

AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Streptomyces spp* ENDOFIT TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Eschericia coli*

Siti Nur Azizah*, Tari Aditya Rachmawati, Amaliyah Nurul Hidayah
Akademi Farmasi Jember
Jl. Pangandaran No. 42 Jember 68125
*Email : azizah.ariza@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this research was to known antibacterial activity of 4 endhophytic Streptomyces namely Streptomyces griseorubiginosus, Streptomyces vellosus, Streptomyces diastaticus and Streptomyces griseoruber against Staphylococcus aureus and Eschericia coli and measure the biggest antibacterial activity which is indicate by clear zone diameter. Antibacterial activity by using agar plug diffusion method showed that Streptomyces vellosus has capable to inhibits growth of Staphylococcus aureus but not with Eschericia coli and Streptomyces diastaticus has capable to inhibits growth of Eschericia coli but not with Staphylococcus aureus. The clear zone of Streptomyces vellosus and Streptomyces diastaticus are 5,18 mm and 7 mm respectively. Streptomyces griseoruber and Streptomyces griseorubiginosus can't grow during isolation.

Keyword: Streptomyces vellosus, Streptomyces diastaticus, agar plug diffusion method

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang memiliki banyak sumber daya alam, yang ditunjukkan dengan banyak tumbuhan obat yang tumbuh hampir di seluruh tanah di Indonesia. Tumbuhan obat yang sering digunakan sebagai ramuan obat tradisional adalah daun sirih merah dan rimpang kencur. Daun sirih merah dan rimpang kencur mengandung banyak senyawa kimia dan mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang ditemukan di tumbuhan tersebut adalah bakteri yang disebut bakteri endofit (Azizah dan Christiningtyas, 2018).

Berdasarkan Pranoto *et. al* (2014), bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman seperti akar, batang, daun dan buah yang memiliki sifat mutualisme antara bakteri dengan inang. Bakteri endofit mengandung senyawa bioaktif yang sama atau serupa dengan yang terkandung pada tanaman. Contoh bakteri endofit yang berguna adalah *Streptomyces*. Penelitian Azizah dan E. Christiningtyas (2018) telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi 4 *Streptomyces* endofit yaitu *Streptomyces griseorubiginosus*, *Streptomyces vellosus*, *Streptomyces diastaticus* dan *Streptomyces griseoruber* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

Streptomyces adalah bakteri golongan Actinomycetes yang tidak tahan asam. Bakteri ini tersebar luas di berbagai habitat, namun secara dominan banyak ditemukan di tanah terestrial (Euanorasetr *et al.*, 2010). *Streptomyces* dapat memetabolisme berbagai senyawa yaitu gula, alkohol, asam amino, dan senyawa aromatik dengan memproduksi enzim hidrolitik ekstraseluler. *Streptomyces* dikenal sebagai penghasil senyawa aktif terbesar yaitu antibakteri (Ariningsih, 2009). Lebih dari 50 macam antibakteri telah diisolasi dari *Streptomyces* sebagai contoh streptomisin, neomisin, kloramfenikol dan tetrasiklin. Mekanisme kerja dari bakteri ini adalah dengan cara mengganggu sintesis normal bakteri lain (Aghighi *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ratnakomala *et al* (2016), *Streptomyces* yang ditemukan di laut efektif dalam menghambat bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Eschericia coli*. Manjula *et al* (2009) menyatakan bahwa *Streptomyces* asal tanah terestrial dapat menghambat bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Streptomyces* memiliki banyak

spesies, seperti *Streptomyces griseoruber* yang diisolasi dari tanah memiliki aktivitas anti jamur, *Streptomyces diastaticus* yang diisolasi dari tanah terestial memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Hui, 2014 dan Zhang, 2011).

