

DAYA ANTIBIOTIKA DARI *MICROMONOSPORA* TERMOFILIK
(ACTINOMYCETALES) YANG TUMBUH SECARA AKTIF SELAMA
PROSES PENGOMPOSAN SAMPAH KOTA

U. Suriawiria^{*)}

R I N G K A S A N

Genus Micromonospora termasuk salahsatu genera dari Actinomycetales yang kurang dikenal. Kehidupannya umum secara mesofilik dan termofilik, dan ditemukan di dalam tanah, air, pupuk-kandang dan kompos.

Tulisan ini akan melaporkan potensi daya antibiotika dari Micromonospora yang diukur berdasarkan sifat antagonismanya terhadap bakteri.

A B S T R A C T

The genus Micromonospora belongs to one of the least-known genera of the Actinomycetales. It comprises both mesophilic and thermophilic forms and is found in soils, in water, in manure and in composts.

The present paper reports of an antibiotic potential of Micromonospora as measured by its antagonism against bacteria.

PENDAHULUAN

Sampah yang dibiarkan bertumpuk, atau sengaja ditumpukkan untuk dijadikan kompos, merupakan media yang banyak ditumbuhi

^{*)}Departemen Biologi, Institut Teknologi Bandung.

oleh mikroorganisma termofilik, terdiri dari bakteri, actinomycetes, jamur, ragi dan algae (Shilesky, 1969). Kelompok actinomycetes termofilik yang tumbuh aktif selama proses pengomposan serta mempunyai toleransi tinggi terhadap temperatur tinggi antara 55-75°C dan pH antara 4-7.5 adalah *Micromonospora* Ors. (Erikson, 1952; Suriawiria, 1972).

Sudah diketahui sejak lama bahwa penggunaan kompos sewaktu penanaman biji-bijian, bukan hanya dimaksudkan sebagai sediaan unsur-unsur yang kelak akan dibutuhkan oleh biji yang berkecambah, tetapi juga dimaksudkan untuk melindungi biji-bijian yang sedang berkecambah dari serangan mikroorganisma tanah patogen (Grossbard, 1952; Gregory et al. 1952). Oleh Grossbard sendiri (1952) telah dapat dibuktikan bahwa ada hubungan yang erat diantara kepadatan populasi actinomycetes selama proses pengomposan dengan dihasilkannya antibiotika. Dan Waksman (1947) telah menemukan jenis antibiotika baru dari *Micromonospora* mesofilik tanah yang diberi nama micromonosporin.

Penelitian ini dimaksudkan untuk lebih lanjut meneliti kemampuan biakan *Micromonospora* sp. yang didapatkan secara aktif tumbuh selama proses pengomposan sampah kota, terhadap kemungkinan-kemungkinannya untuk menghasilkan antibiotika.

BAHAN DAN TATAKERJA

1. Biakan

Untuk produksi antibiotika telah digunakan 23 buah biakan-murni *Micromonospora* termofilik yang belum diketahui species-nya. Biakan tersebut merupakan koleksi penulis yang dikumpulkan antara tahun 1965-1972 dari beberapa tempat penimbunan sampah di kota Bandung (Daftar I).

Untuk assay antibiotika yang dihasilkan, digunakan dua jenis bakteri, yaitu: *Escherichia coli* (Gram -) dan *Staphylococcus aureus* (Gram +) sesuai dengan metoda Grossbard (1952) dan Heatley (1949).

2. Media

Telah dipergunakan dua jenis media untuk produksi antibiotika, yaitu:

- a. Berdasarkan Gregory et al. (1952) yang terdiri dari: 20 g tepung kedele, 20 g glukosa, 5 g CaCO₃, 5 g corn-steep-liquor (Difco) dan 1.000 ml aquadest. Sebelum disterilkan pH larutan 7.0.
- b. Berdasarkan Warren et al. (1955) yang terdiri dari: 15 g glukosa, 5 g NaCl, 1 g CaCO₃, 2½ g gliserol, 15 g tepung

Daftar I

Biakan *Micromonospora* termofilik yang diteliti
dan tempat ditemukannya

No. Urut	No. biakan	Tempat ditemukannya/keterangan
1	MK 28	Kampus ITB
2	30	idem
3	38	Pasar Andir
4	40	Pasar Babatan
5	41	idem
6	42	Pasar Kosambi (sampah segar)
7	43	idem (sampah menahun)
8	50	Pasar Kiaracandong
9	52	Kampus ITB
10	53	idem
11	60	Jalan Pasteur
12	62	Jalan Sejahtera
13	63	Sungai Cikapundung Kolot (Jl. Malabar)
14	66	idem (Kampung Maleer)
15	68	Sungai Cikakak
16	69	Pasar Andir
17	80	Kompleks Van Imhoff Tank
18	82	idem
19	88	idem
20	89	Kompleks Pembakaran Sampah jalan Astana Anyar
21	90	idem
22	100	idem
23	104	Pasar Balubur

kedele dan 1.000 ml aquadest. Sebelum disterilkan pH larutan 7.2.

