

POTENSI STREPTOMYCES SPP.
ISOLAT TANAH RUMAH
KOMPOS - . BRATANG
SURABAYA SEBAGAI ANTI
TUBERKULOSIS SECARA IN
VITRO MENGGUNAKAN
METODE TURBIDIMETRI

by Rochmah Kurnijasanti

Submission date: 21-Mar-2022 03:38PM (UTC+0800)

Submission ID: 1789064527

File name: Bukti_C_33_Potensi_Streptomyces_Spp....-min.pdf (472.88K)

Word count: 2266

Character count: 14099

POTENSI *STREPTOMYCES* SPP. ISOLAT TANAH RUMAH KOMPOS BRATANG SURABAYA SEBAGAI ANTI TUBERKULOSIS SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE TURBIDIMETRI

Rochmah Kurnijasanti

Departemen Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR, Jl. Mulyorejo kampus "C" UNAIR, Surabaya 60115

ABSTRACT

The aim of this study was to determine *Streptomyces* spp. with anti tuberculosis activity from compost soil in Bratang area, Surabaya, Indonesia by turbidimetri method. In this research, we tried to study the ability of the production of anti tuberculosis agents by *Streptomyces* species from compost soil in Bratang area, Surabaya, Indonesia. Test of antibacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* was done by fermentation of *Streptomyces* spp. to produce secondary metabolites such as antibiotics. Results of this study showed that *Streptomyces* spp. isolated from compost soil in Bratang area, Surabaya, Indonesia showed that they had an activity against *M. tuberculosis* with varied potential activities.

Key words: *Streptomyces* spp., anti tuberculosis, turbidimetri

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi kronis menular yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di dunia termasuk Indonesia (Global epidemik). Indonesia saat ini berada pada urutan kelima dari negara dengan beban TB tertinggi di dunia. Saat ini peningkatan kasus TB sejalan dengan peningkatan resistensi *M. tuberculosis* terhadap antibiotik. Tuberkulosis juga merupakan salah satu penyakit zoonosis. Hewan yang peka terhadap TB antara lain sapi, babi dan unggas. Manusia dapat menularkan penyakit TB ke hewan. Di samping itu, hewan juga dapat bertindak sebagai penular penyakit TB ke manusia, terutama satwa primata. *Mycobacterium* sp. yang berperan pada penularan dari sapi ke manusia adalah *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* dan penularan ini sering terjadi pada peternakan sapi (Soeharsono, 2005). *Mycobacterium bovis* merupakan bakteri aerob penyebab TB sapi, berperan sebagai *spesies barrier* penyebab TB pada manusia. Di Selandia Baru, dilakukan program pengendalian TB sapi untuk mengurangi transmisinya ke manusia, sehingga pada tahun 1994 kasus TB sapi menurun sebesar 87,5% (Kean *et al.*, 1999). Penggunaan obat anti-TB baru merupakan salah satu alternatif. Ketergantungan industri farmasi nasional terhadap bahan baku impor termasuk bahan baku antibiotik hingga saat ini sangat mengkhawatirkan, hingga lebih dari 90% bahan baku diimpor dari negara lain. Banyak penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan bahan bioaktif sebagai anti tuberkulosis baik dari herbal maupun mikroba penghasil antibiotik, termasuk *Streptomyces* sp. *Streptomyces* sp. dapat menghasilkan lebih dari 3000 antibiotik, sedangkan satu spesies *Streptomyces* sp. dapat menghasilkan lebih dari 2-3 antibiotik yang diperoleh secara alami. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris eksploratif dengan tujuan mendapatkan aktivitas anti tuberkulosis dengan bakteri uji *Mycobacterium tuberculosis* dari *Streptomyces* spp isolat tanah Rumah Kompos Bratang Surabaya (RKBS). Uji aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yang dilakukan meliputi beberapa tahap penelitian sebagai berikut: 1) Fermentasi *Streptomyces* spp untuk mendapatkan metabolit sekunder khususnya antibiotika *Streptomyces* spp, 2) Uji aktivitas metabolit hasil fermentasi terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode turbidimetri pada media cair.

