

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) terutama pada negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi, 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Bakteri yang dapat menyebabkan terjadi infeksi contohnya *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat dalam usus dan dapat menyebabkan penyakit serta bersifat patogen (Pratiwi, 2008). Penyakit infeksi yang disebabkan karena *Escherichia coli* seperti infeksi sistem saluran kencing dan diare. Tanda dan gejala infeksi saluran kencing meliputi frekuensi kencing, disuria, hematuria dan piuria (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri lainnya yang menyebabkan penyakit infeksi adalah *Bacillus subtilis*, jumlahnya yang banyak di dalam usus mampu menyebabkan diare yang ditularkan melalui kontaminasi makanan (Rahmaningsih *et al.*, 2012).

Timbulnya berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri mendorong untuk terus dilakukannya penelitian baru yang mampu menghasilkan antibiotik baru serta memiliki efikasi yang optimal untuk mengobati penyakit infeksi. Salah satu mikroorganisme penghasil antibiotik adalah Actinomycetes. Actinomycetes merupakan salah satu bakteri yang mirip jamur dan tergolong dalam bakteri Gram positif (Waluyo, 2009). Actinomycetes banyak menghasilkan senyawa bioaktif yang kemungkinan besar dapat menghasilkan senyawa-senyawa antibiotik untuk mengobati gejala infeksi (Manjula *et al.*, 2009).

Salah satu anggota dari Actinomycetes yaitu *Streptomyces* mampu menghasilkan 80% antibiotik (Kumar *et al.*, 2010). Dari 22. 500 senyawa aktif yang diperoleh dari mikroba, Actinomycetes memproduksi 45% senyawa antimikroba, 38% senyawa berasal dari fungi dan 17% dari bakteri uniseluler

(Rahman *et al.*, 2011). Actinomycetes merupakan mikroorganisme alam yang banyak terdapat di tanah (Kumar *et al.*, 2010) dan juga paling banyak ditemukan di rizosfer, hal ini disebabkan karena rizosfer mampu mengeluarkan eksudat – eksudat yang berguna sebagai sumber energi bagi kehidupan mikroorganisme yang ada di sekitar perakaran (Rao, 1994). Actinomycetes yang diperoleh dari tanah telah dikenal mampu memproduksi metabolit sekunder (Sharma *et al.*, 2011) dan saat ini banyak produk dari Actinomycetes yang digunakan sebagai antibiotik seperti antibiotik golongan aminoglikosida, β -laktam, makrolida, polien, dan tetrasiklin (Jeffrey, 2008).

Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi Actinomycetes dari tanah (Oskay *et al.*, 2004; Ceylan *et al.*, 2008 & Arifuzzaman *et al.*, 2010). Oskay *et al.* (2004) menemukan sebanyak 50 strain Actinomycetes yang diambil dari sampel tanah pertanian dari Manisa Provinsi Turki. Dari 10 sampel tanah pertanian diperoleh sekitar 17 isolat yang mampu menghasilkan antibiotik. Terdapat pula penelitian yang lain, yang berhasil mengisolasi Actinomycetes dari bagian rizosfer tanaman budidaya maupun tanaman liar (Ambarwati, 2007; Ambarwati *et al.*, 2010 & Ambarwati *et al.*, 2012). Ambarwati *et al.* (2010) meneliti *Streptomyces* dari rizosfer jagung. Sebanyak 58 isolat dengan perincian 23 isolat yang diperoleh dari rizosfer jagung dan sisanya non rizosfer jagung diperoleh 35 isolat, yang memiliki potensi sebagai penghasil antibiotik dan hanya 10 isolat yang bekerja dengan menghambat bakteri Gram positif yaitu *Bacillus subtilis* dan 1 isolat yang menghambat *Staphylococcus aureus* namun tidak ada yang menghambat bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*.

Melihat kemampuan isolat strain Actinomycetes yang telah diteliti dari tanah pertanian dan tanaman budidaya yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik, maka diperlukan eksplorasi galur–galur mikroba baru yang mampu menghasilkan antibiotik baru. Tanaman budidaya yang lain yaitu padi. Hal ini dikarenakan di Indonesia padi merupakan suatu kebutuhan pokok manusia untuk kelangsungan hidup dan diketahui bahwa rizosfer merupakan habitat Actinomycetes dan kemungkinan di rizosfer padi ditemukan Actinomycetes yang

berpotensi sebagai penghasil antibakteri yang aktif terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu :

1. Berapakah jumlah isolat Actinomycetes yang terdapat dalam rizosfer padi (*Oryza sativa* L.) ?
2. Apakah isolat Actinomycetes yang ditemukan berpotensi sebagai penghasil antibiotik terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui jumlah isolat Actinomycetes pada rizosfer padi (*Oryza sativa* L.).
2. Mengetahui potensi isolat Actinomycetes yang ditemukan pada rizosfer padi sebagai penghasil antibiotik terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

D. Tinjauan Pustaka

1. Actinomycetes

Actinomycetes adalah kuman filamentous mirip jamur yang tumbuh bercabang-cabang namun sering putus-putus, sehingga menyerupai bakteri yang bersifat Gram positif (Sudarto, 2007) dan berukuran besar. Actinomycetes memiliki substrat atau filamen aerial (atau keduanya) dan salah satunya dapat menghasilkan spora atau fragmen menjadi bentuk kokobasiler (Jawetz *et al.*, 2005).

Actinomycetes merupakan salah satu prokariot yang mirip fungi. Ada dua hal penting yang membedakan antara fungi dan prokariot (bakteri) yaitu: 1). Actinomycetes tidak mempunyai nukleus, sehingga dimasukkan ke dalam prokariot, 2). Bentuk hifa Actinomycetes dengan diameter 0,5 – 1,0 μm , sehingga lebih kecil dari hifa jamur (3-8 μm) (Waluyo, 2009). Salah satu anggota Actinomycetes terutama genus *Streptomyces* memiliki rantai spora pada hifa

aerial dan memiliki miselium yang lengkap. Kelimpahan miselium yang tinggi dan rantai sporanya panjang. Spora tersusun dalam bentuk kumparan yang menggulung atau berpilin. Ada juga yang berbentuk untaian panjang melengkung. Rantai spora *Streptomyces* sangat jelas terlihat pada pengamatan mikroskopik, karena memiliki bentuk yang khas. Hifa vegetatif memproduksi miselium bercabang sangat banyak dan jarang yang berfragmen dengan diameter 0,5–2 μm serta memiliki spora nonmotil (Nurkanto, 2007).

Actinomycetes kebanyakan ditemukan pada substrat alam seperti tanah, air, dan kolonisasi tanaman (Rahman *et al.*, 2011). Sejumlah besar Actinomycetes yang telah terisolasi dan disaring dari tanah mampu menghasilkan 70-80% metabolit sekunder (Khanna *et al.*, 2011). Actinomycetes dapat juga ditemukan di berbagai lingkungan ekologi, seperti air laut (Patil *et al.*, 2010), rizosfer rumput teki (*purple nut sedge*) (Ambarwati *et al.*, 2012).

2. Rizosfer

Suatu bagian dimana terjadi pertemuan antara akar tanaman dan tanah disebut rizosfer. Populasi mikroorganisme di bagian ini jauh lebih tinggi di bandingkan dengan bagian tanah yang lainnya. Bakteri mendominasi daerah rizosfer. Pertumbuhannya diaktifasi oleh bahan nutrisi yang dilepaskan jaringan tanaman, misalnya asam amino, vitamin, zat hara lainnya. Bakteri yang memerlukan asam amino jauh lebih tinggi jumlahnya di bagian rizosfer ini (Budiyanto, 2002). Hal ini disebabkan tanaman mempunyai kemampuan mengeluarkan eksudat yang berguna sebagai sumber energi bagi kehidupan mikroorganisme yang ada di sekitar perakaran (Rao, 1994)

Mikroorganisme yang menghuni tanah dapat dikelompokkan menjadi bakteri, Actinomycetes, jamur, alga, dan protozoa. Populasi mikroorganisme dalam tanah pertanian yang subur dapat diperkirakan: bakteri (2.500.000.000), Actinomycetes (700.000), fungi (400.000), algae (50.000), dan protozoa (30.000) per Gram tanah pertanian yang subur. Populasi mikroorganisme dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: a). Jumlah dan jenis zat hara dalam tanah,

b). Kelembaban, c). Tingkat aerasi, d). Suhu, e). pH, dan f). Perlakuan pada tanah, seperti pemupukan atau terjadinya banjir (Budiyanto, 2002).

