



Bioprospek

<https://fmipa.unmul.ac.id/jurnal/index/Bioprospek>



ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI ANTIMIKROBA PADA SALURAN PENCERNAAN LALAT HIJAU (*Chrysomya megachepala*) PENGHASIL

Maria Kanan¹

¹ Program Studi Kesehatan Masyarakat Universitas Tompotka Luwuk

INFO ARTIKEL

Terkirim 4 Juni 2018
Diterima 5 Juli 2018
Online 20 September 2018

Keywords.

Chrysomya megachepala
Antimicrobial producing
bacteria
Isolation
Molecular identification

ABSTRACT

Flies can transmit about 64 types of pathogenic bacteria, in humans. Genus *Musca*, *Chrysomya* and *Sarcophaga* are genera of flies, where members of the species, many of which live around humans. Various researches that have been carried out by researchers found that a fly that carries a number of diseases, also carries antibiotics that neutralize these diseases. Therefore, flies are never attacked by the disease they carry. The purpose of this study was to determine the types of antimicrobial producing bacteria found in the digestive tract of green flies (*C. megachepala*) by molecular identification and to determine the antimicrobial activity produced against several test bacteria. This research is a descriptive experimental study with a pure experimental model to determine the species of antimicrobial producing bacteria in the digestive tract of *C. megachepala*. Digestive tract *C. megachepala* is isolated on NA (*Nutrient Agar*) medium. Identification of bacteria using the 16S rRNA gene. Pure isolates obtained are cultured on NB (*Nutrient Broth*) media. Test antimicrobial activity by diffusion method to use paper disk. One isolate obtained from isolation and molecular identification using the 16S rRNA gene showed that the isolate had a 90% similarity with *Bifidobacterium minimum* [NR 044692.2]. These isolates can inhibit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Providencia stuartii*. The biggest inhibition zone is against *P. stuartii*.

1. Pendahuluan

Lalat merupakan *Ordo Diptera* yang termasuk pada Hexapoda atau insekta, mempunyai jumlah genus dan spesies yang terbesar yaitu mencakup 60-70 % dari seluruh spesies Arthropoda. Lalat dapat mengganggu kenyamanan hidup manusia, menyerang dan melukai inang (manusia

atau hewan) serta menularkan penyakit. Saat ini dijumpai 60.000 – 100.000 spesies lalat, tetapi tidak semua spesies perlu diawasi karena beberapa diantaranya tidak berbahaya terhadap kesehatan masyarakat.

Korespondensi: maria.kanan@yahoo.co.id
bioprospek@fmipa.unmul.ac.id

Penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian dari tubuh lalat seperti: bulu badan, bulu pada anggota gerak, muntahan serta fekesnya. (Depkes RI, 1991).

Berbagai macam genus lalat yang penting antara lain adalah *Musca* (berbagai jenis lalat rumah), *Chrysomya* sp. (berbagai jenis lalat hijau) dan *Sarcophaga* (berbagai jenis lalat daging). *Chrysomya* sp. banyak dijumpai di Indonesia, terutama di tempat-tempat lembab dan daerah yang berdekatan dengan tempat pembuangan sampah (Departemen kesehatan RI, 1991).

Lalat hidup di tempat yang kotor, sampah, bau ataupun pada suatu bahan yang busuk, sehingga kuman selalu menempel di kaki dan tubuhnya. Lalat ketika hinggap pada makanan, secara tidak langsung makanan tersebut akan terkontaminasi dengan kuman-kuman tersebut. Lalat tetap dapat hidup meski di tubuhnya terdapat berbagai macam bakteri yang berbahaya bagi kesehatan manusia, karena pada salah satu sayapnya terdapat agen penyakit dan pada sayap lainnya ada antimikrobanya (Rachdie, 2007).