METODE

Variabel Penelitian yaitu variabel bebas *Streptomyces* spp., isolat tanah Rumah Kompos Bratang Surabaya, variabel tergantung yaitu aktivitas *Streptomyces* sp. Isolate tanah RKBS

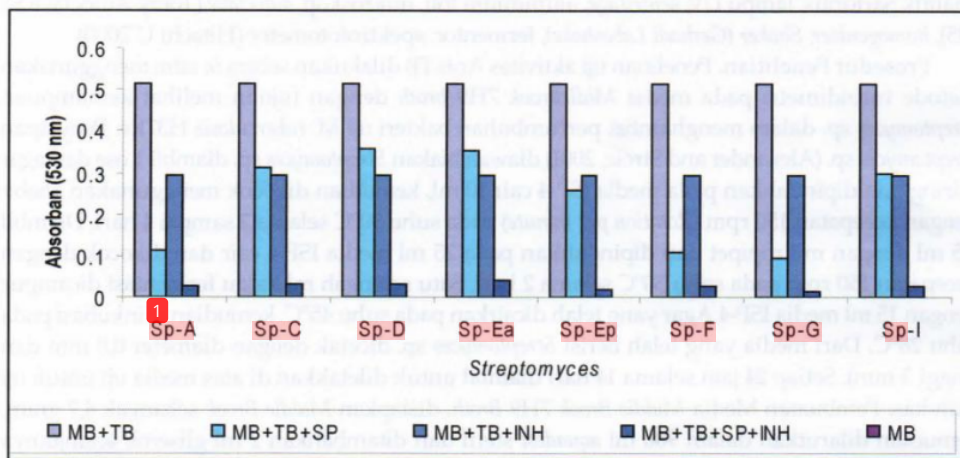
terhadap *M. Tuberculosis* H37Rv. Tempat Penelitian, (1) Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, (2) Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bakteri yang digunakan sebagai bakteri uji dalam penelitian ini adalah isolat murni bakteri *M. tuberculosis* H37Rv yang diperoleh dari Laboratorium Balai Besar Latihan Kerja Surabaya. Bakteri yang digunakan sebagai penghasil antibakteri dalam penelitian ini adalah *Streptomyces* spp. isolat tanah RKBS. Hasil isolasi *Streptomyces* dari tanah Rumah Kompos Bratang Surabaya didapat delapan isolat yaitu isolat *Streptomyces* Sp-A, Sp-C, Sp-D, Sp-Ea, Sp-Ep, Sp-F, Sp-G dan Sp-I (Yulistyani dkk., 2010). Media biakan yaitu ISP-4 agar (BD Difco), *Middle brook* broth (7H9) (BD Difco), *Middle brook* agar (7H11) (BD Difco), media LJ, gliserol, alkohol, minyak emersi, *aquadest* steril, *carbol fuchsin*, *metylene blue*. Peralatan penelitian berupa *Petridish*, tabung reaksi, mikropipet, tabung *Eppendorf*, inkubator, gelas objek, erlenmeyer, gelas beker, ose, gelas bead 3 mm, falcon 15 ml, *Gloves disposable*, *Milipore membrane* 20, pembakar bunsen, ose, vortex, *parafilm*, timbangan analitik Sartorius, lampu UV, *sentrifuge*, aluminium foil, mikroskop, *autoclave* (Tomy-Autoclave SS 325), *homogenizer*, *Shaker* (*Gerhardt Laboshake*), fermentor, spektrofotometer (Hitachi U 2000).

