

STREPTOMYCES SEBAGAI SUMBER ANTIBIOTIK BARU DI INDONESIA

Triastuti Rahayu

Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta

Email:-

ABSTRAK

Antibiotik merupakan bagian penting dalam terapi infeksi bakteri karena itu penemuan sumber antibiotik baru yang potensial sangat diperlukan untuk mengatasi masalah akibat infeksi bakteri. *Streptomyces* adalah bakteri yang mampu memproduksi agen antimikroba dan banyak ditemukan di tanah pada rizosfer tanaman tingkat tinggi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi *Streptomyces* dari rizosfer Familia Poaceae yang dapat menghasilkan antibiotik untuk menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Isolasi *Streptomyces* dari rizosfer rumput kembangan (*Digitaria microbachne* (Presl.) Henr), rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) dan alang-alang (*Imperata cylindrica* L) yang tumbuh dari tanah yang kering, sedikit berpasir dan tidak tergenang air. Tahap awal isolasi *Streptomyces* adalah *pre treatment* sampel tanah. Isolasi menggunakan media *raffinosa-histidine agar*. Isolat dipurifikasi pada media *benneth agar* kemudian dipindah ke media *oatmeal agar* untuk menumbuhkan spora. Identifikasi isolat *Streptomyces* dilakukan dengan pengecatan Gram. Uji potensi isolat *Streptomyces* dilakukan dengan metode *agar block* menggunakan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* ATCC 25922. Hasil isolasi diperoleh 57 isolat *Streptomyces* dengan warna miselium vegetatif, spora aerial dan pigmen difus yang berbeda. Dari 57 isolat diperoleh 10 isolat (17,50%) berpotensi "sangat kuat" (diameter lebih dari 20 mm), 6 isolat (10,52%) berpotensi "kuat" (diameter 10-20 mm) terhadap *S. aureus*, sedangkan terhadap *E. coli* ATCC 25922 diperoleh 8 isolat (14,04%) berpotensi antibiotik "sangat kuat" (20-30 mm), 11 isolat (17,54%) berpotensi "kuat" (10-19,5 mm), dan 1 isolat (1,75%) berpotensi "sedang" (7 mm). Kesimpulan yang diperoleh adalah *Streptomyces* dapat dijadikan sebagai sumber penghasil antibiotik baru yang sangat potensial di Indonesia.

Kata Kunci: Antibiotik, *Streptomyces*, Familia Poaceae, Rizosfer

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit menular disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, dan protozoa. Contoh infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Gibson, 1996). *E. coli* sering menyebabkan infeksi saluran kemih, diare dan penyakit lain. Salah satu penyembuhannya dengan antibiotik (Jawetz *et al.*, 2001). *S. aureus* merupakan contoh bakteri penyebab penyakit infeksi yang terutama dapat menimbulkan penyakit pada manusia.

Penyakit infeksi tersebut diatasi dengan antibiotik tetapi sering terkendala oleh adanya faktor resistensi bakteri terhadap antibiotik yang telah ada. Oleh sebab itu sangat diperlukan eksplorasi galur-galur mikroba baru yang menghasilkan antibiotik dengan potensi lebih tinggi dalam mematikan penyebab penyakit, misalnya dari rizosfer.

Tanah rizosfer adalah tanah yang menempel pada perakaran tanaman yang banyak terdapat bakteri, jamur, dan *Actinomycetes*. Banyak penghuni tanah tersebut merupakan sumber penting antibiotik (Rao, 1994). Penelitian yang dilakukan oleh Waksman (1950) *cit* Hasim (2003) telah banyak ditemukan *Actinomycetes* di tanah berumput dengan demikian menanam rumput manusia dapat sekaligus memanen antibiotik. *Streptomyces* adalah genus dari kelas *Actinomycetes* yang terbukti mampu menghasilkan bermacam-macam antibiotik. Lebih dari 90 persen antibiotik yang dihasilkan dari *Streptomyces* digunakan untuk terapi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Hasim, 2003).