Liang *et al.* (2006), menyatakan serangga dari golongan Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera dan Coleoptera yang karena hidupnya di lingkungan yang kotor memiliki kemampuan untuk mengembangkan respons kekebalan yang efisien. Ketika ditulari mikroba patogen, mikroba memproduksi berbagai protein dan peptide antimikroba yang berperan penting dalam memproteksi organism tersebut.. Beberapa macam protein antimikroba dimaksud adalah cecropin, defensin, peptide kaya prolin, peptide kaya glisin, dan lisozim (Boman, 1995 dan Bulet *et al.*, 1999). Senyawa antimikroba ini dapat digunakan untuk mendisain antibiotik dengan spektrum luas bagi manusia (Zasloff, 2002).

Kebutuhan antibiotik, anti fungal, maupun anti kanker baru masih sangat diperlukan, terutama yang efektif melawan bakteri, virus, protozoa, fungi atau kanker. Keberhasilan mendapatkan antibiotik baru

dari sumber alami seperti metabolit sekunder dari mikroba telah menimbulkan asumsi bahwa mikroba merupakan sumber senyawa baru yang tidak pernah habis. Pada saat ini antibiotik masih memiliki nilai yang tinggi dan masih sangat dibutuhkan oleh manusia.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri dari saluran pencernaan *C. megachepala* yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba untuk pengobatan penyakit, mengetahui spesies bakteri melalui identifikasi molekuler menggunakan gen 16S rRNA serta mengetahui aktifitas antimikroba yang dihasilkan isolat.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap yaitu: 1. Pengambilan sampel dan isolasi bakteri penghasil antimikroba dari saluran pencernaan lalat; 2). Identifikasi molekuler isolat bakteri penghasil antimikroba menggunakan Gen 16 S rRNA; 3). Uji aktivitas isolat penghasil antimikroba terhadap bakteri uji.

2.1 Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua spesies lalat *C. megachepala* yang terdapat di pembuangan sampah sementara (TPS) rumah sakit. Sampel untuk isolasi dan identifikasi bakteri penghasil antimikroba yaitu 3-5 ekor lalat *C. megachepala*. Penangkapan lalat dengan menggunakan kantong plastik steril.

2.2 Prosedur Penelitian

Tahap 1. Isolasi Bakteri Penghasil Antimikroba dari Saluran Pencernaan *C. Megachepala*

Alat yang digunakan : Erlenmeyer, petridish, pipet ukur 10 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, pinset, gelas obyek, pipet tetes, mikropipet, jarum ose, mikroskop, timbangan analitik, penangas air, Oven, *Laminar Air Flow*, inkubator, kulkas, autoklaf.

Bahan yang digunakan : Sampel lalat, NaCl fisiologis 0,85 %, NA (*Nutrien Agar*, aquadest, alkohol 70 %, kapas, zat warna

untuk pengecatan Gram, label, spiritus, aluminium foil.

Prosedur Kerja :

Disiapkan tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl fisiologis steril. Pengambilan sampel saluran pencernaan lalat dilakukan dengan cara menjepit bagian kepala lalat dan bagian ujung abdomen dengan menggunakan pinset steril lalu ditarik. Saluran pencernaan akan kelihatan terbentang, lalu saluran pencernaan tersebut diambil dengan menggunakan ose steril, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl fisiologis steril, hancurkan saluran pencernaan tersebut dengan menggunakan ose steril (Kanan, 2017). Dilakukan pengenceran 5x (tingkat pengenceran 10^{-5}). Diambil 1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian dituangi medium Nutrien Agar (NA), sebanyak 15 mL lalu homogenkan. Biakan disimpan dalam inkubator selama 2 x 24 jam pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. Diamati zona bening yang terbentuk di sekitar koloni yang tumbuh. Bila terdapat zona bening berarti mikroba tersebut dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Koloni yang berbeda digores kembali ke dalam media lempeng Nutrien Agar lalu inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, sampai diperoleh biakan murni. Diamati bentuk morfologinya (bentuk koloni, warna koloni). Koloni yang tumbuh diambil satu ose dipindahkan ke media padat miring (NA) sebagai isolat murni. Untuk mengetahui apakah isolat mikroba tersebut dapat menghasilkan senyawa antimikroba maka dilakukan uji terhadap beberapa bakteri patogen yaitu: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Providencia stuarti* yang merupakan bakteri hasil isolasi dari lalat. Isolat bakteri dikultur (1-7 X 24 jam) dalam medium cair (*Nutrient Broth*) dan bakteri uji dalam medium padat (NA). Bakteri uji diencerkan dalam larutan NaCl fisiologis steril dengan standart Mac-Farland 0,5, kemudian dipipet ke dalam cawan petri steril sebanyak 0,1 ml lalu dituangi dengan medium NA, dihomogenkan dan biarkan membeku. Paper disk berukuran 6 mm

