

UJI ANTI BAKTERI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIBIOTIKA YANG DIHASILKAN STREPTOMYCES Sp

I.A. Rivai Bakti, Budi Untari, Frida Oesman dan Emilia Fitriani
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRACTS

It has been isolated identified anti bacterium of antibiotic compounds produced by Streptomyces Sp. The isolation of Sterptomyces Sp was done from three kinds of soil on Soak area Km . 6, Palembang Municipality using Plating Technic Spread Method produced 4 Sptreptomyces isolate,. The test of the blocked capacity againts the whole isolates(4 isolates) with the bactery terstor showed that TLJ2 isolate from corn plant land has biggest activities. The isolates of antibiotics produced using fermentation method for TLJ2 isolates by using solvent extraction method and continued with HPLC produced 4 pure compounds. The test of the blocked capacity againts the 4 pure compounds, just STP1 which still antibacteria activities. Futhermore, the identification of STP1 using IR Spectrophotometer and UV showed tahat the results can be clasified into Alifaitic antibiotic consisting of unsaturated ketod alifatic function with the primer amine and hydroxy as a substiuent.

PENDAHULUAN.

1. Latar Belakang

Pola penyakit di Indonesia hingga saat ini masih didominasi oleh penyakit infeksi, terlihat dengan meningkatnya kunjungan pasien rawat inap penderita penyakit tractus respiratory bagian bawah dan atas dalam tiga tahun terakhir ini di beberapa rumah sakit di Indonesia. Sehingga pemakaian antibiotik masih sangat diperlukan dalam terapi.(Pranoto,1993:4) Antibiotik sintetik baru banyak yang digunakan sebagai alternatif pengganti yang sudah resistens masih

menimbulkan kekhawatiran akan efek samping yang ditimbulkan akibat bahan kimia yang dipakai pada waktu di produksi. (Lambert dan Grady,1992:136). Sebagian besar antibiotika alami dihasilkan oleh mikroba tanah.(Willem,1986:693). Sebagai media, tanah merupakan tempat hidup yang cocok bagi berbagai jenis mikroorganisma. Timbulnya persaingan antara mikroorganisma menyebabkan beberapa mikroorganisma tertentu menghasilkan metabolit yang diperlukan untuk mempertahankan dirinya dari mikroorganisma lain agar tetap hidup. Metabolit disebut antibiotika.Golongan terbesar mikroba tanah penghasil antibiotika adalah *Actinomycetes* terutama

genusnya Streptomyces. Tidak kurang dari 3.477 jenis antibiotika dihasilkan oleh *Streptomyces* hingga tahun 1984. (William dan Vickers, 1986:43).

2. Permasalahan.

Bahan baku antibiotika yang beredar di Indonesia masih diimpor dan dihasilkan oleh isolat *Streptomyces* yang berasal dari negara lain. Karakteristik alam Indonesia yang berbeda serta penyebaran pertumbuhan yang luas dari Streptomyces, memungkinkan untuk ditemukan Streptomyces penghasil antibiotika di daerah sekitar kota Palembang.

3. Tujuan Penelitian.

Penelitian ini bertujuan untuk uji bakteri, mengisolasi dari tanah didaerah Soak km.6 ,kotamadya Palembang.

4. Manfaat Penelitian.

Diharapkan antibiotika hasil dari penelitian ini dapat digunakan dalam terapi sebagai pengganti yang telah resistens.

TINJAUAN PUSTAKA

2.1.1. Streptomyces.

Streptomyces sp adalah mikroba yang tergolong salah satu genus dari

Actinomycetes. Umumnya non patogen dan bersifat gram negatif.

2.1.2. Taksonomi Streptomyces.

Secara taksonomi sistematika

Streptomyces sp adalah sebagai berikut:

| | |
|-----------------|---------------------------|
| <i>Divisi</i> | : <i>Bacteriophyta</i> |
| <i>Kelas</i> | : <i>Schizomycetes</i> |
| <i>Ordo</i> | : <i>Actinomycetales</i> |
| <i>Sub Ordo</i> | : <i>Actinomycetes</i> |
| <i>Family</i> | : <i>Streptomycetacea</i> |
| <i>Genus</i> | : <i>Streptomyces</i> . |

2.1.3. Morfologi Streptomyces

Sebagai salah satu genus dari Actinomycetes, morfologi *Streptomyces* digolongkan kedalam kelompok peralihan antara bakteri sederhana dan fungsi. Dikatakan bersifat bakteri karena bentuk uniseluler yang dimilikinya. Sedangkan adanya hifa dan filamen mencirikan fungsi. (Sykes dan Skinner, 1973:64)

2.1.4. Penyebaran dan Pertumbuhan

Streptomyces.