Penelitian di Indonesia mengenai isolasi *Streptomyces* yang berpotensi menghasilkan antibiotik masih sangat terbatas. Oleh karena itu, Rahayu dan Maryati mencoba mengeksplorasi *Streptomyces* sebagai agen penghasil antibiotik potensial (2007) dari rizosfer tumbuhan Familia Poaceae yaitu jukut domdoman (*Chrysopogon aciculatus* (Retz) Trin) dan rumput jepang (*Zoysia matrella* L. Merr) serta tumbuhan orok-orok (*Crotalaria striata*). Hasilnya diperoleh isolat-isolat *Streptomyces* penghasil antibiotik yang potensial. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi *Streptomyces* dari rizosfer Familia Poaceae yang lain meliputi rumput kembangan (*Digitaria microbachne* (Presl.) Henr), rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) dan alang-alang (*Imperata cylindrica* L). Hasil penelitian ini diharapkan dapat diperoleh isolat-isolat *Streptomyces* baru yang berpotensi tinggi menghasilkan antibiotik.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan, sendok tanduk, tabung reaksi, mikropipet, *blue tips*, *yellow tips*, termometer, spuit injeksi 10 ml, kompor listrik, botol ulir biru 500 ml, timbangan, alat-alat gelas berukuran, pH universal (MERCK), tusuk sate steril, petri disk, inkubator, autoklaf, oven, api bunsen,



LAF (*Laminar Air Flow*), *object glass*, mikroskop, flakon, *spreader glass*, *shaker incubator*, *sterile cork borer*, penggaris.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: sampel tanah yang diperoleh dari sekitar perakaran tumbuhan (rizosfer) yaitu: alang-alang (*Imperata cylindrica* L), rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) dan rumput kembangan (*Digitaria microbachne* (Presl.) Henr) yang diambil dari Kelurahan Gayam Kabupaten Sukoharjo, Kelurahan Lopait Kotamadya Salatiga dan Kelurahan Cepu Kabupaten Blora, larutan ringer laktat (Widatra Bhakti), media *raffinosa-histidine agar*, *benneth agar*, *oatmeal agar*, akuades, antifungi sikloheksimid (SIGMA), kasa, NaOH (MERCK), satu set cat Gram formalin 1%, alkohol 70%, *S. aureus* dan *E. coli* ATCC 25922, standard Mc Farland (konsentrasi 10^8 CFU/ml), media BHI (*Brain Heart Infusion*), akuades steril, media NA (*Nutrient Agar*).

B. Jalannya Penelitian

Pemilihan Lokasi Sampel Tanah

Pemilihan lokasi pengambilan sampel tanah pada daerah yang kering dan panas (hangat), tanahnya agak berpasir dan tidak tergenang air.

Pengambilan Sampel

Sampel tanah rizosfer dari tumbuhan alang-alang, rumput gajah dan rumput kembangan diambil bagian yang menempel pada akar sebanyak satu genggam (± 50 gram) dari 5 tempat yang berbeda dalam 1 rumpun/lahan yang sebelumnya tanah bagian atas (± 10 cm) dibersihkan dahulu. Setiap sampel tanah dimasukkan dalam kantong plastik yang berbeda.

Pre treatment Sampel Tanah

Tanah yang telah diambil masing-masing ditimbang 10 gram dikeringanginkan pada suhu ruang selama 7-10 hari kemudian disaring dengan saringan 0,8 mm dan dimasukkan dalam wadah steril sebelum digunakan. Masing-masing sampel tanah diambil sebanyak 1 gram kemudian dicampur. Dari hasil pencampuran diambil lagi 1 gram untuk dicampur dengan larutan ringer 10 ml (10^{-1}) kemudian digojok sampai rata, selanjutnya larutan tersebut dipanaskan pada suhu 55°C selama 20 menit untuk mengurangi populasi bakteri Gram negatif.

