

Aktivitas Antibakteri *Streptomyces* spp. Endofit Tanaman Obat Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Siti Nur Azizah^{1*}, Yurin Sabrina², Agnis Pondineka R.A.³, Dewi Riskha N.⁴

^{1,2,3,4}Akademi Farmasi Jember, Jember, Indonesia

*Corresponden: azizah.ariza@gmail.com

ABSTRAK

Streptomyces merupakan bakteri endofit yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri *Streptomyces* spp. terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Streptomyces* spp dikultur di YMA dan *Pseudomonas aeruginosa* di NA. Aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar dengan parameter zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* mampu menghasilkan zona hambat masing-masing sebesar 3,65 mm dan 3,76 mm.

Kata Kunci: *Streptomyces*, antibacterial, Metode Difusi Agar, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Streptomyces are endofit bacterial that have activity as an antibacterial agent. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of *Streptomyces* spp. against *Pseudomonas aeruginosa*. *Streptomyces* spp was cultured in YMA and *Pseudomonas aeruginosa* in NA. Antibacterial activity by agar diffusion method with inhibition zone as the parameter. The result showed that *Streptomyces vellosus* and *Streptomyces diastaticus* have antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Streptomyces vellosus* and *Streptomyces diastaticus* were capable produced inhibition zone at 3,65mm and 3,76mm, respectively.

Keywords: *Streptomyces*, antibacterial, agar diffusion methode, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Infeksi bakteri menjadi salah satu penyakit utama penyebab kematian tertinggi di negara tropis seperti Indonesia. Munculnya penyakit infeksi diduga diakibatkan faktor sosial – ekonomi, lingkungan, dan ekologi. Salah satu bakteri patogen penyebab infeksi manusia adalah *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Meticillint resistant S. aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen. Bakteri ini merupakan penyebab utama infeksi *nosocomial*. Infeksi ini banyak dialami pasien selama dirawat di rumah sakit. Gejala yang ditunjukkan akan terlihat setelah 72 jam pasien berada di rumah sakit. Sehingga infeksi tersebut tidak ditemukan atau diderita pada saat pasien masuk ke rumah sakit. Contohnya seperti infeksi pneumonia, infeksi saluran kemih, dan

bakteriemia. Infeksi *Pseudomonas* ini juga dapat menyebabkan komplikasi dan mengancam nyawa (De Smet *et al.*, 2017).

Menurut Simarmata *et al* (2007), penyakit infeksi bakteri dapat di obati dengan antibakteri. Senyawa bioaktif bisa menjadi antibakteri. Senyawa bioaktif berperan penting dalam pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan manusia. Umumnya, pengambilan senyawa bioaktif dari suatu tanaman obat dapat adapaun langkah efektif dan efisien untuk memperoleh bioaktif yaitu menggunakan mikroba endofit yang mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya. sehingga tidak harus mengekstrak senyawa bioaktif tersebut dari tanaman inang

Eksplorasi mikroba endofit yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama ataupun serupa dengan tanaman inangnya merupakan salah satu pengembangan solusi agar produksi senyawa bioaktif lebih banyak tanpa mengurangi keragaman hayati tanaman. Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya, seperti cendawan dan bakteri termasuk aktinomiset (Alvin *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian Azizah dan Eryani (2018) telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi empat isolat *Streptomyces* asal rimpang kencur dan daun sirih merah. *Streptomyces* tersebut antara lain *Streptomyces griseoruber*, *Streptomyces griseorubiginosus*, *Streptomyces vellosus*, *Streptomyces diastaticus*. Menurut penelitian sebelumnya, *Streptomyces griseoruber* menghasilkan streptomisin yang aktif pada bakteri Gram positif dan negatif.

Streptomyces griseorubiginosus memproduksi anthraquinon yang berperan dalam aktivitas sitotoksik (Narayana *et al.*, 2008). *Streptomyces vellosus* dan *S. diastaticus* sebagai penghasil antibiotik, juga sebagai agen biodegradasi pestisida dengan menghasilkan cypermethrin (Radji, 2005). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian potensi spesies *Streptomyces* endofit asal tanaman obat rimpang kencur dan daun sirih merah sebagai antibiotika terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

BAHAN DAN METODE

Preparasi mikroorganisme

Spesies *Streptomyces* endofit diperoleh dari Jurusan Biologi FMIPA UNEJ hasil isolasi Azizah dan Eryani (2018). Isolat diremajakan pada media ISP-2. dengan cara *streak kuadran* kemudian diinkubasi selama 7-14 hari. *Pseudomonas aeruginosa* juga diperoleh dari Jurusan Biologi FMIPA UNEJ. Peremajaan juga dilakukan dengan cara *streak kuadran* pada media NA hingga diperoleh koloni tunggal (Madigan *et al.*, 2006)

Pembuatan suspensi bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*

Sebanyak 1 ose biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasikan kedalam 50 mL NB (*Nutrient broth*), kemudian di *shaker* pada kecepatan 120 rpm lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Rahmawati, 2015).

