

**LAPORAN HASIL PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
TAHUN ANGGARAN 2012**

**AMPLIFIKASI GEN 16S rRNA *Streptomyces* sp ISOLAT TANAH
GUNUNG SEMERU DAN POTENSI ANTIBAKTERI TERHADAP
BAKTERI GRAM POSITIF DAN GRAM NEGATIF**



TUTIK JUNIASTUTI

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan
Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi
Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
2012**

RINGKASAN

AMPLIFIKASI GEN 16S rRNA *Streptomyces* sp ISOLAT TANAH GUNUNG SEMERU DAN POTENSI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI GRAM POSITIF DAN GRAM NEGATIF

Tutik Juniastuti, 2012. 30 hal.

Pengobatan penyakit karena infeksi kuman pada umumnya menggunakan obat antibiotika antara lain dari golongan Aminoglikosida misalnya Streptomisin (Katzung and Trevor's, 2005).

Seiring dengan meningkatnya jenis penyakit infeksi serta resistensi dan toksisitas dari antibiotika yang telah ada, maka pengembangan antibiotika masih berlangsung terus dengan pesat baik melalui pencarian dan penemuan antibiotika baru yang lebih poten maupun modifikasi struktur molekul antibiotika lama secara semi sintetis untuk mendapatkan antibiotika yang lebih berdaya guna (Jhoni, 1991).

Salah satu usaha penemuan antibiotika baru, adalah melakukan isolasi dan identifikasi mikroba tanah yang diduga mempunyai peran penting dalam bidang bioteknologi terutama mampu memproduksi beberapa bioaktif metabolit sekunder yaitu antibiotika. Salah satu mikroba tersebut adalah *Streptomyces* sp .

Sampai saat ini, banyak genom *Streptomyces* sp. sebagai sumber keaneka ragaman hayati belum diteliti, sehingga penelitian sekuen gen 16S rRNA *Streptomyces* sp. dari isolate tanah dataran tinggi perlu dilakukan.

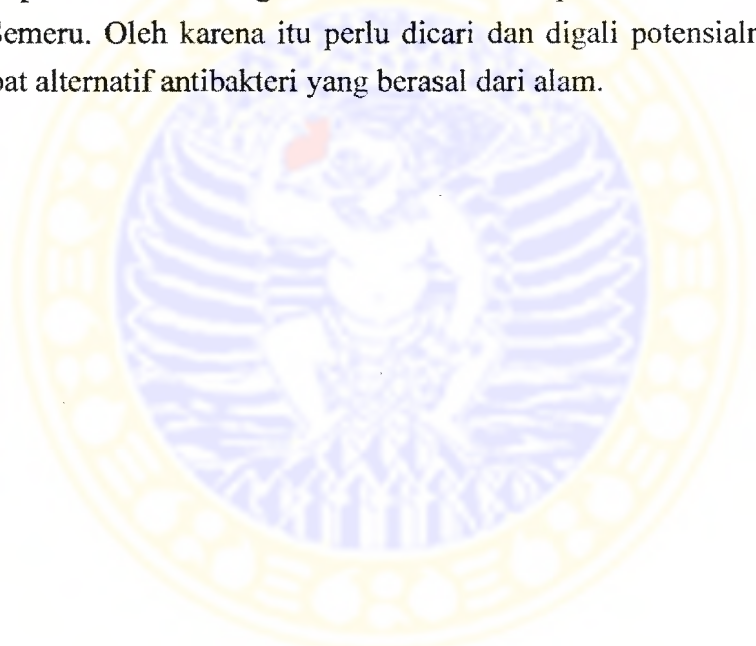
Berdasarkan peran penting *Streptomyces* sp yang nantinya dapat dikembangkan sebagai alternatif pengobatan infeksi, maka penelitian ini dilakukan untuk mencari isolat *Streptomyces* sp baru secara besar-besaran pada berbagai habitat, seperti tanah pegunungan di berbagai daerah Jawa Timur, dan diharapkan *Streptomyces* sp yang ditemukan pada lokasi tersebut adalah spesies yang survive di daerah tersebut.

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk menemukan *Streptomyces* sp jenis baru dari isolat tanah tanah Gunung Semeru yang survive, spesifik dan diharapkan mampu menghasilkan antibiotik.

Jenis penelitian adalah penelitian eksploratif dengan sampel penelitian berupa tanah yang berasal dari dataran tinggi di Jawa Timur yaitu wilayah Ranu Regulo dan Ranu Pane yang terletak di lereng Gunung Semeru dengan asumsi kedua daerah tersebut pernah dilalui lahar gunung berapi. Masing-masing lokasi diambil 5 titik daerah pengambilan sampel dan dicampur menjadi satu kemudian dimasukkan ke dalam botol steril.