Isolasi Streptomyces

Pengenceran dilanjutkan dengan mengambil 1 ml larutan 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan ringer laktat (10^{-2}) dan seterusnya sampai pengenceran 10^{-4} . Sebanyak 0,1 ml dari pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} diinokulasi pada medium *raffinosa-histidine agar* dengan penambahan antibiotik sikloheksimid (1:100) untuk mengurangi pertumbuhan fungi dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 7-14 hari. Koloni *Streptomyces* dengan morfologi yang berbeda diseleksi dan dipindah ke media purifikasi yaitu media *benneth agar* dengan menggunakan tusuk sate steril. Kultur tersebut diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari disimpan pada suhu 4°C untuk uji selanjutnya, kemudian dari media *benneth agar* dipindah ke media *oatmeal agar* diinkubasi pada suhu 28°C selama 7-14 hari untuk menumbuhkan spora bakteri.

Identifikasi Isolat Streptomyces dengan Pengecatan Gram

Prosedur pengecatan Gram adalah sebagai berikut: Satu ujung tusuk sate steril isolat *Streptomyces* diambil secara aseptik dan diletakkan pada obyek gelas dan diratakan. Preparat ditambah formalin 1% dikeringkan dan selanjutnya difiksasi di atas nyala api bunsen (spirtius), preparat siap dicat. Preparat digenangi dengan cat Gram A selama 1-3 menit kemudian digenangi cat Gram B selama 0,5-1 menit, setelah itu cat dibuang dan dicuci dengan air. Preparat kemudian ditetesi cat Gram C sampai warna cat dilunturkan. Setelah itu preparat digenangi cat Gram D selama 1 menit kemudian dicuci dan dikeringkan dalam posisi miring. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop, Apabila preparat berwarna ungu artinya Gram positif, jika preparat berwarna merah artinya Gram negatif.

Penyiapan mikroorganisme uji S. aureus dan E. coli

Bakteri uji yang digunakan adalah *S. aureus* dan *E. coli* ATCC 25922. Bakteri diambil beberapa koloni dibiakkan menggunakan tusuk sate steril, kemudian diinokulasi pada medium NA dan diinkubasi 37°C selama 18-24 jam. Koloni bakteri diambil dengan tusuk sate steril lalu ditanam pada 2 ml BHI cair dan di *shaker* selama 3 jam dengan suhu 37°C pada kecepatan 90 rpm, setelah itu diencerkan dengan akuades steril sehingga mempunyai kekeruhan yang sesuai dengan standar Mc Farland (10^8 CFU/ml) kemudian diambil 100 μl dimasukkan kedalam labu takar 10 ml ditambah akuades steril sampai 10 ml, sehingga didapatkan suspensi bakteri 10^6 CFU/ml, kemudian diambil 150 μl diinokulasikan pada media NA dan siap diuji.



Uji isolat *Streptomyces* yang berpotensi menghasilkan antibiotik

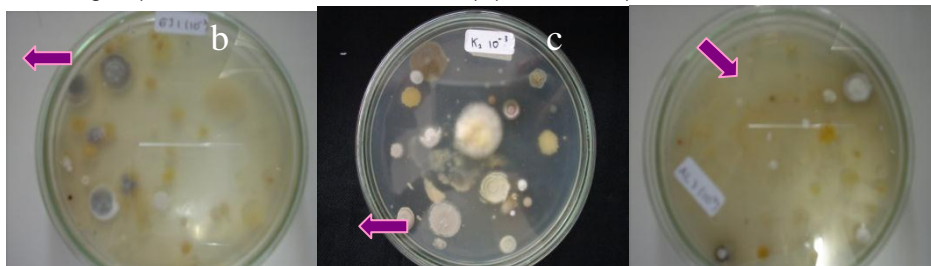
Penentuan aktivitas antibiotik dengan metode *agar block*, isolat dari media *oatmeal agar* yang berumur 3 minggu masing-masing dibuat blok menggunakan *sterile cork borer* diameter 6 mm kemudian diletakkan pada medium NA yang sudah diinokulasi organisme uji. Inkubasi pada saat skrining antibiotik adalah 37°C, 24 jam untuk bakteri. Potensi Antibiotik diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar *agar block*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *Streptomyces* rizosfer rumput gajah, alang-alang dan rumput kembangan diperoleh dari sampel tanah yang diambil di sekitar perakaran rumput dengan kedalaman kira-kira 10 cm dari permukaan tanah. Pengambilan tanah di sekitar perakaran rumput karena akar rumput mempunyai kemampuan untuk mengeluarkan eksudat (cairan sel yang keluar ke sekitar akar) dimana merupakan sumber kehidupan bagi mikroflora tanah, termasuk mikroorganisme yang berpotensi menghasilkan antibiotik (Hasim, 2003).