Dua jenis media untuk biakan bakteri dan assay-antibiotika berdasarkan Heatley (1949) telah digunakan, yaitu:

- a. Triptosa-dekstrosa-agar (TDA), terdiri dari: 10 g triptosa, 10 g dekstrosa, 5 g NaCl, 3 g ekstrak-daging, 15 g agar-agar, dan 1.000 ml aquadest.
- b. Pepton-dekstrosa-agar (PDA), terdiri dari: 1 g pepton, 20 g dekstrosa, 20 g ekstrak-daging, 25 g agar-agar dan 1.000 ml aquadest.

3. Produksi antibiotika

Ke dalam botol Erlenmeyer ukuran 500 ml dan berisi 100 ml media cair, diinokulasikan biakan *Micromonospora* sp. dalam stadia sporulasi. Semua botol ditempatkan di atas alat pengocok (shaker) dengan kekuatan 100 kali putaran per menit, di dalam tempat bertemperatur $38 \pm 2^\circ\text{C}$ sesuai dengan metoda Abraham & Heatley (1949), selama delapan hari.

4. Assay antibiotika

Assay dilakukan terhadap antibiotika yang telah dihasilkan, berdasarkan metoda-standar "Disc plate agar diffusion" dari Heatley (1949) dan Humprey & Lightbown (1952), yaitu: sebanyak 1 ml larutan diteteskan pada kertas saring bergaristengah 12 mm yang telah ditempatkan pada cawan Petri berisi biakan bakteri. Daya antibiotika diukur dengan satuan bio-unit, yaitu 1 bio-unit sama dengan daerah hambatan sekitar kertas saring seluas/sepanjang 20 mm setelah pengeraman 18 jam pada temperatur $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Di setiap cawan Petri ditempatkan 3 kertas saring.

Sebagai pembanding dilakukan dengan cara yang sama dengan menggunakan media murni.

Semua pekerjaan dilakukan secara steril dalam tiga kali ulangan.

HASIL DAN DISKUSI

Dari 23 buah biakan yang dicoba, telah memberikan hasil seperti tercantum pada Daftar II.

Sesuai dengan hasil percobaan Waksman et al. (1947) ternyata bahwa antibiotika yang dihasilkan oleh *Micromonospora* termofilik relatif tidak berpengaruh terhadap bakteri Gram -. Ini dapat dilihat dari Daftar II, bahwa daerah hambatan untuk biakan nomor 3, 8 dan 17 dari Media Warren et al. (1955) terhadap bakteri Gram + memberikan hasil hambatan +++, sedang

Daftar II

Hasil daya antibiotika *Micromonospora* termofilik terhadap bakteri Gram + dan Gram -

Nomor urut biakan	Dari Media Warren				Dari Media Gregory			
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	TDA	PDA	TDA	PDA	TDA	PDA	TDA	PDA
1	-	-	+	+	-	-	-	-
2	-	-	+	+	-	-	+	-
3	+	+	+++	+++	+	+	++	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	-	-
6	-	-	+	+	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	+	+++	+++	-	-	++	++
9	-	-	++	++	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	+	+	-	-	+	+
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	+	+	-	-	-	-
16	-	-	++	++	-	-	+	+
17	+	+	+++	+++	-	-	++	++
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	+	+	-	-	-	+
20	-	-	+	+	-	-	-	-
21	-	-	+	+	-	-	-	-
22	-	-	-	+	-	-	-	-
23	-	-	+	+	-	-	-	-
Prosentase hasil positif	13.04	13.04	65.30	69.64	4.34	4.34	30.43	30.43

Keterangan

- (hasil negatif)
- + (daerah hambatan kurang dari 1 biounit)
- ++ (daerah hambatan 1 biounit)
- +++ (daerah hambatan lebih dari 1 biounit).

terhadap bakteri Gram - hanya +; sedangkan untuk biakan nomor 9 dan 16 yang memberikan hasil ++ untuk bakteri Gram +, untuk bakteri Gram - tidak samasekali.