Eschericia coli dan *Staphylococcus aureus* adalah mikrobiota normal yang ada dalam tubuh manusia. Bakteri tersebut merupakan patogen oportunistik yang dapat menyebabkan keadaan yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis maupun pasien yang memiliki tingkat imunitas yang rendah (Putri, 2014). *Eschericia coli* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan diare pada anak dan *travelers diarrhea* (Ismail, 2012). Sedangkan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan (Jawetz *et al.*, 2008).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari 4 *Streptomyces* endofit yaitu *Streptomyces griseorubiginosus*, *Streptomyces vellosus*, *Streptomyces diastaticus* dan *Streptomyces griseoruber* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan mengamati zona hambat yang terbentuk menggunakan metode difusi.

METODE PENELITIAN

Peremajaan mikroorganisme

Empat isolat *Streptomyces* spp endofit diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Jember diremajakan pada media YMA. Sebanyak 1 ose dari stok isolat ditanam pada media *Yeast Malt Agar* dengan cara *streak kuadran*. Kemudian diinkubasi selama 7-14 hari (Azizah dan Christiningtyas, 2018).

Isolat *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. Isolate ditanam diatas permukaan agar miring dalam tabung dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Iskandar *et al*, 2009). Hasil peremajaan isolat akan dijadikan stok uji pada pengujian aktivitas antibakteri.

Pembuatan suspensi kultur cair *Streptomyces* spp dan bakteri patogen

Suspensi cair *Streptomyces* spp dibuat dengan cara mengambil sebanyak 1 ose koloni dari YMA dan ditumbuhkan pada 50ml media YMB. Kemudian diinkubasi selama 14 hari. Setelah inkubasi, kultur cair *Streptomyces* yang bembentuk butiran-butiran dalam YMB siap digunakan untuk pengujian konfirmasi pengecatan Gram.

Pembuatan suspensi kultur cair *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing diambil 1 ose dan ditumbuhkan kedalam 50 ml media NB. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C (Iskandar *et al*, 2009). kultur cairbakteri patogen yang sudah keruh tersebut siap digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

Pewarnaan Gram *Streptomyces* spp dan bakteri patogen

Pewarnaan gram bertujuan untuk reidentifikasi bakteri yang akan digunakan golongan gram positif atau gram negatif. Langkah pengecatan gram yang pertama pada *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah mengambil 1 ose isolat dilarutkan dalam *aquadest* dan di *vortex* agar homogen. Kemudian sebanyak 1 ml diletakkan pada kaca objek dan di fiksasi hingga kering. Pewarnaan gram pada dua isolat *Streptomyces* endofit dilakuakn dengan cara mengambil 1 ml kultur cair yang berisi butiran kultur *Streptomyces* spp dan diletakkan di kaca objek dan di fiksasi hingga kering.

Setelah tahap fiksasi, lalu kaca objek ditetesi dengan kristal violet, diamkan selama 2 menit dan dibilas dengan air. Selanjutnya kaca objek ditetesi dengan iodin, diamkan selama 1 menit dan bilas dengan air. Kemudian kaca objek ditetesi dengan alkohol 70%, diamkan selama 30 detik dan bilas dengan air. Terakhir kaca objek ditetesi dengan safranin dan diamkan selama 1 menit (Brooks *et al.*, 2012). Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x.

Pengujian aktivitas antibakteri *Streptomyces* spp endofit terhadap bakteri patogen

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi keping agar. Stok uji *Streptomyces* spp yang berumur 14 hari diambil dengan sedotan steril ($\theta=7$ mm). Kemudian diletakkan diatas media NA yang telah diinokulasikan 100 μ l suspensi bakteri uji (10^{-8} sel/ μ l) (Ratnakomala *et al.*, 2016). Selanjutnya media NA diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Adanya zona bening mengindikasikan aktivitas antibakteri (Dita, 2017). Kontrol positif yang digunakan adalah suspensi 100 μ l bakteri patogen dituang ke dalam media NA lalu dituang kedalam petridish dan ditunggu hingga memadat. Kontrol negatif yang digunakan adalah 10 ml media NA dituang kedalam *petridish* dan ditunggu hingga memadat (Ningsih, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil peremajaan *Streptomyces* spp di media YMA