Sampel tanah rizosfer sebelum diisolasi dilakukan *pre treatment* untuk mengurangi populasi bakteri Gram negatif karena *Streptomyces* termasuk Gram positif yang menghasilkan spora. Pengenceran sampel tanah rizosfer yang diinokulasikan pada media *raffinosa-histidine agar* adalah 10^{-3} dan 10^{-4} . Pengenceran yang rendah (10^{-2}) menyebabkan pertumbuhan koloni yang rapat sehingga tidak dapat diperoleh kultur murni *Streptomyces* dan sebaliknya pengenceran yang tinggi (10^{-6}) kemungkinan mendapatkan koloni *Streptomyces* semakin kecil (Rahayu dan Maryati, 2007).

Isolasi *Streptomyces* menggunakan media *raffinosa-histidine agar* untuk menghambat *Streptomyces albidoflavus* yang mendominasi pertumbuhan bakteri dari tanah. Penggunaan media *raffinosa-histidine agar* sebagai medium selektif untuk membedakan *Streptomyces* dengan koloni bakteri lainnya karena karakteristik miselium dan pigmentasinya. Penambahan sikloheksimid (1:100) pada media *raffinosa-histidine agar* untuk menghambat pertumbuhan jamur (antijamur). Koloni *Streptomyces* pada media buatan licin atau seperti liken, keras dan bertekstur padat, muncul perlahan, konsistensi berbutir dan melekat erat pada permukaan medium agar (Waksman, 1967; Rao, 1994) (Gambar 1).



Gambar 1. Koloni *Streptomyces* pada Media *Raffinosa-histidine agar*
Keterangan: a. Pengenceran 10^{-3} rumput gajah, b. Pengenceran 10^{-3} rumput kembangan, c. Pengenceran 10^{-3} rumput alang-alang

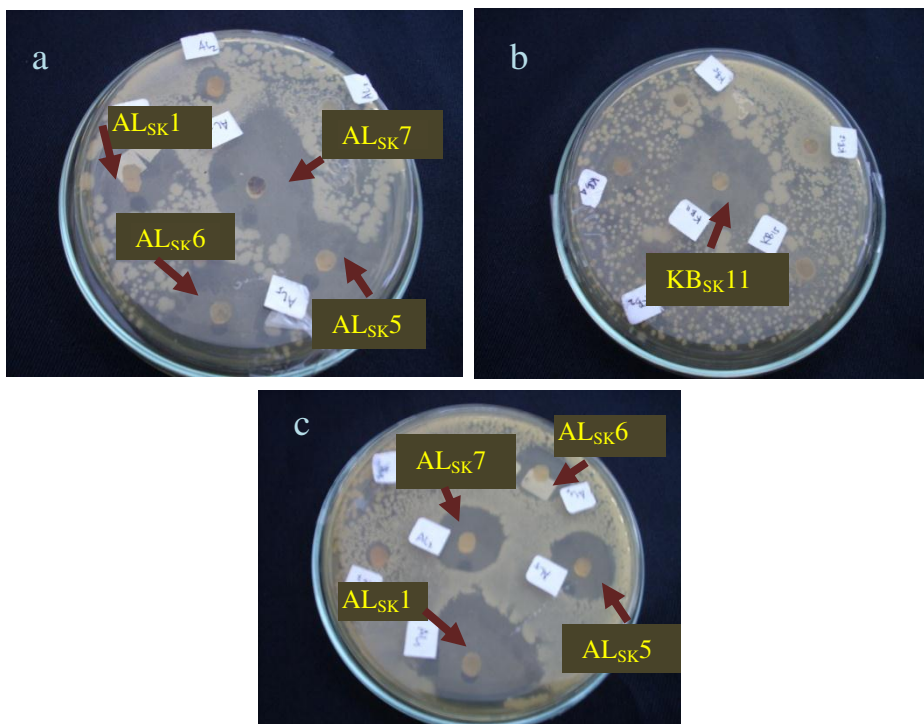
Setelah terlihat pertumbuhan yang maksimal pada media *raffinosa-histidine agar*, koloni *Streptomyces* yang berbeda diseleksi dan dipindah ke media purifikasi yaitu *benneth agar* dengan tusuk sate steril untuk mendapatkan isolat yang murni selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari. Isolat *Streptomyces* dari media *benneth agar* dipindah ke media pembentukan spora yaitu medium *oatmeal agar* karena salah satu ciri *Streptomyces* dapat menghasilkan spora. Inkubasi pada media *oatmeal agar* dilakukan selama 7-14 hari pada suhu 28°C karena *Streptomyces* mempunyai pola pertumbuhan mirip dengan fungi yaitu pertumbuhan lambat dan tumbuh maksimal pada suhu 28°C. Pada pembuatan media *benneth agar* dan *oatmeal agar* sebelum dituang ke petri ditambah sikloheksimid (1:100) terlebih dahulu untuk menghambat pertumbuhan jamur.