Streptomyces adalah mikroba tanah yang terdistribusi secara meluas diseluruh dunia, hidup ditanah mollisol yang kaya akan nutrisi organik terutama derivat protein, sisa-sisa daun atau pepohonan yang membusuk dan pupuk kandang. (Davies dkk, 1970:39).

2.1.5. Isolasi *Streptomyces* dari tanah

Sampel tanah yang digunakan untuk isolasi *Streptomyces* paling baik dikumpulkan dari tanah yang berada 4 cm dari permukaan tanah (Labeda, 1990:5).

2.2.1. Antibiotika.

Antibiotika didefinisikan sebagai substansi yang dihasilkan oleh mikroorganisma atau hasil isolasi dari tanaman tingkat tinggi, hewan atau senyawa semisintetis yang mempunyai daya kerja menghambat pertumbuhan bahkan membunuh mikroorganisma penyebab penyakit (1969:567). Mikroorganisma penghasil antibiotika terbagi menurut Tabel 1.

Tabel .1 Jumlah antibiotika yang dihasilkan Mikroorganisma.

| Golongan | Jenis antibiotika yang dihasilkan |
|---------------|-----------------------------------|
| Bakteri | 950 |
| Actinomycetes | 4.600 |
| Fungi | 1.600 |

Berdy, 1985

2.2.2. Biosintesis Antibiotika.

Berdasarkan asal biosintesisnya antibiotika dapat digolongkan atas (Umar, 1989:75-15): Antibiotika yang berasal dari asetat atau propionat. Antibiotik yang berasal dari asam amino, dan Antibiotik yang berasal dari karbohidrat.

2.2.3. Fermentasi Antibiotika.

Sebagai dihasilkan oleh mikroorganisma, antibiotika digolongkan kedalam golongan metabolit sekunder, adalah produk aktivitas biokimiawi yang tidak memainkan peranan langsung dalam kehidupan mikroorganisma.

2.2.4. Spektroskopi Infra Merah.

Tabel berikut ini menunjukkan daerah absorpsi karakteristik golongan antibiotika menurut Spektroskopi Infra Merah

Tabel.2 Daerah absorpsi karakteristik golongan antibiotika

| Golongan Antibiotika | Daerah Absorpsi |
|--|---|
| Antibiotika dengan struktur Karbohidrat. | Ulur OH berpusat pada 3300 cm Pita sangat lebar 3200-3400 cm Ulur C-O banyak pita pada 1100 cm |
| Antibiotika dengan struktur laktam makrosiklik | 1800-1700 cm pita-pita 1100-1300 cm |
| Antibiotika dengan struktur kuinon. | 1700-1600 cm |
| Antibiotika dengan struktur asam amino. | Tiga pita di 3200cm, 2600-2700 cm dan 2300-2400 cm, 1400 cm, 1200 cm. |
| Antibiotika dengan struktur senyawa aromatik. | Terlihat satu pita pada 3030 cm (untuk ulur C-H dua atau tiga pada daerah 1600cm (dan 1600 cm (untuk ulur C=C |

METODOLOGI.

3.1 Waktu dan Tempat.

Penelitian dilakukan selama enam bulan dilaksanakan di Lab. Kesehatan bagian Mikrobiologi, Lab. Biokimia Kimia FMIPA dan Lab. Kesehatan Komunitas Fakultas Kedokteran Unsri.

3.2. Metoda Pengambilan Sample

Sampel tanah sampah tempat pembuangan akhir (TPA), tanah ladang kacang tanah dan tanah ladang jagung. Tanah diambil dari kedalaman 4 cm dari permukaan tanah dan disimpan di dalam kantong plastik steril yang diberi kode :TLJ untuk tanah ladang jagung, TLK untuk tanah ladang kacang tanah dan TS untuk tanah sampah.