Pada penelitian ini yang sudah berhasil diisolasi adalah *Streptomyces* yang berasal dari wilayah Gunung Semeru ada 5 spesies. Dari hasil pengamatan *Streptomyces* sp secara makroskopis, menunjukkan ciri-ciri : koloni kecil dengan diameter sekitar 2-3 mm, berwarna putih, berbulu halus, bentuk seperti kulit dan keras, spora di ujung miselia dan memberikan bau tanah. Dengan pengamatan secara mikroskopis, dengan pewarnaan Gram, isolat menunjukkan warna biru keunguan yang berarti *Streptomyces* sp merupakan bakteri Gram positif, selain itu pada pemeriksaan dengan mikroskop dengan pembesaran 1000x tampak bahwa *Streptomyces* sp mempunyai hifa ramping, miselium membentuk rantai dengan 3–5 spora dan menunjukkan aktiitasnya pada uji karbohidrat dengan menunjukkan warna kuning pada media gula-gula. Berdasarkan hasil optimasi PCR yang hanya menghasilkan satu pita yang menunjukkan panjang antara 1152-1252 bp. Untuk uji potensi antibakterial pada *S.aureus* dan *E. coli* yang menunjukkan hasil positif hanya dua spesies yaitu *Streptomyces* sm-5 dan *Streptomyces* sm-7.

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa masih ada *Streptomyces* sp yang survive dan spesifik untuk menghambat bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif dari lereng Gunung Semeru. Oleh karena itu perlu dicari dan digali potensialnya untuk menambah peta pencarian obat alternatif antibakteri yang berasal dari alam.



(Program Doktor, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Nomor Kontrak: 4074/H3.13/PPd/2012, tanggal 9 Maret 2012).

SUMMARY

AMPLIFICATION OF 16S rRNA GENES OF *Streptomyces* sp. ISOLATES LAND MOUNT SEMERU AND ANTIBACTERIAL POTENCY AGAINST GRAM POSITIVE AND GRAM NEGATIVE

Tutik Juniastuti,. 2012. 30 p.

Treatment of disease due to bacterial infection commonly use antibiotics among other groups such Aminoglycosides Streptomycin (Katzung and Trevor's, 2005).

Along with the increase of infectious diseases and antibiotic resistance and toxicity of existing ones, the development of antibiotics is perpetuated by rapidly both through search and discovery of new antibiotics are more potent and modification of the molecular structure of a semi-synthetic antibiotic long time to get a more efficient antibiotics (Jhoni, 1991).

One of the new antibiotic discovery efforts, is to do the isolation and identification of soil microbes that allegedly has an important role in the field of biotechnology, especially capable of producing several bioactive secondary metabolites, ie antibiotics. One of these microbes is *Streptomyces* sp.

Until now, many genomes of *Streptomyces* sp. as a source of biodiversity has not been studied, so research 16S rRNA gene sequence of *Streptomyces* sp. from upland soil isolates needs to be done.

Based on the important role of *Streptomyces* sp which will be developed as an alternative treatment of the infection, this study is conducted to find a new isolate of *Streptomyces* sp massively on a variety of habitats, such as mountain land in different regions of East Java, and is expected to *Streptomyces* sp were found in these locations is the species that survive in the area. Generally, this study aims to find a new kind of *Streptomyces* sp isolates lands survive Mount Semeru, specific and expected to produce antibiotics.

This type of research is exploratory study with a sample in the form of soil from upland areas in East Java and Ranu Ranu Pane Regulo located on the slopes of Mount Semeru assuming both regions have passed volcanic lava. Each site were taken 5 point sampling areas and mixed together then put in sterile bottles.

In this study that have been isolated from *Streptomyces* is Mount Semeru area there are 5 species. From the observation of *Streptomyces* sp macroscopic, shows characteristics: small colonies with a diameter of 2-3 mm, white, fluffy, forms such as leather and hard, at the end of the mycelia and spores provide soil odor. By microscopic observation, with Gram staining, isolates showed purplish blue color, which means *Streptomyces* sp is a Gram-positive bacteria. in addition to the examination with a microscope with 1000x magnification appears that *Streptomyces* sp has a slender hyphae, mycelium forming a chain with 3-5 spores and showed aktiitasnya on carbohydrate test by showing yellow on the media sugars. Based on the optimization of PCR results to a tape that shows between 1152-1252 bp long. To test the potential of the *S. aureus* and *E. antibakterial coli* which showed positive results only two species of the *Streptomyces* sm-5 and *Streptomyces* sm-7.