Prosedur Penelitian. Penelitian uji aktivitas Anti-TB dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode turbidimetri pada media *Middlebrook* 7H9 broth dengan tujuan melihat kemampuan *Streptomyces* sp. dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *M. tuberculosis* H37Rv. Penyiapan *Streptomyces* sp. (Alexander and Strete, 2001) diawali biakan *Streptomyces* sp. diambil 1 ose dari agar miring dan dipindahkan pada media ISP-4 cair 10 ml, kemudian dikocok menggunakan *Shaker* dengan kecepatan 150 rpm (*Rotation per minute*) pada suhu 30°C selama 2 sampai 4 hari. Diambil 2,5 ml dengan mikropipet dan dipindahkan pada 25 ml media ISP-4 cair dan dikocok dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 30°C selama 2 hari. Satu setengah ml kaldu fermentasi dicampur dengan 15 ml media ISP-4 Agar yang telah dicairkan pada suhu 45°C, kemudian diinkubasi pada suhu 28°C. Dari media yang telah berisi *Streptomyces* sp. dicetak dengan diameter 0,8 mm dan tinggi 3 mm). Setiap 24 jam selama 14 hari diambil untuk diletakkan di atas media uji untuk uji aktivitas. Pembuatan Media *Middle Brook* 7H9 Broth. disiapkan *Middle Brook* sebanyak 4,7 gram, kemudian dilarutkan dalam 900 ml *aquadest* steril dan ditambahkan 2 ml gliserol, selanjutnya disterilkan dengan *autoclave* suhu 121°C selama 10 menit. Media didiamkan hingga suhu mencapai 50°C (Tenover, 1993). Penyiapan Inokulum Bakteri Uji. Koloni *M. tuberculosis* H37Rv diambil 1-2 ose pada media *Lowenstein Jensen* Agar miring, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml media *Middle Brook* 7H9 broth yang didalamnya terdapat 8-10 buah *glass beads* (berfungsi untuk memudahkan terlarutnya *M. tuberculosis* dalam media *Middle Brook* 7H9 broth) selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Biakan *M. tuberculosis* H37Rv yang terlarut dalam media *Middle Brook* 7H9 broth, diambil 0,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 4,5 ml media *Middle Brook* 7H9 broth. Selanjutnya diencerkan hingga mencapai OD 0,2 pada $\lambda = 530$ nm (bakteri uji setara dengan 10^6 sel/ml) (Isenberg 1992; Anonim 2010). Uji aktivitas anti-TB dengan Metode Turbidimetri. Uji aktivitas anti-TB dengan metode turbidimetri merupakan uji aktivitas anti-TB pada media *Middle Brook* 7H9 Broth dan hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* H37Rv diukur berdasarkan nilai absorbansi. Inokulum bakteri uji *M. tuberculosis* H37Rv yang telah disiapkan digunakan untuk uji aktivitas anti-TB. Selanjutnya disiapkan lima tabung falcon. Tabung I diisi 9,7 ml media *Middle Brook* 7H9 Broth ditambah 0,3 ml suspensi koloni *M. tuberculosis* H37Rv (OD = 0,2 pada $\lambda = 530$ nm) sebagai konsentrasi awal jumlah koloni, tabung II diisi 9,4 ml media *Middle Brook* 7H9 Broth ditambah 0,3 ml suspensi koloni *M. tuberculosis* H37Rv ditambah 0,3 ml supernatan hasil fermentasi *Streptomyces* sp., tabung III diisi 9,4 ml media *Middle Brook* 7H9 Broth ditambah 0,3 ml suspensi koloni *M. tuberculosis* H37Rv ditambah 0,3 ml larutan INH 0,2 ppm, tabung IV diisi 9,1 ml media *Middle Brook* 7H9 Broth ditambah 0,3 ml larutan INH 0,2 ppm ditambah 0,3 ml supernatan hasil fermentasi ditambah 0,3 ml suspensi koloni *M. tuberculosis* H37Rv dan tabung V diisi 10 ml media *Middle Brook* 7H9 Broth sebagai blanko. Lima perlakuan

1 pada masing-masing tabung falcon dilakukan pada masing-masing hasil fermentasi *Streptomyces* Sp-A, Sp-C, Sp-D, Sp-Ea, Sp-Ep, Sp-F, Sp-G dan Sp-I dengan ulangan sebanyak lima.

DISKUSI

Uji aktivitas anti-TB dilakukan dengan menggunakan metode turbidimetri pada media cair yaitu media *Middle Brook broth* (7H9). Hasil uji aktivitas anti-TB menggunakan metode turbidimetri ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil uji aktivitas anti-*M. tuberculosis* H37Rv menggunakan metode turbidimetri menunjukkan bahwa perlakuan MB+TB+SP (*M. tuberculosis* H37Rv yang telah ditumbuhkan pada media 7H9 dan ditambahkan supernatan hasil fermentasi *Streptomyces*) pada *Streptomyces* Sp-A, Sp-C, Sp-D, Sp-Ea, Sp-Ep, Sp-F, Sp-G dan Sp-I menunjukkan bahwa absorbannya lebih kecil dari absorbansi kontrol yaitu MB+TB (Gambar 1).



Gambar 1. Rata-rata absorbansi dari hasil uji aktivitas anti-*M. tuberculosis* H37Rv menggunakan metode turbidimetri; MB=Media 7H9; TB=*M. tuberculosis*; SP=*Streptomyces*, INH=Isoniazid