Selanjutnya dibuat:

- Media Starch casein Agar;
- Media Trypon – Yeast ekstrak;
- Media Cair Streptomyc;
- Media Mueller- Hinton Agar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi *Streptomyces* dari Tanah

Isolasi *Streptomyces* dari tiga jenis tanah Soak km 6 Palembang, empat jenis isolat :

Tabel 3. Isolat *Streptomyces*.

| Asal Tanah | Kode | Ciri warna Sporofor Koloni |
|---------------------|--------------|--|
| Tanah Ladang Jagung | TLJ1 TLJ2 | Koloni Putih, tidak berpigmen Koloni Putih coklat,pigmen coklat tua |
| Tanah Ladang Kacang | TLK | Koloni putih, tidak berpigmen |
| Tanah sampah | TS | Koloni abu-abu,tidak berpigmen |

Tabel 4. Data zona hambat streptomycetes terhadap bakteri uji

| Kode isolat | B subtilis (mm) | S.aureus (mm) | P.aeruginosa (mm) | E.coli (mm) |
|-------------|-----------------|---------------|-------------------|-------------|
| TLJ1 | 1 | 5 | 0 | 0 |
| TLJ2 | 30 | 28 | 22 | 25 |
| TLK | 6 | 8 | 0 | 2 |
| TS | 10 | 11 | 3 | 5 |

4.2.Fermentasi antibiotik dan Pemisahan Antibiotika, hasilnya sesuai tabel.

Tabel 5. Uji hasil ekstraksi pelarut dengan bakteri uji.

| Pelarut | B subtilis (mm) | S.aureus (mm) | P.aeruginosa (mm) | E.coli (mm) |
|-------------|-----------------|---------------|-------------------|-------------|
| n-kekssan | - | - | - | - |
| Kloroform | - | - | - | - |
| Etil asetat | - | - | - | - |
| Metanol | 18 | 13 | 6 | 7 |

Tabel 6. Data zona hambat pertumbuhan bakteri(mm) dari senyawa murni

| Kode senyawa | B subtilis (mm) | S.aureus(mm) | P.aeruginosa (mm) | E.coli (mm) |
|--------------|-----------------|---------------|-------------------|-------------|
| STP1 | 11 | 8 | 6 | 7 |
| STP2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| STP3 | 1 | 1 | 3 | 3 |
| STP4 | 3 | 3 | 3 | 3 |

4.4. Identifikasi Antibakteri.

Kromatogram lapis Tipis

Spektroskopi infra merah dan ultra lembayung

Analisis spektrofotometer IR untuk senyawa STP1, serapan terjadi pada bilangan gelombang (ν) 3554 cm^{-1} , 3200 cm^{-1} , 340 cm^{-1} , 3025 cm^{-1} , 1697 cm^{-1} , 1627 cm^{-1} , 1424 cm^{-1} , 1370 cm^{-1} , 1238 cm^{-1} , 1094 cm^{-1} , 845 cm^{-1} , 801 cm^{-1} , 762 cm^{-1} . Serapan pada (ν) 3554 cm^{-1} - 3200 cm^{-1} menunjukkan serapan untuk regang C=O untuk C-O-H. Serapan pada (ν) 3410 cm^{-1} dan 3347 cm^{-1} yang menunjukkan regang C-N untuk C-N-H. Serapan pada bilangan gelombang (ν) 3025 cm^{-1} dan 1627 cm^{-1} menunjukkan adanya regang C-H dan regang C=C terkonjugasi yang diperkuat oleh serapan pada daerah sidik jari yaitu pada bilangan gelombang 845 cm^{-1} ; 801 cm^{-1} , dan 762 cm^{-1} yang menunjukkan lentur C-H terkonjugasi diluar bidang. Serapan pada bilangan gelombang (ν) 1697 cm^{-1} menunjukkan

serapan khas regangan C=O pada keton yang dipengaruhi efek resonansi suatu amina primer (NH_2) diperkuat oleh adanya serapan di bilangan gelombang 1238 cm^{-1} yang menunjukkan keton alifatik. Serapan pada bilangan gelombang (ν) 1370 cm^{-1} menunjukkan lentur CV-H alifatik (silverstein, 1991 : 289 -315). Analisis spektrum tidak menunjukkan adanya pita-pita serapan pada bilangan gelombang 1200 cm^{-1} - 1100 cm^{-1} yang karakteristik untuk gugus OH dari karbohidrat yang merupakan gugus fungsional dari antibiotika golongan neomisin, paramomisin, dan tobramisin. Bercak merah keunguan yang dihasilkan kromatogram lapis tipis dengan pereaksi ninhidrin dimungkinkan karena adanya suatu amina primer (Voet,1994) Analisis spektrum UV tersebut merupakan serapan untuk ekstraksi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ dalam senyawa keton tak lingkar tak jenuh (C=C-C=O). (Creswell dkk,1982:50). Hasil analisis spektrum IR dan UV di atas menunjukkan bahwa senyawa STP1 adalah keton alifatik tak jenuh dengan substituen hidroksi dan amina primer.