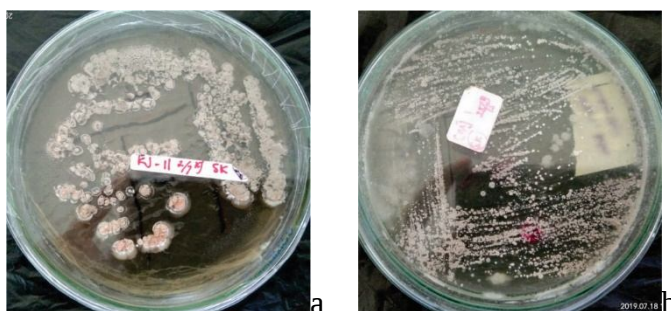
Pengujian aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi keping agar. Stok *Streptomyces* hasil *streak kuadran*, diambil koloni bagian atasnya sebanyak 0,7cm menggunakan sedotan steril, sehingga didapat keping agar berisi isolat (Dita, 2017). Keping agar tersebut diletakkan diatas media NA (*Nutrient Agar*) yang telah diinokulasi 0,1ml suspensi bakteri uji (10^{-8} sel /ml). Selanjutnya cawan agar diinkubasi pada suhu 37°C

selama 24-48 jam. Aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling keping agar mengandung *Streptomyces*. (Ratnakomala *et al.*, 2016).

HASIL DAN DISKUSI

Isolat *Streptomyces* memiliki warna koloni, tepi dan permukaan yang berbeda-beda. *Streptomyces vellosus* memiliki miselium aerial berwarna pink kecoklatan, miselium substat berwarna coklat tua, pigmentasi berwarna pink, permukaan datar dan berair. *Streptomyces diastaticus* memiliki miselium aerial berwarna abu-abu kecoklatan, miselium substat berwarna coklat kekuningan, pigmentasi berwarna coklat tua, permukaan timbul. Isolat *Streptomyces* memiliki warna koloni, tepi dan permukaan yang berbeda-beda. *Streptomyces vellosus* memiliki miselium aerial berwarna pink kecoklatan, miselium substat berwarna coklat tua, pigmentasi berwarna pink, permukaan datar dan berair. *Streptomyces diastaticus* memiliki miselium aerial berwarna abu-abu kecoklatan, miselium substat berwarna coklat kekuningan, pigmentasi berwarna coklat tua, permukaan timbul (Gambar 1)



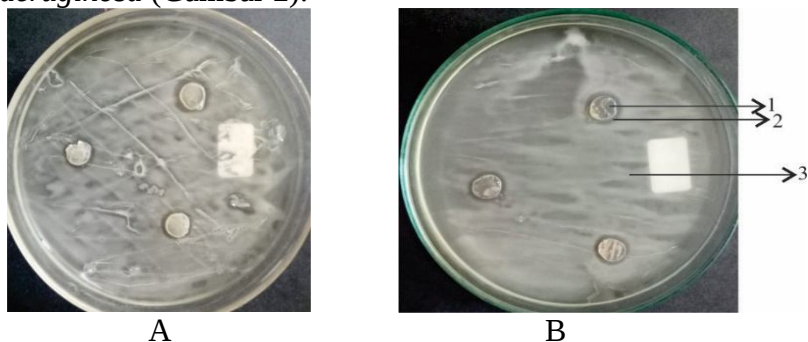
Gambar 1. Koloni *Streptomyces* spp pada media YMA dengan inkubasi 14 hari
a) *Streptomyces vellosus*, b) *Streptomyces diastaticus*

Aktivitas antibakteri *Streptomyces* bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat *Streptomyces* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Streptomyces vellosus* dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan membentuk zona hambat sebesar 3,65 mm. *Streptomyces diastaticus* juga dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan membentuk zona hambat sebesar 3,76 mm (Tabel 1.).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri *Streptomyces* terhadap pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Pseudomonas aeruginosa*

Sampel	Ulangan	Diameter (mm)			Rata-rata	Ket.
		Zona keseluruhan	Sumuran	Zona hambat		
<i>Streptomyces vellosus</i>	I	10,85	7	3,85	3,65	Sedang
	II	10,45	7	3,45		
	III	10,65	7	3,65		
<i>Streptomyces diastaticus</i>	I	10,75	7	3,75	3,76	Sedang
	II	10,65	7	3,65		
	III	10,90	7	3,90		

Sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua *Streptomyces* tersebut memiliki kekuatan sedang (3-6mm). Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar keping agar pada media NA yang mengandung *Pseudomonas aeruginosa* (Gambar 2).