3. Antibiotik

Antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang pada konsentrasi rendah dapat memusnahkan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Radji, 2010). Antibiotik diklasifikasikan berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya. Berdasarkan spektrumnya, antibiotik dapat dibedakan menjadi dua yaitu antibiotik berspektrum luas dan sempit. Antibiotik berspektrum luas mampu menghambat bahkan sampai membunuh bakteri dari golongan Gram positif maupun Gram negatif. Sedangkan bakteri yang berspektrum sempit hanya mampu menghambat segolongan bakteri saja, misalnya hanya mampu menghambat atau hanya membunuh bakteri Gram positif saja atau bisa juga hanya membunuh bakteri Gram negatif saja.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dibedakan menjadi lima yaitu:

a. Antibiotik yang mekanisme aksinya menghambat sintesis dinding sel

Antibiotik ini adalah antibiotik yang merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif seperti penisilin.

b. Antibiotik yang merusak membran plasma

Membran plasma bersifat semipermeabel dan dapat mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan keluar sel. Rusaknya struktur membran plasma dapat menghambat bahkan dapat merusak kemampuan membran plasma sebagian penghalang osmosis dan juga mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan membran. Antibiotik yang dapat merusak membran plasma yaitu antibiotik golongan polipeptida yang bekerja dengan cara mengubah permeabilitas membran plasma sel bakteri seperti polimiksin B yang melekat pada fosfolipid membran.

c. Antibiotik yang menghambat sintesis protein

Kelompok antibiotik yang gula aminonya tergabung dalam ikatan glikosida merupakan aminoglikosida yang termasuk dalam antibiotik yang

memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal dengan mekanisme penghambatan pada sintesis protein. Contoh antibiotik golongan aminoglikosida yaitu streptomisin, gentamisin, dan lain-lain.

d. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat

Antibiotik golongan kuinolon (siprofloksasin, nefloksasin) dan rifampin (turunan rifamisin) termasuk antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat. Penghambatan pada asam nukleat berupa penghambatan pada transkripsi dan replikasi mikroorganisme.

e. Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial

Antimetabolit merupakan substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit tersebut. Sebagai contoh dari antimetabolit yaitu sulfanilamid dan *para amino benzoic acid* (PABA) (Pratiwi, 2008).

4. *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , dan mempunyai simpai. (Radji, 2010). *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerobik fakultatif dan terdiri dari sel dengan batang pendek, motil atau nonmotil, dan sel-selnya peritrikus (yakni flagela secara merata tersebar di seluruh permukaan sel) (Pelczar dan Chan, 2007). Genus *Escherichia coli* terdiri dari 2 spesies yaitu: *Escherichia coli* dan *Escherichia hermani* (Jawetz et al., 2005).

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat dalam usus. Manifestasi klinik infeksi *Escherichia coli* dengan bakteri enterik lain tergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala atau tanda dari proses-proses yang disebabkan oleh bakteri lain. Infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* seperti infeksi saluran kencing, diare, sepsis, dan meningitis (Jawetz et al., 2005).

Menurut (Jawetz *et al.*, 2005), klasifikasi *Eschericia coli* sebagai berikut :

Kingdom	: Prokaryote
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: <i>Scotobacteria</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

5. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri yang memiliki kemampuan membentuk endospora. Kebanyakan spesiesnya banyak yang berbentuk batang dan bersifat aerobik (genus *basillus*) dan yang lainnya anaerobik (genus *clostridium*). Bakteri ini beserta endosporanya tersebar luas dalam tanah, tumbuh-tumbuhan, air (Jawetz *et al.*, 2005) dan terbawa oleh partikel-partikel debu di udara. Endosporanya, karena resistensinya tinggi terhadap panas, dapat bertahan hidup lama. Morfologi selnya batang, kecuali satu spesies mempunyai sel-sel bulat dan dalam bentuk paket, motil karena flagela atau nonmotil (Pelczar dan Chan, 2007).

Menurut Cohn (1872) *cit* Ramahdani (2011) klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah :

Kingdom	: Prokariote
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Species	: <i>Bacillus subtilis</i>

6. Uji antibiotik

Metode uji antimikroba terdiri dari 2 yaitu metode difusi dan metode dilusi.

Metode yang paling sering digunakan adalah difusi agar. Metode difusi terdiri dari:

- a. Metode Kirby & Bauer, dimana cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, zona hambatan sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji.
- b. Metode sumuran. Metode ini serupa dengan dengan metode Kirby & Bauer, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumurnya tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).
- c. Metode *agar block*. Metode ini hampir sama dengan metode sumuran. Menurut Nedielkova & Naidenova (2004), metode ini dilakukan dengan cara meletakkan potongan yang berbentuk silindris dari medium yang merupakan tempat tumbuh Actinomycetes ke dalam petri yang sebelumnya telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam inkubasi.

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh isolat Actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer padi yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.