

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI PROTEIN PENGHAMBAT β -LAKTAMASE DARI *STREPTOMYCES* SP.IVNF1-1

Yulin Lestari¹⁾, Latifah K.Darusman²⁾, Sri Budiarti¹⁾

Streptomyces sp. dipilih karena kemampuannya sebagai penghasil senyawa antimikrob. Sementara itu permasalahan yang penting saat ini adalah meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *Streptomyces* sp.IVNF1-1 terpilih sebagai penghasil β -laktamase inhibitor. β -laktamase inhibitor ini mampu menghambat kerja β -laktamase bakteri penyebab diare *Escherichia coli* resisten ampisilin. Tujuan penelitian ini adalah memproduksi dan mengkarakterisasi β -laktamase inhibitor *Streptomyces* sp. IVNF1-1.

Penelitian lanjutan ini dikerjakan selama 2 tahun. Pada tahun pertama diproduksi β -laktamase inhibitor dalam medium fermentase Kim & Lee, dan diukur aktivitas penghambatannya terhadap β -laktamase *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC) K1-1 resisten ampisilin dengan metode iodometri. Pengukuran kurva tubuh EPEC. Optimasi substrat benzilpenizillin, indentifikasi berdasarkan morfologi, kimiawi dan 16S rDNA *Streptomyces* sp. IVNF 1-1. Uji alkaloid, deteksi asam klavulanat dan analisis spektrum serapan infra merahnya dengan FTIR. Pada tahun kedua dilakukan kuantitasi dan dialisis protein ekstraseluler dan pengukuran aktivitas penghambat β -laktamase, serta fraksinasi senyawa aktif dengan gel filtrasi. Dilakukan juga analisis komposisi asam amino dalam ekstrak dengan HPLC. Karakterisasi juga dilakukan pada pH dan suhu untuk mengetahui aktivitas optimum β -laktamase inhibitor, dan optimase produksi β -laktamase inhibitor *Streptomyces* sp. IVNF 1-1 berdasarkan kondisi pertumbuhannya dalam berbagai medium minimal.

Hasil identifikasi gen 16S rDNA menunjukkan bahwa *Streptomyces* sp. IVNF 1-1 memiliki kemiripan 99% dengan *Streptomyces lavendulae* strain IFO 14028. Isolat lokal ini dinamai *Streptomyces lavendulae* YL1. Isolat ini memiliki DAP berisomer LL yang merupakan ciri khas dari kelompok *Streptomyces*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa EPEC K 1-1 bersifat resisten terhadap antibiotik β -laktam. Mekanisme resistensi EPEC K 1-1 terjadi melalui produksi β -laktamase secara ekstraselular. Filtrat kultur IVNF 1-1 mengandung senyawa protein yang mampu mengatasi resistensi EPEC K 1-1 terhadap antibiotik β -laktam dengan menghambat aktivitas β -laktamase EPEC K1-1. Nilai hambatan protein filtrat kultur ditentukan melalui metode Sawai *et al.* sebesar 84,12% dengan konsentrasi protein $0,0646 \times 10^{-1}$ mg/ml filtrat kultur. Hambatan dapat dipertahankan (tidak hilang) selama proses pemurnian. BLIP hasil pemurnian melalui pengendapan ammonium sulfat, dialisis, dan filtasi gel memberikan hambatan terhadap aktivitas β -laktamase sebesar 11,10% dengan konsentrasi protein sebesar $0,0222 \times 10^{-1}$ mg/ml. Selain menghasilkan BLIP, IVNF 1-1 juga memproduksi asam klavulanat. Zona merah tua pada pelat KLT, zona bening ekstrak asam klavulanat, dan puncak serapan spektrum FTIR menunjukkan bahwa filtrat kultur IVNF 1-1 mengandung asam klavulanat sebagai senyawa anti

1) Staf Pengajar Dep. Biologi Fakultas Matematika dan IPA, IPB; 2) Staf Pengajar Dep. Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, IPB

β -laktamase. Uji fitokimia terhadap filtrat kultur IVNF 1-1 menunjukkan hasil negatif alkaloid.

Kondisi produksi paling optimum untuk menghasilkan senyawa anti β -laktamase dengan aktivitas terbesar adalah pada media ISP 4, pH 7, hari pertumbuhan ke-5, aerasi sebesar 100 rpm, dan suhu ruang (24°C - 26°C). Optimasi produksi terhadap senyawa anti- β -laktamase dapat meningkatkan aktivitasnya hingga 3 kali lipat. Zona penghambatan sebelum optimasi yang hanya sebesar 4 mm dapat menjadi 12,6 mm setelah optimasi.

Penelitian ini menghasilkan paket teknologi untuk memproduksi β -laktamase inhibitor berkemampuan tinggi, dan β -laktamase inhibitor yang terkarakterisasi dengan cukup baik. Namun demikian elusidasi mekanisme dasar penghambatan β -laktamase terhadap EPECK 1-1 resisten ampisilin perlu dilakukan sebelum sampai pada tahap pengembangan lebih lanjut dan komersialisasinya. Aplikasi β -laktamase inhibitor bersama dengan antibiotik diharapkan akan dapat membantu menghambat pertumbuhan EPEC sebagai salah satu penyebab diare di Indonesia yang saat ini banyak yang resisten antibiotik.