direndam selama 10 menit dalam kultur mikroba. Paperdisk diletakkan secara aseptis pada permukaan medium NA yang telah berisi mikroba uji, inkubasi pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 1-2 x 24 jam. Bila terdapat zone bening menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Isolat terpilih kemudian diidentifikasi, dengan melakukan pengamatan karakter fenotip : Morfologi sel (bentuk dan sifat terhadap pewarnaan gram). Identifikasi isolat bakteri penghasil antimikroba dilakukan secara molekuler.

Tahap 2. Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri Penghasil Antimikroba Menggunakan Gen 16 S rRNA.

Alat yang digunakan : untuk analisis DNA isolat bakteri antara lain: *Eppendorf* 10 μl – 200 μl , Tips 1-1000 μl , Thermoblock (Biosan), Timbangan analitik, Sentrifuse 5430 R *Eppendorf*, Vortex Biosan, Master cycler Pro S (Biosan), Nanophotometer (Implen), Automatic elektroforesis Qiaxcel (Qiagen).

Bahan yang digunakan : untuk ekstraksi dan purifikasi DNA bakteri *PrestoTM Mini gDNA Bacteria Kit Geneaid, 16S, Primer Gen 16S rRNA* (App. 425 bp): (Cognato dan Vogler, 2001), alkohol 95%, KIT PCR solis biodine (USA), KIT elektroforesis automatic dan DNA screening KIT (Qiagen). Sekuensing menggunakan jasa sekuensing First Base Singapura.

Prosedur Kerja :

Preparasi Isolat Bakteri

Sebelum dilakukan Ekstraksi dan Purifikasi DNA, isolat bakteri yang telah dimurnikan sebelumnya diinokulasikan ke dalam media penyubur umum (*Nutrient Agar*) dan diinkubasikan selama 1 x 24 jam dengan suhu kamar. Koloni bakteri yang tumbuh dijadikan sumber suspensi sel bakteri untuk analisis DNA.

Ekstraksi dan Purifikasi DNA

Suspensi bakteri dari kultur murni disiapkan secara aseptik. DNA isolat bakteri

diekstraksi dengan *Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit Geneaid* dengan prosedur penelitian bakteri gram positif menurut protokol Kit. Tahapan ekstraksi dan purifikasi DNA dimulai dengan tahap Preparasi Sampel (1), Tahap *Lysis* (2), Tahap *DNA Binding* (3), Tahap *Washing* (4) dan Tahap *Elution* (5).

Analisis Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Hasil ekstraksi DNA total selanjutnya dianalisis konsentrasi dan kemurnian dengan menggunakan UV/VIS Spectrometer Lambda 35 Perkin Elmer. Kemurnian DNA dapat dilihat dengan nilai rasio A260/A280 antara 1,8 - 2,0 nm. Apabila <1,8 berarti terkontaminasi dengan protein dan atau komponen cemaran *derivate* protein yang mempengaruhi molekul DNA, dan jika >2,0 berarti terkontaminasi dengan RNA (Protokol Kit), dengan rumus Konsentrasi dan Kemurnian DNA sebagai berikut:

Konsentrasi DNA = $\frac{\text{Absorbansi 260} \times 50}{\text{Absorbansi 280}}$
(Barbosa *et al.* 2005)

Kemurnian DNA = $\frac{\text{Absorbansi 260}}{\text{Absorbansi 280}}$

Amplifikasi Gen 16S rRNA Metode PCR

DNA hasil ekstraksi diamplifikasi menggunakan metode PCR menggunakan mesin PCR Master cycles pro s Eppendorf. Proses PCR menggunakan 2x MyTaq HS Red Mix Bioline dan Primer 16S rRNA yang digunakan dalam proses amplifikasi secara PCR adalah: 16S (App. 425 bp) (Cognato dan Vogler, 2001).