From these results it can be concluded that there *Streptomyces* sp specific survival and to inhibit Gram-positive and Gram-negative bacteria from the slopes of Mount Semeru. Therefore, it is necessary to find and explored the potential for adding map search alternative antibacterial drugs of natural origin.

(Doctoral Program, Faculty of Medicine, University of Airlangga, Contract Number: 4074/H3.13/PPd/2012, dated March 9, 2012).

ABSTRACT

AMPLIFICATION OF 16S rRNA GENES OF *Streptomyces* sp. ISOLATES LAND MOUNT SEMERU AND ANTIBACTERIAL POTENCY AGAINST GRAM POSITIVE AND GRAM NEGATIVE

Tutik Juniastruti *

Have been isolated from the antibiotic-producing *Streptomyces* sp area on the slopes of Mount Semeru. Land was taken from an altitude of 2000 meters to 2500 meters above sea level ever passed a lava flow from Mount Semeru. Then do the isolation of *Streptomyces* sp. Special media for growth of *Streptomyces* sp. is ISP-4. further observed macroscopically and microscopically.

From the observation of *Streptomyces* sp. macroscopic, showing characteristics: small colonies with a diameter of 2-3 mm, white, soft, hard skin and shapes, spores at the end of the earth and giving odor mycelia. By microscopic observation, with Gram staining, isolates showed purplish blue color, which means *Streptomyces* sp. is a Gram-positive bacteria, in addition to the examination with a microscope with a magnification of 1000X appears that *Streptomyces* sp. has a slender hyphae, the mycelium forms a chain with spores and 3-5 exhibit carbohydrate aktiitasnya test by showing yellow on sugar media. Based on the optimization of PCR that only produce one tape showing a length of about 1350 bp. To test the antibacterial activity of *S. aureus* and *E. coli*, which showed positive results only two species of the *Streptomyces* sm-5 and *Streptomyces* sm-7.

From these results it can be concluded that there is a *Streptomyces* sp specific survival and inhibit Gram-positive and Gram-negative bacteria from the slopes of Mount Semeru. Therefore, the need to discover and explore the potential for adding map search alternative to antibacterial drugs of natural origin.

Key words: *Streptomyces* sp., 16S rRNA, soil from Mount Semeru, Gram-positive and Gram-negative bacteria

*. Ex Lab. Pharmacology, Department of Basic Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University

ABSTRAK

Tutik Juniastuti *

Telah dilakukan isolasi *Streptomyces* sp penghasil antibiotik dari tanah dataran tinggi di Jawa Timur yang berasal dari lereng Gunung Semeru. Tanah diambil dari ketinggian 2000 meter hingga 2500 meter di atas permukaan laut yang pernah dilalui aliran lava Gunung Semeru. Isolasi *Streptomyces* sp. dilakukan pada media pertumbuhan khusus dalam yaitu ISP-4. Kemudian dilakukan oleh pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

Dalam penelitian ini telah berhasil mengisolasi *Streptomyces* sp. berasal dari kawasan Gunung Semeru. Dari pengamatan *Streptomyces* sp. yang makroskopik, menunjukkan karakteristik: koloni kecil dengan diameter 2-3 mm, putih, lembut, seperti kulit dan bentuk keras. spora di akhir dan memberikan bau miselia bumi. Dengan pengamatan mikroskopis, dengan pewarnaan Gram, isolat menunjukkan warna biru keunguan, yang berarti *Streptomyces* sp. adalah bakteri Gram-positif, di samping pemeriksaan dengan mikroskop dengan perbesaran 1000x tampak bahwa *Streptomyces* sp. memiliki hifa ramping, bentuk miselium dengan rantai 3-5 spora dan pada uji karbohidrat menunjukkan aktiitasnya dengan warna kuning pada media gula. Berdasarkan hasil optimasi PCR yang hanya memproduksi satu rekaman yang menunjukkan panjang sekitar 1152-1252 bp. Untuk menguji potensi antibakteri pada *S. aureus* dan *E. coli* yang menunjukkan hasil positif hanya ada dua spesies yaitu *Streptomyces* sm-5 dan *Streptomyces* sm-7.

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa masih ada *Streptomyces* sp yang survive dan spesifik untuk menghambat bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif dari lereng Gunung Semeru. Oleh karena itu perlu dicari dan digali potensialnya untuk menambah peta pencarian obat alternatif antibakteri yang berasal dari alam.

Kata kunci: *Streptomyces* sp, gen 16S rRNA, tanah dari Gunung Semeru, bakteri Gram positif dan Gram negatif

* Ex Lab. Farmakologi, Departemen Kedokteran Dasar Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga