

ISOLASI *Streptomyces spp.* PADA KAWASAN HUTAN PROVINSI BALI SERTA UJI DAYA HAMBATNYA TERHADAP LIMA STRAIN DIARRHEAGENIC *Escherichia coli*

ISOLATION OF *Streptomyces spp.* FROM SEVERAL FOREST AREAS IN BALI AND THEIR INHIBITION ACTIVITIES TO FIVE STRAINS OF DIARRHEAGENIC *Escherichia coli*

I WAYAN EKA DHARMAWAN¹, RETNO KAWURI¹,
MADE SUSUN PARWANAYONI²

¹Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi F.MIPA UNUD Bukit Jimbaran - Bali

²Laboratorium Biokimia, Jurusan Biologi F.MIPA UNUD Bukit Jimbaran - Bali

INTISARI

Studi eksplorasi sumber daya hayati bakteri tanah penghasil antibiotik, *Streptomyces spp.* Dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap isolasi *Streptomyces* dan tahap pengujian daya hambatnya terhadap lima strain *diarrheagenic Escherichia coli*. Sampel tanah diambil dari sepuluh kawasan hutan di Bali.

Hasil penelitian ini mendapatkan 55 isolat dengan karakter makroskopis dan mikroskopis yang bervariasi. Isolat *Streptomyces* paling banyak ditemukan di kawasan hutan Penulisan Kintamani (RTK. 20) yaitu sebanyak 8 isolat. Keanekaragaman isolat yang diperoleh dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Seluruh isolat yang didapatkan kemudian diuji daya hambatnya terhadap lima strain *diarrheagenic Escherichia coli*. Streptomycin digunakan sebagai antibiotik kontrol. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat *Streptomyces* yang memiliki kemampuan paling tinggi dalam menghambat strain EHEC, ETEC, EIEC, EPEC dan DAEC berturut-turut adalah *Streptomyces* PK5 ($48,67 \pm 0,58$ mm), *Streptomyces* GAA4 ($29,00 \pm 2,00$ mm), *Streptomyces* GBK3 ($42,67 \pm 2,08$ mm), *Streptomyces* SkBB5 ($29,00 \pm 2,65$ mm) dan *Streptomyces* GM3 ($33,67 \pm 3,21$ mm).

Kata kunci : antibiotic, hutan, *Streptomyces*, daya hambat, *Escherichia coli*

ABSTRACT

An exploration study of natural resources soil bacteria antibiotic-producer, *Streptomyces spp.* was done in two steps. The first step was isolation of *Streptomyces* and the second involved testing their inhibition activities against five strains *diarrheagenic Escherichia coli*. Soil samples were collected from ten forest areas in Bali.

As many as 55 isolates were collected with various macroscopic dan microscopic characters. Most isolates (eight *Streptomyces* isolates) were collected from forest area in Penulisan, Kintamani (RTK. 20). The diversities of isolates are influenced by environment condition. All *Streptomyces* isolated were tested against five strains *diarrheagenic Escherichia coli* to check antibiotic activity for inhibit growth of *E. coli*. Streptomycine was used as a control. The result showed that the largest inhibition zones of *Streptomyces* against *E. coli* strains EHEC, ETEC, EIEC, EPEC and DAEC were produced by *Streptomyces* PK5 ($48,67 \pm 0,58$ mm), *Streptomyces* GAA4 ($29,00 \pm 2,00$ mm), *Streptomyces* GBK3 ($42,67 \pm 2,08$ mm), *Streptomyces* SkBB5 ($29,00 \pm 2,65$ mm) and *Streptomyces* GM3 ($33,67 \pm 3,21$ mm) respectively.

Keywords : antibiotic, forest, *Streptomyces*, inhibition zone, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Streptomyces merupakan bakteri Gram positif Familia Streptomycetaceae yang memiliki kemampuan membentuk spora dan banyak ditemukan pada tanah yang alami (Paustian, 1999). *Streptomyces* dikelompokkan ke dalam kelompok bakteri karena struktur sel yang tidak memiliki membran inti dan mitokondria (Di Salvo, 2002), serta struktur dinding selnya yang mengandung peptidoglikan (Paustian, 1999). Borodina *et al.* (2005) dan Lestari (2001) menyatakan bahwa, *Streptomyces*

sangat menarik perhatian para ahli bakteriologi karena kemampuannya dalam mensintesis metabolit sekunder berupa bahan antimikroba atau antibiotik.