16sA (5'CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT 3')
(Foward)

16sB2 (5' TTT AAT CCA ACA TCG AGG 3') (Reverse)

Dengan kondisi PCR denaturasi awal 72°C selama 50 detik kemudian denaturasi berikut 94°C selama 30 detik. Annealing 49°C selama 40 detik, extension 72°C selama 50 detik, final extension 72°C selama 5 menit. Jumlah siklus sebanyak 35 kali.

Visualisasi Produk PCR dengan *Automatic Electrophoresis Qiaexel*

Menggunakan KIT DNA Screening Qiagen (Qiaexel). Prosedur kerja disesuaikan dengan protokol KIT.

Sekuensing

Sekuensing menggunakan ABI PRISM 3730xl *Genetic Analyzer Develop by Applied Biosystems*, USA, melalui jasa sekuensing *FIRST BASE* Singapura.

Pengolahan Data Sekuens dan Analisis Data

Output sekuensing dari *FIRST BASE* Singapura yaitu dalam bentuk file *.seq* dianalisis menggunakan *software* Bioinformatika *Geneious 10.1.3*. Hasil pembacaan dengan *Geneious 10.1.3* adalah kromatogram sekuens, urutan basa gen 16S rRNA bakteri termofilik atau disebut sekuens dan karakteristik sekuens. Sekuens gen 16S rRNA bakteri yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk analisis penyejajaran menggunakan metode BLAST (*Basics Local Alignment Searching Tools*) secara *online* pada situs NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Tahap 3. Uji Aktivitas Isolat Penghasil Antimikroba Terhadap Bakteri Uji

Fermentasi dan Uji Aktivitas Antimikroba yang Dihasilkan oleh Isolat

Alat yang digunakan : Erlenmeyer, petridish, pipet ukur 10 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, pinset, gelas obyek, pipet tetes, mikropipet, jarum ose, cuvet, mikroskop, timbangan analitik, penangas air, Oven, *Laminar Air Flow*, *shaking incubator*, kulkas, autoklaf, sentrifuge.

Bahan yang digunakan : NaCl fisiologis 0,85 %, NA (*Nutrien Agar*), *Nutrient Broth* (NB), aquadest, alkohol 70 %, kapas, label, spiritus. Isolat bakteri penghasil antimikroba dari lalat, isolat bakteri uji.

Cara kerja :

Fermentasi Pada Medium Produksi

Isolat yang telah diperoleh dan diduga menghasilkan senyawa antimikroba

diremajakan kembali. Diambil 1 Ose dan inokulasikan ke dalam medium fermentasi (*Nutrient Broth*). lalu inkubasi pada suhu kamar selama 1-3 x 24 jam sambil dishaker dengan intensitas 170 – 200 rpm. Kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Filtrat yang diperoleh siap untuk diuji aktivitasnya terhadap bakteri uji.

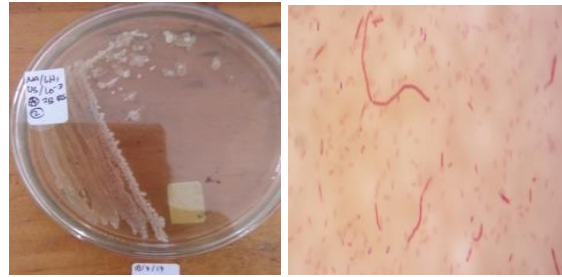
Tahap 4. Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fermentasi Terhadap Bakteri Uji dengan Metoda Difusi Agar (Metode Difusi Kirby – Bauer)

Bakteri uji diremajakan pada medium NA (*Nutrien Agar*) selama 1 x 24 jam. Bakteri uji diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,85% dengan standar MacFarland 0,5. Diambil 0,1 ml bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian dituangi medium NA steril yang masih cair, dihomogenkan dan dibiarkan sampai membeku. Paperdisk berukuran 6 mm direndam dalam filtrat hasil sentrifuge selama 10 menit. Paperdisk diletakkan secara aseptis pada permukaan medium NA yang telah berisi bakteri uji, inkubasi pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Diukur zona bening yang terbentuk dengan menggunakan mistar sorong (Prescott *et al.* 2002).

3. Hasil dan Pembahasan

1. Isolasi Bakteri Penghasil Antimikroba dari Saluran Pencernaan *C. megachepala*

Hasil isolasi bakteri penghasil antimikroba dari saluran pencernaan *C. megachepala* yang terdapat di TPS rumah sakit diperoleh satu isolat. Berdasarkan identifikasi morfologi koloni menunjukkan bahwa isolat tersebut koloninya berwarna putih dan bentuk tidak teratur. Berdasarkan pewarnaan Gram, diperoleh bentuk sel bulat dan termasuk Gram positif.



Gambar 1. Morfologi Koloni dan Hasil Pewarnaan Gram

2. Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri Penghasil Antimikroba Menggunakan Gen 16 S rRNA

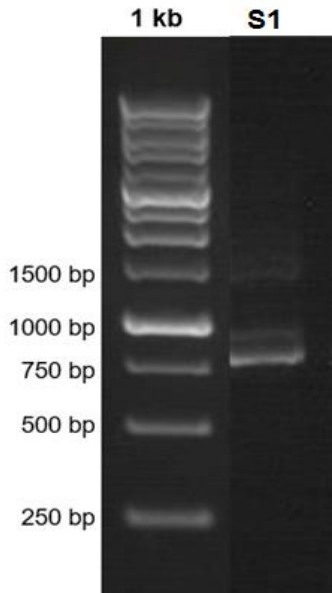
a. Ekstraksi dan Purifikasi DNA total

DNA total isolat bakteri diisolasi menggunakan Presto™ Mini gDNA *Bacteria Kit Geneaid*. Kultur isolat murni digunakan sebagai sumber sel untuk ekstraksi dan purifikasi DNA total. Volume DNA total isolat adalah 100 µl. Berdasarkan analisis kemurnian diperoleh sebaran kemurnian DNA total adalah 1,80. Sedangkan konsentrasi DNA total adalah 41,20 µg/µl.

Konsentrasi dan kemurnian DNA total bakteri sangat berpengaruh terhadap keberhasilan amplifikasi gen 16S rRNA dengan metode PCR (Simanjuntak dan Mokusuli; Manuahe *et.al.*, 2015). Konsentrasi optimal DNA total berdasarkan protokol kit yang digunakan adalah 30 µg/µl sampai dengan 60 µg/µl, sedangkan untuk kemurnian DNA total adalah 1,80 (A260/A280). Dengan demikian, konsentrasi DNA isolat bakteri yang diperoleh tergolong baik. Kemurnian DNA total yang diperoleh tergolong cukup baik. Modifikasi protokol pada tahap perendaman protease-K dan RNAase terbukti meningkatkan konsentrasi akan tetapi tidak pada kemurnian DNA total. Walaupun demikian, kualitas DNA total bakteri sebagai template akan diketahui setelah dilakukan amplifikasi gen 16S rRNA dengan metode PCR.

b. PCR dan Visualisasi Amplikon Gen Target dengan Elektroforesis

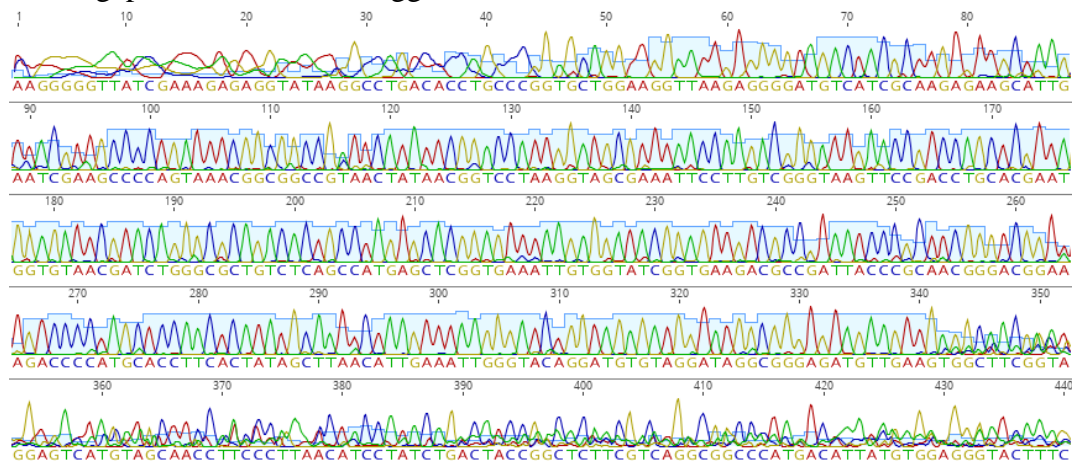
Visualisasi ampikon gen 16S rRNA isolat bakteri yaitu pada 780 bp. Berdasarkan pita yang terbentuk, mengindikasikan bahwa proses amplifikasi gen 16S rRNA berhasil pada isolat bakteri. (Gambar 2).



Gambar 2. Visualisasi ampikon gen 16 S rRNA isolat bakteri penghasil antimikroba dari saluran pencernaan lalat *C. megachepala*

c. Sekuensing

Pengurutan nukleotida gen 16 S RNA dari isolat bakteri dilakukan dengan sekuensing. Produk sekuensing dalam bentuk file *seq*, dari Laboratorium FIRST BASE Singapura, dibaca menggunakan



Gambar 3. Kromatogram Hasil Sekuensing Gen 16 S rRNA Isolat

program Geneous (Gambar 3). Daerah konsensus dari sekuens gen 16S rRNA diperoleh menggunakan Program Bioedit.

Sekuens konsensus gen 16 S rRNA isolat digunakan untuk penyejajaran dengan metode BLAST. Analisis penyejajaran sekuens gen 16S rRNA isolat bakteri penghasil antimikroba yang berhasil diisolasi menunjukkan kemiripan 90% dengan *Bifidobacterium minimum* [NR 044692.2] (tabel 1).

Menurut Ventura *et al.*, 2007 bahwa *Bifidobacterium* adalah bakteri gram positif dari filum *Actinobacteria*, umumnya diisolasi dari gastrointestinal mamalia, serangga atau burung. Menurut Makino *et al.* 2013, *Bifidobacterium* telah ditemukan berasal dari saluran pencernaan manusia, vagina dan saluran kandung kemih, yang berfungsi menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus, mengontrol peningkatan bakteri merugikan, memperkuat sistem kekebalan tubuh, dan membantu proses pencernaan. Menurut Maidak *et.al.*, 2001, beberapa spesies dari genus *Bifidobacterium* telah digunakan selama beberapa dekade sebagai makanan fungsional untuk kesehatan atau efek probiotik. Probiotik dapat mereduksi terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri atau virus penyebab diare, menyembuhkan penyakit inflamasi kronis, meningkatkan kondisi fisiologi dan mengurangi resiko yang berdampak pada kesehatan (Marco, *et.al.*, 2006).

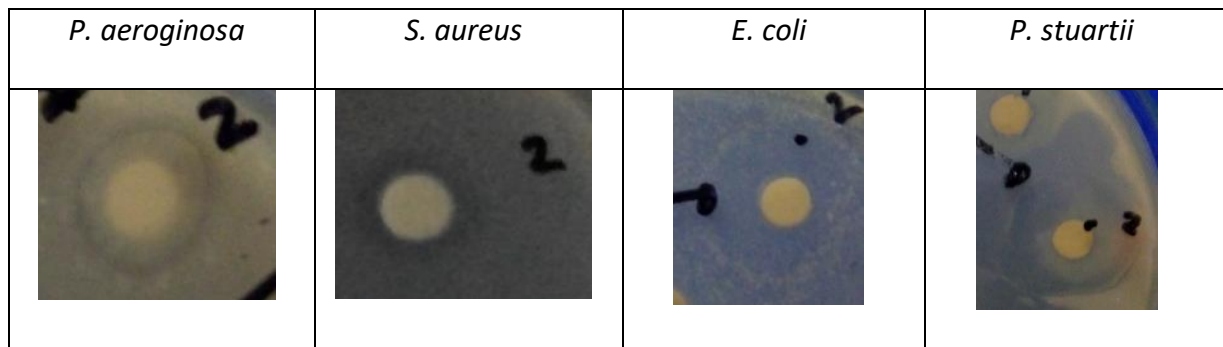
Tabel 1. Hasil BLAST Isolat

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Bifidobacterium minimum strain ATCC 27538 16S ribosomal RNA, partial sequence	31.8	31.8	3%	4.9	90%	NR_044692.2
Empedobacter brevis strain LMG 4011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	31.8	31.8	2%	4.9	100%	NR_042471.2
Alistipes timonensis strain JC136 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	31.8	31.8	2%	4.9	94%	NR_125589.1
Empedobacter brevis strain NBRC 14943 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	31.8	31.8	2%	4.9	100%	NR_112974.1
Salinicoccus sesuvii strain CC-SPL15-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	31.8	31.8	2%	4.9	94%	NR_108493.1

Bifidobacterium merupakan bakteri penghasil asam laktat, asam asetat, vitamin, bakteriosin. Asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri penyebab penyakit (bakteri patogen). Selain itu, bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan senyawa antimikroba lainnya seperti bakteriosin, reuterin, hidrogen peroksida dan diasetil. Bakteriosin adalah polipeptida yang memiliki aktivitas antimikroba.

3. Aktivitas Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan Isolat Terhadap Bakteri Uji

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengetahui aktivitas isolat bakteri terhadap mikroba uji. Pada penelitian ini digunakan 4 jenis bakteri uji yaitu : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Providencia stuartii*



Adapun rata-rata lebar zona hambat dari senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh isolat bakteri penghasil antimikroba yang berhasil diisolasi terhadap bakteri uji yaitu: *P. aeruginosa* 7 mm, *S. aureus* 5 mm, *E. coli* 11,5 mm dan *P. stuartii* 14 mm. Zona hambat isolat yang paling kuat adalah terhadap bakteri *P. stuartii*. Lebar zona hambat isolat yang didapatkan pada penelitian ini masih tergolong rendah yaitu berkisar antara 5-14 mm. Hal ini disebabkan karena isolat penghasil antimikroba yang diperoleh hanya difermentasi pada media

Nutrient Broth (NB) sebagai media dasar tanpa dilakukan optimasi berbagai kondisi fermentasi seperti media, waktu dan pH. Proses isolasi antimikroba/antibiotik yang efektif, maka perlu dilakukan berbagai optimasi kondisi fermentasi. Media, waktu dan pH fermentasi merupakan faktor penting yang harus dioptimasi. Menurut Sulistiyani (2006), produksi antibiotik/antimikroba yang optimal dapat diperoleh dengan memperhatikan faktor waktu fermentasi, mengatur pH dan media pertumbuhan yang baik. pH berpengaruh