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* H37Rv yang disebabkan aktivitas dari *Streptomyces* Sp-A, Sp-C, Sp-D, Sp-Ea, Sp-Ep, Sp-F, Sp-G dan Sp-I dengan potensi yang bervariasi. Aktivitas terbesar (absorbansi terkecil) pada *Streptomyces* Sp-G. Pada perlakuan MB+TB+SP dari *Streptomyces* Sp-A, Sp-Ep, Sp-F dan Sp-G menunjukkan bahwa absorbannya lebih kecil dibandingkan absorbansi pada perlakuan MB+TB+INH. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas hambatan *Streptomyces* Sp-A, Sp-Ep, Sp-F dan Sp-G lebih besar dibandingkan aktivitas hambatan INH. Pada uji aktivitas anti-TB digunakan obat standar isoniazid (INH) sebagai salah satu obat pilihan tuberkulosis (Elzinga *et al.*, 2004). Obat standar digunakan untuk mengetahui apakah *M. tuberculosis* H37Rv yang digunakan dapat menunjukkan respons terhadap antibiotik tersebut, sehingga layak digunakan sebagai bakteri uji. Aktivitas anti-TB pada media *Middle Brook Broth* (7H9) menggunakan metode turbidimetri menunjukkan bahwa semua isolat, yaitu isolat *Streptomyces* Sp-A, Sp-C, Sp-D, Sp-Ea, Sp-Ep, Sp-F, Sp-G dan Sp-I mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* H37Rv, akan tetapi setiap isolat memiliki aktivitas yang berbeda-beda terhadap *M. tuberculosis* H37Rv, yang berarti bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan delapan isolat *Streptomyces* spp. tersebut memiliki kekuatan yang berbeda terhadap *M. tuberculosis* H37Rv. Hasil penelitian ini dikuatkan oleh penelitian Denhad *et al.*, (2010), mengisolasi tanah dari beberapa daerah di Iran menghasilkan dari *Streptomyces* dengan aktivitas antimikroba yang

berbeda dengan produksi antibiotik yang berbeda. Hambatan pertumbuhan terhadap *M. tuberculosis* H37Rv tertinggi ditunjukkan oleh isolat *Streptomyces* Sp-G. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (Yulistiani, 2010) yang menunjukkan aktivitas antimikroba terbesar ditunjukkan oleh isolat *Streptomyces* Sp-G. *Streptomyces* Sp-G telah berhasil dianalisis secara kualitatif kandungan senyawa aktif antimikroba menggunakan bioautografi dan menghasilkan satu komponen aktif. Uji aktivitas anti-TB pada media cair (*Middle brook broth/ 7H9*) dengan metode turbidimetri dari *supernatan fermentation broth Streptomyces* spp. isolat tanah RKBS menunjukkan bahwa aktivitas hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* H37Rv disebabkan oleh metabolit sekunder sebagai senyawa bioaktif dari *Streptomyces* spp. isolat tanah RKBS. Hasil uji aktivitas *supernatan fermentation broth Streptomyces* spp. isolat tanah RKBS dengan metode turbidimetri menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dari *Streptomyces* spp. isolat tanah RKBS mampu menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* H37Rv. Hasil ini sesuai dengan pendapat Quinn *et al.*, (2002) menyatakan bahwa *Streptomyces* sp. dapat mengelaborasi berbagai substansi antimikroba dengan berbagai aktivitas pengobatan. Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa *Streptomyces* sp. mempunyai kemampuan menghasilkan metabolit yang mempunyai aktivitas cukup luas, salah satunya sebagai antibiotik. (Champness, 2000; Barakate *et al.*, 2002; Xiao *et al.*; 2002; Iznaga *et al.*, 2002; Borodina *et al.*, 2005). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Streptomyces* sp. mampu menghasilkan metabolit atau antibiotik yang mempunyai aktivitas anti-TB. Abouwarda and El-Wafa (2011) membuktikan bahwa *Streptomyces* sp. isolat Egypt mempunyai aktivitas sebagai antimikrobakteri dan diidentifikasi sebagai *Streptomyces nigrifaciens*. Leferve *et al.*, 2004 telah berhasil mengisolasi pamamycin, diidentifikasi sebagai antibiotik golongan macrolida. Pamamycin berhasil diisolasi dari *Streptomyces alboniger*. Sampai saat ini beberapa antibiotik yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp. masih menjadi obat pilihan untuk anti-TB. Antibiotik streptomisin dihasilkan *Streptomyces griseus*, erythromycin dari *S. Erythreus* dan rifamycin dari *S. mediterranei*. (Watve *et al.*, 2001).

12 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa (1) *Streptomyces* spp. isolat tanah Rumah Kompos Bratang Surabaya menunjukkan aktivitas sebagai anti tuberkulosis dengan potensi yang variatif dan potensi terbesar ditunjukkan oleh *Streptomyces* Sp-G.