Peremajaan *Streptomyces* spp. dari stok induk menggunakan media YMA bertujuan untuk mengetahui bentuk koloni tunggal sehingga diketahui kemurnian dari isolat uji. Hasil penelitian ditunjukkan pada tabel 1. *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* menunjukkan pertumbuhan yang baik sama dengan isolat induk pada media YMA. *Streptomyces griseorubiginosus* tidak dapat tumbuh karena koloni bakteri pada stok yang sudah kering dan terlalu melekat pada media sehingga pada saat peremajaan dengan metode *streak kuadran* bakteri tidak mau tumbuh pada media YMA. *Streptomyces griseoruber* yang diremajakan di media YMA terkontaminasi oleh jamur, hal ini disebabkan oleh stok *Streptomyces griseoruber* yang telah terkontaminasi oleh jamur sehingga saat diremajakan menggunakan metode *streak kuadran*, jamur selalu ikut tumbuh sesuai arah *streak kuadran*.

Tabel 1. Pengamatan makroskopik *Streptomyces* spp.

Bakteri	Warna koloni	Permukaan koloni	Tepi Koloni
<i>Streptomyces vellosus</i>	Pink kecoklatan	Datar dan berair	Bergerigi
<i>Streptomyces griseoruber</i>	Terkontaminasi jamur dan tidak dilanjutkan		
<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	Terkontaminasi bakteri dan tidak dilanjutkan		
<i>Streptomyces diastaticus</i>	Abu-abu kecoklatan	Convex	Entire
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kuning	Convex	entire
<i>Eschericia coli</i>	Putih susu	Low convex	Entire

Hasil pewarnaan gram *Streptomyces* dan bakteri patogen

Pewarnaan gram bertujuan untuk melakukan reidentifikasi bakteri yang digunakan apakah tergolong gram positif atau gram negatif. Hasil pewarnaan gram pada kedua *Streptomyces* spp menunjukkan bahwa kedua *Streptomyces* spp merupakan bakteri gram positif. Hasil pewarnaan gram bakteri patogen menunjukkan bahwa *Eschericia coli* merupakan bakteri gram negatif sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan mikroskopik *Streptomyces* spp dan bakteri patogen

Bakteri	Bentuk sel	Warna sel	Gram
<i>Streptomyces vellosus</i>	Rantai panjang	Ungu	Positif
<i>Streptomyces diastaticus</i>	Rantai panjang	Ungu	Positif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bulat	Ungu	Positif
<i>Eschericia coli</i>	Batang	Merah	Negatif

Pertumbuhan *Streptomyces* spp di media YMB untuk pengecatan gram bertujuan untuk mengetahui bentuk sel dan spora *Streptomyces* spp melalui pewarnaan gram. Peremajaan *S. griseoruber* dan *S. griseorubiginosus* di media cair YMB juga tidak menunjukkan pertumbuhan spora dikarenakan kontaminasi bakteri pada stok induk yang ditandai dengan kekeruhan pada media YMB sehingga pengecatan gram pada kedua *Streptomyces* tersebut tidak dilanjutkan. Hasil reidentifikasi baik secara makroskopis dan mikroskopis *Streptomyces* spp menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut masih murni. Hal ini diketahui dari ciri morfologi kedua isolat tersebut menunjukkan kesamaan dengan penelitian sebelumnya oleh Azizah dan Christiningtyas (2018).

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Streptomyces* spp dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 3 dan 4. Tabel 3 menunjukkan bahwa hanya *Streptomyces vellosus* yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan kategori sedang. Sedangkan *Streptomyces diastaticus* tidak dapat menghambat *Staphylococcus aureus*. Hasil uji aktivitas antibakteri *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* terhadap *Eschericia coli* dapat dilihat pada tabel 4. Tabel 4 menunjukkan bahwa hanya *Streptomyces diastaticus* yang dapat menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dengan kategori kuat, sedangkan *Streptomyces vellosus* tidak dapat menghambat *Eschericia coli*.

Tabel 3. Diameter zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menggunakan *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* terhadap

Spesies	Ulangan	Diameter (mm)			Rata-Rata (mm) ± SD	Ket.
		Zona Keseluruhan (mm)	Keping Agar	Zona Hambat (mm)		
<i>Streptomyces vellosus</i>	I	11,75	7	4,75	5.18 ± 0,923	Sedang
	II	13,35	7	6,35		
	III	13,35	7	6,35		
<i>Streptomyces diastaticus</i>	I	0	7	0	0	Tidak menghambat
	II	0	7	0		
	III	0	7	0		

Tabel IV. Diameter zona hambat *Eschericia coli* menggunakan *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus*.

Spesies	Ulangan	Diameter (mm)			Rata-Rata (mm) ± SD	Ket.
		Zona Keseluruhan (mm)	Keping Agar	Zona Hambat (mm)		
<i>Streptomyces vellosus</i>	I	0	7	0	0	Tidak menghambat
	II	0	7	0		
	III	0	7	0		
<i>Streptomyces diastaticus</i>	I	13,85	7	6,85	7 ± 0,259	Kuat
	II	14,30	7	7,30		
	III	13,85	7	6,85		

Pengujian aktivitas antibakteri *S. vellosus* dan *S. diastaticus* terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan menggunakan metode keping agar. Aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya zona bening di sekitar keping agar. Menurut Minas *et al.* (2001), zona bening yang terbentuk dikarenakan *Streptomyces spp* mampu menghasilkan senyawa metabolit serupa antibakteri yang diekskresikan pada media YMA sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. *Streptomyces* dalam menghasilkan metabolit tersebut bergantung pada kondisi kultivasi (media pertumbuhan, suhu dan waktu inkubasi). Porter (1971) juga melaporkan bahwa kondisi kultur yang berbeda menentukan adanya antibiotik. Menurut Jawetz *et al.* (1996), mekanisme terpenting dari kerja antibakteri terhadap sel bakteri adalah menghambat sintesa protein dan asam nukleat. Selain mekanisme tersebut aktivitas antibakteri juga meliputi perusakan dan penghambatan pembentukan dinding sel, perubahan permeabilitas sel target dan penghambatan kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri.

Penelitian terkait *Streptomyces vellosus* sebagai antibakteri belum pernah dilaporkan sebelumnya, sehingga penelitian ini merupakan penelitian awal terkait aktivitas antibakteri pada *Streptomyces vellosus*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sriprechasak *et al.* (2014) *Streptomyces diastaticus* yang diisolasi dari tanah di Thailand tidak dapat menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*, sedangkan pada penelitian ini, *Streptomyces diastaticus* endofit daun sirih merah dapat menghambat *Eschericia coli* dengan kategori kuat. Hal ini disebabkan oleh ada perbedaan habitat dan kondisi kultur dari *Streptomyces diastaticus* yang menyebabkan perbedaan aktivitas antibakteri. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Streptomyces vellosus* dapat digunakan sebagai antibakteri terutama penyakit yang disebabkan infeksi *Staphylococcus aureus* sedangkan *Streptomyces diastaticus* dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *Eschericia coli*.

KESIMPULAN

Streptomyces vellosus endofit rimpang kencur memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Streptomyces diastaticus* endofit daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli*. *Streptomyces* endofit yang memiliki zona hambat terbesar pada *Eschericia coli* adalah *Streptomyces diastaticus* sebesar 7 mm dan zona hambat terbesar pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah *Streptomyces vellosus* sebesar 5,18 mm.

SARAN

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri pada *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* menggunakan bakteri patogen yang lain seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*,

Clostridium botulinum dan bakteri patogen lainnya untuk mengetahui kemampuannya sebagai penghasil antibiotik.