KESIMPULAN DAN SARAN.

5.1. Kesimpulan.

Senyawa antibiotika yang dihasilkan dari isolat TLJ2 yang berasal dari tanah ladang jagung mempunyai aktivitas antibakteri keempat bakteri uji yang merupakan bakteri gram positif dan

bakteri gram negatif. Senyawa antibiotika tersebut bersifat ekstraseluler dan telarut dalam pelarut polar. Kromatogram hasil kromatografi lapis tipis dalam suasana basa menunjukkan bahwa senyawa antibiotika tersebut bersifat amfoter. Pengujian dengan bakteri uji terhadap empat senyawa murni hasil pemisahan dengan HPLC menunjukkan bahwa senyawa STPI adalah antibiotika alifatik yang mengandung gugus keton tak jenuh dengan amina primer dan hidroksi sebagai substituen.

5.2. Saran.

Perlu adanya penelitian taksonomi Streptomyces lebih lanjut untuk kepastian jenis Streptomyces yang digunakan dalam penelitian ini. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menentukan struktur kimia senyawa antibiotika ini dalam terapi melalui uji in vitro terhadap hewan uji.

KEPUSTAKAAN.

- Atlas, R.M . 1993. Handbook of Mikrobiological Media. Boca Raton Florida, USA.
- Berdy , J 1985. Screening , clasification and indentification of microbial products in dis Covery and isolation of microbial products. Ellis Harwood publisher , Chicester, 465-507.
- Calvin, M dan kunin, M. O., 1990 Rational use of antibiotic s., WHO drugs Impormation Vol.4:4-7.
- Carpenter, P.L., 1972 Microbiology. Ed III . Secondary Company .USA : 122-257.
- Corinthian, 1992. Studi tentang industri dan pemasaran farmasi di Indonesia. CIC, Jakarta.
- Cresswell, C.J., Ruguist, O dan Malcolm, M.C. 1982. Analisis spektrum senyawa Organic, Penerbit ITB ,Bandung :25-77.
- Crueger, W an Crueger, A , 1984. Biotechnology, textbook of industrial micrfobiologi Ed. II. Sinauer Associates Inc : 4 – 270.
- Davies, C.I, William, .T, Mayfield dan M.R. Khan., 1971. Soil Biology .Journal Bioche-Mistry. Vol. 3 : 36-42.
- , 1995 Farmakope Indonesia Ed.IV .Departemen Kesehatan RI :1002-1019.
- Herman, M.J.R. Sasanti dan Muktiningsih 1993. Peranan impor bahan baku beberapa jenis obat dalam produksi obat jadi di Indonesia Cermin Dunia farmasi Vol.17 : 5-6.

- Jawetz , E, Melnic,J.L, dan Adelberg,E.A,1986.Mikrobiologi untuk profesi kesehatan Ed. 16,E.G.C., Jakarta.
- Labeda,D.P , 1996. Isolation of Actinomycetes for biotechnological aplication.Mc Graw Hill Publishing Company : 1-15.
- Lambert, H.P dan Grady, O.F,1992 Antibiotics and Chemotherapy.Curchill Livingstone, London.
- Liesbetini,H dan Endang S, 1990 .Proses hilir bioindustri.PAU Bioteknologi IPB :186-205.
- Silverstein,R.M,Bassler,C dan Morrill , TC, 1991. Spectrometric Indentification of organic Compound.Ed.15. John Willey & Sons Inc.USA.91-142.
- Sykes,G dan Skinner ,F.A, 1973. Actinomycetales Characteristic and Pratical Importance Academic Press.Britain: 64-246.
- Voet, D , Yudith, 1994 . Biochemistry. Ed. II. John willey & Sonsd Inc . : 81-82F.
- William, S.T, Goodfellow,M,Alderson ,E dan Wellington,1983. Numerical Clasification Of Streptomyces and related genera. J Gen. Microbiology. Vol.129 : 1,743,813.