Hasil isolasi diperoleh 57 isolat murni, diamati berdasarkan pigmen warna pada miselium vegetatif, spora aerial, dan pigmen difusinya dari media *oatmeal agar*. Selain karakteristik morfologinya, untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh adalah *Streptomyces* yang merupakan Gram positif maka dilakukan pengecatan Gram. Hasil pengecatan Gram isolat *Streptomyces* dari media *benneth agar* dilihat di bawah mikroskop adalah berwarna ungu merupakan Gram positif dengan bentuk sel batang, susunan sel tersebar.

Lima puluh tujuh isolat *Streptomyces* selanjutnya dilakukan skrining antibiotik menggunakan metode *agar block*. Organisme uji yang dipakai adalah *S. aureus* dan *E. coli* ATCC 25922. Setelah 24 jam, diamati ada tidaknya zona hambat di sekitar *agar block* selanjutnya diukur zona jernih di sekitar *agar block*



berdasarkan ketentuan Davis Stout *cit* Hasim (2003) yaitu: daerah hambatan 20 mm atau lebih memiliki potensi antibiotik sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm memiliki potensi antibiotik kuat, daerah hambatan 5-10 mm memiliki potensi antibiotik sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang memiliki potensi antibiotik lemah (Hasim, 2003). Hasil skrining antibiotik terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ATCC 25922 pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji Potensi Isolat *Streptomyces* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*
 Bakteri uji *S. aureus*
 Bakteri uji *S. aureus*
 Bakteri uji *E. coli* ATCC 25922

Dari Gambar 2 terlihat bahwa isolat AL_{SK}1, AL_{SK}7, AL_{SK}6, dan AL_{SK}5 berpotensi antibiotik baik terhadap *S. aureus* dan *E. coli* sebagai wakil kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif. Untuk isolat KB_{SK}11, lebih berpotensi terhadap bakteri Gram positif. Apabila dibandingkan, maka prosentase isolat *Streptomyces* yang berpotensi antibiotik “sangat kuat” terhadap *S. aureus* (Gram positif) lebih tinggi dibanding terhadap *E. coli* (Gram negatif) (Tabel 1). Hal ini mungkin disebabkan karena struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibanding Gram negatif sehingga antibiotik lebih mudah masuk ke dalam sel dan menghambat atau mematikan bakteri.

Pada penelitian ini rumput gajah dan alang-alang diambil dari daerah Sukoharjo dan Blora sedangkan rumput kembangan diambil dari daerah Sukoharjo dan Salatiga. Karakteristik tanah pada daerah tersebut dapat mempengaruhi isolat yang dihasilkan. Tanah dari desa Gayam di daerah Sukoharjo dengan karakteristik tanahnya yang kering dapat menghasilkan isolat dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan tanah dari desa Cepu di daerah Blora walaupun karakteristik tanahnya lebih kering tetapi isolat yang dihasilkan pada daerah tersebut lebih sedikit. Begitu pula tanah yang diambil dari desa Lopait di daerah Salatiga yang beriklim lembab walaupun pengambilan sampel tanah masih pada musim kemarau yang tanahnya terlihat banyak yang kering tetapi isolat yang dihasilkan lebih sedikit