2. Perlu penelitian lanjut terkait menguji potensi lain dari *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* seperti pengujian antikanker, antifungi dan antiparasit.
3. Isolat *Streptomyces griseoruber* dan *Streptomyces griseorubiginosus* perlu di murnikan kembali dengan menggunakan media YMA dan YMB agar diketahui potensinya sebagai antibakteri atau potensi yang lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada RISTEKDIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Dosen Pemula tahun 2018. Kami juga mengucapkan terimakasih kepada Tari Aditya Rachmawati yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aghighi S., GH Shahidi., R. Rawashdeh., S Batayneh., I Saadoun 2004. First Report of Antifungal Spectra of Activity of Iranian Actinomycetes Strain Against *Altenaria Solani*, *Altenaria Alternata*, *Fusarium Solani*, *Phytophthora Megasperma*, *Verticillium dahlia*, and *Sacharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences*. 3.1. 463-471.
- Ariningsih R.I. 2009. Isolasi *Streptomyces* dari Rizosfer famili Poaceae yang berpotensi menghasilkan Antijamur Terhadap *Candida Albicans*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Azizah S.N, E. Christiningtyas. 2018. Potensi aktinomiset endofit dari tanaman obat sebagai antituberkulosis terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif dan resisten. *Laporan Penelitian Dosen Pemula*. Akademi Farmasi Jember.
- Brooks Carrol C., Butel S.,Morse A., Mietzer A. 2012. *Medical Microbiology 26th Ed*. The McGraw Hill Co. USA.
- Dita, F,S. 2017. Kemampuan Aktinomiset Yang Berasosiasi Dengan Spons Dalam Mengendalikan Bakteri Patogen. *Sekolah Pasca Sarjana*. Institut Pertanian Bogor
- Euanorasetr J., Nilvongse A., Tantimavanich S., Nihira T., Igarashi Y., Panbangred W. 2010. Identification And Characterization Of Soil-Isolated *Streptomyces* Sje177 Producing Actinomycin. *Journal Trop Med Public Health*. 41. 5. 77-87.
- Hui, J. 2014. *Streptomyces griesoruber* Y1B, A Novel *Streptomyces* For 1-Hydroxyphenazine Production. *Journal of Applied Biotechnology*. 2. 2. 13-31.
- Iskandar Y., Rusmiati D., dan Dewi RR. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rumpun Laut *Eucheuma cottoni* Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus cereus*. Fakultas MIPA Jurusan Farmasi. Sumedang.
- Ismail, D. 2012. Uji Bakteri *Eschericia coli* Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek Dan Tanpa Merek Di Kota Surakarta. *Naskah Publikasi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jawetz E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed 20. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jawetz E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.

- Manjula, C., Rajaguru, P. dan Muthuselvam, M. 2009. Screening for Antibiotic Sensitivity of Free and Immobilized Actinomycetes Isolated From India. *Advances in Biological Research* 3. 3.
- Minas, W., J, E, Bailey and W. duets. 2001. *Streptomyces in Micro Cultures: Growth, Production of Secondary metabolites, and storage and retrieval in the 96- well format*. Kluwer academic Publishers. Zurich.
- Ningsih, A.P. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal biologi Universitas Andalas*. 2. 3. 207-213.
- Porter, J.N. 1971. Prevalance And Distribution of Antibiotic- Producing *Actinomycetes*. *Adv Appl Microbial*. 14.73-92.
- Pranoto, E., Fauzi, G., dan Hingdri. 2014. Isolation and Characterization of Endhophyt Bacteria on Highland productif and Young Tea plant (*Camelia sinensis* (L.) O. kuntze). *Biospecies*. 7. 1.1-7.
- Ratnakomala S., Apriliana P., Fahrurrozi., Lisdiyanti P., dan Kusharyoto W. 2016. Aktivitas Antibakteri Aktinomiset Laut Dari Pulau Enggano. *Berita Biologi Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. 15. 3.275-283.
- Sripreechasak, P., Suwanborirux, K., dan Tanasupawat, S. 2014. Characterization and antimicrobial activity of *Streptomyces* strains from soils in southern Thailand. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 4. 10. 024-031.
- Zhang C., Wang S., Yan Y. 2011 Isomerization and Biodegradation of Beta-Cipermethrin by *Pseudomonas aeruginosa* CH7 With Biosurfactan Production. *Bioresource Technology*. 102. 14.7139-7146.