DAFTAR PUSTAKA

- Abouwarda A and A. El-Wafa WM, 2011. Production of Anti-Mycobacterial Agents by Egyptian *Streptomyces* Isolates. *Internatl J Microbiol Res.* 2 (1): 69–73.
- Alexander SK and Strete D, 2001. *Microbiology: A Photographic Atlas for the Laboratory*. USA: Addison Wesley Longman. Inc.
- Barakate M, Ouhdouch Y, Oufdou K and Beaulieu C, 2002. Characterization of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17: 49–54.
- Borodina I, Preben K and Jens N, 2005. Genome-Scale Analysis of *Streptomyces coelicolor* A₃ A₃ (2) Metabolism. *Gen Res.* 15: 821. London.
- Champness W, 2000. Actinomycete development, antibiotic production and phylogeny: Questions and Challenges. In: Brun Y.V. and L.J. Skimkets (ed.). *Prokaryotic Development*. The American Society for Microbiology. Washington D.C. 11–31.
- Dehnad AR, Yeganeh LP, Bakhshi R, Mokhtarzadeh A, Soofiani S, Monadi AR, Gasanova S and Abusov R, 2010. Investigation antibacterial activity of Streptomycetes isolates from soil samples, West of Iran. *Afr J Microbiol Res.* 4 (16): 1685–1693.

- Elzinga G, Raviglione MC and Maher D, 2004. Scale up: meeting targets in global tuberculosis control. *Lancet* 363 (9411): 814–819.
- Isenberg HD, 1992. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. USA: American Society for Microbiology.
- Iznaga Y, Lemus M, Gonzalez L, Garmendia L, Nadal L and Vallin C, 2004. Antifungal activity of actinomycetes from Cuban soils. *Phytother. Res.* 18: 494–496.
- Kean JM, Barlow ND and Hickling GJ, 1999. Evaluating potential sources of bovine tuberculosis infection in a New Zealand cattle herd New Zealand. *J. Agric Res.* 42 (1).
- Lefevre P, Peirs P, Braibant M, Dufaux MF, Vanhoof R, Huygen K, Wang XM, Pogell B, Wang Y, Fischer P, Metz P and Content J. 2004. Antimycobacterial Activity of Synthetic Pamamycins. *J A.Microbial Chemo.* 54: 824–827.
- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ and Leonard FC, 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. UK: Blackwell Science Ltd. 63.
- Soeharsono, 2005. *Zoonosis Penyakit Menular Dari Hewan Ke Manusia*. Vol.2. Yogyakarta: Kanisius. 30–31.
- Tenover FC, 1993. The Resurgence of Tuberculosis: Is Your Laboratory Ready? *J.Clin.Microbiol.* 31: 767–770.
- Watve MG, Tickoo R, Jog MM and Bhole BD, 2001. How Many antibiotics Are Produced by the Genus *Streptomyces*?. *Arch. Microbiol.*
- Xiao K, Kinkel LL and Samac DA, 2002. Biological control of Phytophthoraroot rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biol Cont.* 23: 285–295.
- Yulistiyani I, Olivia CTN, Setyani DS dan Septyanto, TD, 2010. Pemberdayaan Tanah Rumah Kompos Bratang Surabaya sebagai Sumber *Streptomyces* Sp. Penghasil Antibiotik. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.

POTENSI STREPTOMYCES SPP. ISOLAT TANAH RUMAH KOMPOS - . BRATANG SURABAYA SEBAGAI ANTI TUBERKULOSIS SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE TURBIDIMETRI

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

16%

INTERNET SOURCES

6%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	e-journal.unair.ac.id Internet Source	7%
2	www.bppt.go.id Internet Source	1%
3	www.mitrariset.com Internet Source	1%
4	docobook.com Internet Source	1%
5	repository.uksw.edu Internet Source	1%
6	text-id.123dok.com Internet Source	1%
7	www.internationalscholarsjournals.com Internet Source	1%
8	belajar-ituindah-untukhidup.blogspot.com Internet Source	1%

9	etd.repository.ugm.ac.id Internet Source	1 %
10	oatao.univ-toulouse.fr Internet Source	1 %
11	core.ac.uk Internet Source	<1 %
12	jurnal.untan.ac.id Internet Source	<1 %
13	www.vet-indo.com Internet Source	<1 %
14	idoc.pub Internet Source	<1 %
15	Rina Puspita Sari. "Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Penyakit TB Paru di Wilayah Kerja Puskesmas Walantaka", Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat, 2018 Publication	<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

POTENSI STREPTOMYCES SPP. ISOLAT TANAH RUMAH KOMPOS - . BRATANG SURABAYA SEBAGAI ANTI TUBERKULOSIS SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE TURBIDIMETRI

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5