Tabel 3. Hasil Uji Potensi Antibiotik Isolat *Streptomyces* terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ATCC 25922

Potensi Antibiotik	Bakteri Uji <i>S. aureus</i>		Bakteri Uji <i>E. coli</i> ATCC 25922	
	Isolat	Persentase isolat yang berpotensi antibiotik	Isolat	Persentase isolat yang berpotensi antibiotik
Sedang	AL _{SK} 2	1,75%	-	-
Kuat	KB _{SK} 13, AL _{SK} 6, AL _{SK} 13, AL _{SK} 16, AL _{SK} 2710 ⁻⁴ , GJ _{SK} 19, GJ _{SK} 12 ¹⁰⁻⁴ , GJ _B 25, KB _{SL} 20	17,54%	KB _{SK} 9 10 ⁻⁴ , GJ _{SK} 5, GJ _{SK} 2, GJ _{SK} 12 10 ⁻² , GJ _{SK} 3, AL _{SK} 2	10,52 %
Sangat Kuat	KB _{SK} 11, AL _{SK} 1, AL _{SK} 5, AL _{SK} 7, AL _{SK} 20, GJ _{SK} 4, GJ _{SK} 8, GJ _B 21	14,04%	GJ _{SK} 4, AL _{SK} 7, KB _{SK} 11, AL _{SK} 13, AL _{SK} 27 10 ⁻⁴ , GJ _{SK} 8, AL _{SK} 16, AL _{SK} 6, AL _{SK} 5, AL _{SK} 1	17,50 %
Tidak berpotensi	37 isolat	66,67%	41 isolat	71,93 %

Karakteristik perakaran juga mempengaruhi isolat yang dihasilkan. Rumput alang-alang dengan perakaran yang besar dan banyak ternyata dapat menghasilkan isolat yang terbanyak dibanding dengan isolat dari rumput kembangan dan rumput gajah yang perakarannya juga besar. Pada perakaran tanaman dihasilkan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Dengan perakaran yang besar dan banyak ini tentunya akan dihasilkan mikroorganisme yang banyak pula. Pada rumput kembangan walaupun perakarannya banyak tetapi akarnya kecil-kecil sehingga isolat yang dihasilkan oleh rumput kembangan paling sedikit tetapi hal ini tidak mempengaruhi potensi antibiotiknya. Terbukti bahwa isolat dari rumput kembangan yaitu isolat KB_{SK}11 memiliki potensi yang sangat kuat sebagai penghasil antibiotik.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini diperoleh isolat-isolat *Streptomyces* dapat dijadikan sebagai sumber penghasil antibiotik baru yang sangat potensial di Indonesia.

Saran

Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi lebih lanjut senyawa-senyawa antibiotik yang terdapat dalam isolat *Streptomyces* dari daerah rizosfer tumbuhan Familia Poaceae yang meliputi alang-alang (*Imperata cylindrica* L), rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) dan rumput kembangan (*Digitaria microbachne* (Presl.) Henr) serta perlu dilakukan efisiensi penggunaan antibiotik untuk menekan terjadinya resistensi terhadap antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Gibson, J. M., 1998, *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat*, Cetakan Pertama, Alih Bahasa Somaprasada, I. K. G., Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hasim, 2003, *Menanam Rumput Memanen Antibiotik*, (online), (<http://www.kompas.com/kompas-cetak/0311/03/inspirasi/663220.htm>, diakses 26 Februari 2008).
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Edisi XXII, 352, Salemba Medika, Jakarta.
- Rahayu, T., dan Maryati, 2007, *Isolasi Dan Karakterisasi Streptomyces yang Berpotensi Antimikrobia dari Rizosfer Tumbuhan Tingkat Tinggi, Laporan Penelitian Hibah Pekerti*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Rao, N. S. S., 1994, *Mikrobiologi Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*, diterjemahkan oleh Susilo, H., 38-39, 63, UI Press, Jakarta.