Gambar 2. Zona bening yang dihasilkan oleh *Streptomyces* spp dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. A) *Streptomyces vellosus*, B) *Streptomyces diastaticus*. 1) Keping agar yang mengandung *Streptomyces*, 2) Zona hambat / zona bening, dan 3) Media NA mengandung *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa *Streptomyces* spp memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian menunjukkan kedua isolat *Streptomyces* (*Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus*) dapat menekan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Setiap isolat *Streptomyces* diasumsikan menghasilkan antibiotik yang mampu menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sehingga *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* juga mampu mensekresi metabolit sekunder yang serupa dengan antibiotik sehingga memiliki zona hambat disekitar keping agar.

Menurut Minas (2001) *Streptomyces* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan kemampuannya menghasilkan senyawa baik berupa enzim hidrolitik ekstraseluler. Menurut Susilowati *et al.*, (2007), penghambatan bakteri patogen dapat terjadi karena adanya senyawa antibakteri yang disekresikan oleh aktinomisetes pada media agar. Setiap isolat *Streptomyces* memiliki kemampuan yang berbeda-beda . hal ini terganggu dari segi spesies atau generiknya. Semakin besar diameter zona hambatnya maka semakin bagus senyawa aktif yang dihasilkan oleh setiap Spesies bakteri. *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* merupakan pengujian awal dari laporan yang telah ada. Selain itu, kedua *Streptomyces* tersebut belum pernah dilaporkan potensinya sebagai antibiotik.

Tabel 2. uji Kolmogorov-smirnov
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.14944341
Most Extreme Differences	Absolute	.167
	Positive	.167
	Negative	-.147
Test Statistic		.167
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

Hasil uji statistik menggunakan program SPSS dengan *Kolmogorov-smirnov* yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena nilai signifikannya senilai 0,200 ($p > 0,05$) (Tabel 2).

Sehingga dilanjutkan dengan analisis menggunakan *Independent sample t-test* mendapatkan hasil signifikansi 0,441 ($p > 0,05$) (Tabel 3). Hasil ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara zona hambat *Streptomyces vellosus* dengan *Streptomyces diastaticus* yang dihasilkan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 3. Uji *independent sample t-test*

Independent Samples Test									
	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	.342	.590	-.855	4	.441	-.11667	.13642	-.49544	.26210
Equal variances not assumed			-.855	3.369	.449	-.11667	.13642	-.52513	.29180

KESIMPULAN DAN SARAN

Streptomyces endofit tanaman obat yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah *Streptomyces vellosus* dan *Streptomyces diastaticus*. *Streptomyces* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi yaitu *Streptomyces diastaticus*.

Saran pada penelitian ini yaitu perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli*, dan *Clostridium botulinum*; serta perlu dilakukan pengujian potensi lain dari *Streptomyces* selain untuk antibakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada RISTEKDIKTI melalui Hibah Dosen Pemula tahun 2018 yang mendukung fasilitas bahan-bahan penelitian ini. Akademi Farmasi Jember yang mendukung fasilitas laboratorium pada penelitian ini. Yurin Sabrina sebagai mahasiswa AKFAR Jember yang membantu melaksanakan penelitian.

REFERENSI

- Alvin, A., Kristin, Miller, K.I., Neilan, B.A. 2017. Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. *Microbiological Research*. 169. 483-495.
- Azizah dan Eryani. 2018. Isolation and Characterization of Endophyte Actinomycetes From Antituberculosis Medical Plants. *Prosiding Internasional, The 2nd*

- Internasional Concerence on Agromedicine and Tropical Disease*. Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Tanggal 20-21 Oktober 2018.
- Depkes Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Farmakope Indonesia*. Jakarta.
- De Smet J, Hendrix H, Blasdel BG, Danis-Wlodarczyk K, Lavigne R. 2017. *Pseudomonas predators: understanding and exploiting phage-host interactions*. *Nature Reviews. Microbiology*. 15. 9. 517–530.
- Dita, S., 2017 Kemampuan Aktinomiset Yang Berasosiasi Dengan Spons Dalam Mengendalikan Bakteri Patogen. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Minas, W., J. E. Bailey and W. Duet. 2001. *Streptomyces micro-cultures: Growth, production of secondary metabolites, and storage and retrieval in the 96-well format*. Kluwer Academic Publishers. Zurich.
- Narayana, K. R., Reddy, M. R., dan Chaluvadi, M. R., 2008, Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential, *Indian Journal of Pharmacology*.
- Rachmawati, I., 2015. Uji Antibakteri Bakteri Asam Laktat asal Asinan Sawi terhadap Bakteri Patogen. *Bioteknologi* 2. 2. 43-48.
- Radji M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikrob dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 .3. 113-126.
- Ratna Komala, S., Apriliana, P., Fahrurrozi, Lizdianti, P., Kusharyoto, W. 2016. Antibacterial activity of marine actinomycetes from Enggano Island. *Berita Biologi*.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk Penel Hayatai* 13. 85-90.
- Susilowati, D.N., Hidayatun, N., Tasliah, Mulya, K. 2010. Keragaman bakteri endofit diisolasi dari empat varietas padi dengan Metode ARDRA. *Berita Biologi*. 10. 241-248.