terhadap aktivitas enzim yang memproduksi antibiotik, sedangkan waktu fermentasi dan media berpengaruh terhadap fase-fase pertumbuhan mikroorganisme. Pada penelitian ini belum mencakup proses optimasi-optimasi tersebut. Menurut Hugo (2004), salah satu fase hidup dari bakteri adalah fase stasioner dimana bakteri akan memproduksi metabolit guna mempertahankan diri dari bakteri lainnya karena pada fase ini mulai terjadi persaingan untuk mendapatkan nutrisi. Metabolit yang dihasilkan ini dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain yang berada di sekitar koloni. Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni tersebut.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berhasil diisolasi satu isolat bakteri penghasil antimikroba dari saluran pencernaan lalat *C. megachepala*, melalui identifikasi molekuler dengan menggunakan gen 16S rRNA, menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki kemiripan 90% dengan *Bifidobacterium minimum* [NR 044692.2].
2. Isolat bakteri penghasil antimikroba yang diperoleh dapat menghambat *P. aeruginosa*, *S.aureus*, *E. coli*, dan *Providencia stuartii*. Zona hambat yang paling besar adalah terhadap *P. stuartii*.

Daftar Pustaka

- Boman, H.G. 1995. Peptida antibiotic and role in innate immunity. *Ann Rev Immunol* 1995. 13: 61-92
- Bulet, P., Hetru C., Dimarq J-L, Hoffmann D. 1999. Antimicrobial peptide in insects: structure fuction. *Dev Comp Immunol* 23 (4-5): 329-44.
- Cognato. A.L.,and A.P. Volger. 2001. Exploring date interaction data and nucleotide alignment in a multiple gene analysis of Ips (Coleopra : Scolytinae). *Syst. Bio.*5:-:758 (50:758 – 780.
- Depkes RI. 1991. Petunjuk Teknis Pemberantasan Lalat. Jakarta.
- Liang, Y. L., J. X. Wang, X. F. Zhao, X. J. Du, and J. F. Xue. 2006. Molecular cloning and characterization of cecropin from the housefly (*Musca domestica*), and its expression in *Escherichia coli*. *Dev. Comp. Immunol.* 30: 249–257. [Cross Ref](#), [PubMed](#).
- Maidak, B.L. J.R. Cole, T.G. Lilburn, C.T. Parker, P.R.Saxman, R.J. Farris, G.M. Garrity, G.J. Olsen, T.M. Schmidt, dan J.M. Tiedje. 2001. The RDP-II (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res.* 29:173-174.
- Makino, Hiroshi, Akira Kushiro, Eiji Ishikawa, Hiroyuki Kubota, Agata Gawad, Takafumi Sakai, Kenji Oishi. 2003. "Mother-to-Infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota." *PloS one* 8, no. 11: e78331.
- Manuahe C, YS. Mokosuli and VIY. Roring. 2016. Optimization of DNA extraction and the position of mosquito Species from southeast Minahasa in North Sulawesi using NADH dehydrogenase Gene and Cytochrome oxidase Sub Unit 1 Gene. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2016; 4(4): 498-508.
- Marco,M.L., S. Pavan, dan M. Kleerebezem. 2006. Towards understanding molecular modes of probiotic action. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17:204-210.
- Nuroniyah T, Rosa S. 2012. Identifikasi Spesies Isolat Bakteri S1 dengan Metode Analisis Sekuen Fragmen Gen 16S-rDNA. *Jurnal Teknik Pomits.* 2012;1(1):1–6.
- Prescott, Harley, Klein. 2002. *Microbiology. Fifth Edition.*New York: The McGraw–Hill Companies.
- Rachdie, Abu Salma Muhammad. 2007. "Mukjizat Hadits Lalat, Studi Ilmiah Hadits Lalat dalam Perspektif Islam dan Ilmu Medis Modern". Maktabah lit Tahmil: Malang
- Ventura, M., C. Canchaya, A. Tauch, G. Chandra, K. Chater, G.F. Fitzgerald, dan D. Van Sinderen. 2007. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71:495-548.
- Zasloff, M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisme. *Nature* 15(6870): 389-95.