Hasil penggunaan media Warren et al. (1952) dan Gregory et al. (1952) untuk produksi antibiotika, ternyata sangat berbeda.

Di dalam media Warren et al. (1955), hasil positif adalah 13,04% dan 13,04% untuk bakteri Gram - dan 65,30% dan 69,64% untuk bakteri Gram +. Sedang di dalam media Gregory hasilnya memberikan 4,34% dan 4,34% untuk bakteri Gram - dan 30,43% dan 30,43% untuk bakteri Gram + (Daftar II).

Sesuai dengan Abraham & Heatley (1949) dan Humprey & Lightbown (1952) keberhasilan untuk produksi dan deteksi antibiotika dari mikroorganisma, sangat ditentukan oleh bentuk dan sifat dari media. Ternyata bahwa hasil selama penelitian ini dilakukan, media Warren yang umum digunakan untuk hampir seluruh mikroorganisma-tanah, memberikan hasil yang lebih baik kalau dibandingkan dengan media Gregory.

Penggunaan media TDA dan PDA untuk biakan bakteri dan assay antibiotika, tidak memberikan hasil yang berbeda, keduanya hampir sama.

Micromonospora sp. yang hidup mesofilik dan termofilik, merupakan mikroorganisma kosmopolitan. Dapat hidup dan berkembang dengan baik hampir di semua habitat, terutama di dalam air dan tanah. Sifat yang menonjol dari actinomycetes ini di dalam media agar adalah: tidak mempunyai "aerial mycelia", dan konidia terbentuk hanya sebuah pada setiap ujung percabangan miselia yang pendek. Warna koloni umumnya merah atau jingga ketika masih muda (umur 2 x 24 jam) kemudian berubah menjadi warna gelap, umumnya coklat-tua atau kehitam-hitaman kalau lebih dari 2 x 24 jam.

Sebegitu jauh, penulis belum berhasil untuk menentukan species dari ke-23 biakan yang dicoba, terutama sekali yang memberikan hasil ++ dan +++ selama percobaan, berhubung banyak kesukaran di dalam cara identifikasi dan determinasi untuk Actinomycetales.

Hasil percobaan terhadap 5 biakan yang memberikan nilai ++ atau +++ dengan metoda langsung berdasarkan sistim perkulasi yang telah dilakukan oleh penulis di lingkungan Mikrobiologiska Institutionen, Lantbrukshogskolan, Uppsala (Swedia) tahun 1973, akan diumumkan secara tersendiri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sebagian terbesar dari koleksi biakan *Micromonospora* yang dicoba, didapatkan ketika penulis aktif dalam masalah persampahan dan perkomposan di lingkungan Pemerintah Daerah Jawa

Barat, Propelad Kodam VI Siliwangi (sekarang P.T. Propelat) dan Team City and Industrial Pollution Departemen Teknik Penyehatan ITB. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis tujukan kepada badan/instansi tersebut di atas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, E.P. & N.G. Heatley (1949). Detection and extraction of antibiotic substances, Di dalam: Antibiotics, Vol. I., Oxford Univ. Press, London, 74-109.
- Erikson, D. (1952), Temperature and Growth relationships of a thermophilic Actinomycetes, *Micromonospora vulgaris*. J. gen. Microbiol., 6, 286-294.
- Gregory, K.F. et al. (1952), Antibiotics as agents for the control of certain damping-off fungi. Amer. J. Bot., 39, 405-415.
- Grossbard, D. (1952), Antibiotics production by fungi on organic manures and in soil. J. gen. Microbiol., 6, 295-310.
- Heatley, N.G. (1949), The assay of antibiotics. Didalam: Antibiotics, Vol. I., 74-109, Oxford Univ. Press, Lond.
- (1949), Methods for measuring the sensitivity of microorganisms to antibiotics. Ibid., 200-214.
- Humprey, J.H. & J.W. Lightbown (1952). A general theory for plate assay of antibiotics with some practical applications. J. gen. Microbiol., 7, 129-143.
- Shilesky, D.M. (1969). Mycology of composting. Compost Sci., 9, 20-23.
- Suriawiria, U. (1968). A system of composting in West Java, Indonesia. Ibid., 8, 22.
- (1972). Mikrobiologi sampah kota Bandung. Laporan hasil penelitian, ITB (tidak dipublikasikan).
- Waksman, S.A. (1947). Micromonosporin, an antibiotic substance from a little-known group of microorganisms. J. Bact., 53, 355-357.
- Warren, J.S. et al. (1955). Non-synthetic media for antibiotic producing Actinomycetes. Antib. Chemother., 5, 6-17.