasi Mutan Streptomyces griseus ATCC 10137*. Majalah Farmasi Airlangga, Volume 5, Nomor 1.
- Lay, Bibiana. W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi I. Cetakan I. PT Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Listari, Yuli. 2009. *Evektivitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat Sterptomyces dari Rizosfer Familia Poaceae terhadap Escherichia coli*. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah: Surakarta
- Nurkanto, Arif. 2007. *.Identifikasi Aktinomisetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan Potensinya Sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat*. BIODIVERSITAS Volume 8, Nomor 4, Hal.: 314-319
- Purwaningsih, Sri. 2005. *Isolasi, Enumerasi, dan Karakterisasi Bakteri Rhizobium dari Tanah Kebun Biologi Wamena, Papua*. BIODIVERSITAS Volume 6, Nomor 2, Hal.: 82-84.
- Suwandi, Usman. 1993. *Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik*. Cermin Dunia Kedokteran, No. 89. Pusat Penelitian dan Pengembangan PT Kalbe Farma : Jakarta.
- Tasnim, S., Kawuri, R., Astiti, N. P. A. 2013. Efektivitas Daya Hambat Bakteri *Streptomyces* sp. terhadap *Erwina* sp. Penyebab Penyakit Busuk Rebah pada Tanaman Lidah Buaya (*Aloe barbadensi* Mill). Jurnal Simbiosis I (1) : 21 – 27