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri flora normal pada saluran pencernaan bagian bawah manusia yang berfungsi membantu penyerapan sari-sari makanan dan produksi vitamin K (Jawetz *et al.*, 1996). Nataro dan Karper (1998) menyatakan bahwa bakteri *E. coli* yang menyebabkan diare pada tubuh inangnya disebut *diarrheagenic E. coli*. Menurut Nataro dan Karper (1998), pada saat ini telah teridentifikasi lima strain

diarrheagenic E. coli berdasarkan virulensinya, yaitu ETEC, EPEC, EIEC, EHEC dan EAEC.

Resistensi *E. coli* terhadap beberapa jenis antibiotik, mendorong perlunya usaha – usaha eksplorasi kekayaan alam yang berlimpah di Indonesia dalam menemukan sumber antibiotik baru untuk menggantikan antibiotik yang sudah tidak efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Streptomyces* dari kawasan hutan Provinsi Bali dan untuk mengetahui besar zona hambat yang ditimbulkan oleh isolat *Streptomyces* terhadap pertumbuhan lima strain *diarrheagenic E. coli*.

MATERI DAN METODE

Pengambilan sampel dilaksanakan 25 Januari - 16 Maret 2008 di sepuluh lokasi berbeda di Propinsi Bali yang terdiri dari sembilan kawasan hutan/register tanah kehutanan (RTK) Dinas Kehutanan Propinsi Bali dimana dari total 27 RTK (hutan daratan) dan satu dari kawasan hutan wisata BKSDA, yaitu : RTK 2 (Hutan Gunung Mungsu - Kabupaten Buleleng), RTK 4 (Hutan Gunung Batukaru - Kabupaten Buleleng, Badung dan Tabanan), RTK 5 (Hutan Munduk Pengejaran - Kabupaten Bangli), RTK 8 (Hutan Gunung Agung Abang - Kabupaten Karangasem), RTK 19 (Hutan Bali Barat - Kabupaten Jembrana dan Buleleng), RTK 20 (Hutan Penulisan Kintamani - Kabupaten Bangli), RTK 21 (Hutan Sangeh - Kabupaten Badung), RTK 28 (Hutan Suana Nusa Penida - Kabupaten Klungkung), RTK 29 (Hutan Sakti Nusa Penida - Kabupaten Klungkung) dan kawasan Hutan Wisata Monkey Forest Ubud - Kabupaten Gianyar. Sampel tanah diambil dengan menggunakan metode *random sampling* dan *stratified sampling*, tergantung dari tipe vegetasi dalam lokasi tersebut (Scheaffer and Mendelall, 1990). Diukur suhu udara dan tanah dan pH tanah serta dilakukan pendeskripsian lokasi pengambilan sampel.

Penelitian daya hambat *Streptomyces* terhadap lima strain *diarrheagenic E. coli* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi F.MIPA Universitas Udayana dari tanggal 1 Februari - 15 April 2008.

Sampel diencerkan sampai 10^{-6} dengan *Plating Method* (Pelczar Jr. *et al.*, 1993) kemudian ditanam pada media YEMA (*Yeast Extract Mannitol Agar*) menggunakan metode *pour plate* dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5 – 7 hari. Koloni bakteri yang dicurigai sebagai *Streptomyces* dan berbeda satu sama lain, dipisahkan dengan ditanam kembali pada media YEMA dalam cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu kamar 25°C selama 5 – 7 hari. Diidentifikasi koloni bakteri yang dicurigai dengan pengamatan morfologi hifa dan spora dengan pewarnaan langsung, pewarnaan Gram, pewarnaan tahan asam dan uji katalase. Koloni bakteri yang telah diamati secara makroskopis dan mikroskopis, Gram positif, tidak tahan asam, katalase positif, dan diketahui sebagai salah satu spesies *Streptomyces*, lalu dikultur murni pada media YEMA pada cawan petri

kemudian diinkubasi pada suhu kamar 25°C selama 5 – 7 hari dan kemudian siap digunakan untuk pengujian.

Suspensi lima strain *diarrheagenic E. coli* dibuat dengan masing – masing kultur diambil 1-2 ose kultur pada NA miring diinokulasikan pada masing – masing 100 ml media NB. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Pelczar Jr. *et al.*, 1993).

Diuji produksi antibiotik dari isolat – isolat *Streptomyces* terhadap lima strain *E. coli* (EHEC O157: H7 ; ETEC B2432 ; EIEC 6-11 ; EPEC ATCC25922; dan DAEC). Potongan koloni *Streptomyces* bentuk persegi ukuran 0,5 cm x 0,5 cm diletakkan pada permukaan NA yang telah ditanam *E. coli* sebelumnya kemudian diinkubasi selama 5 – 7 hari pada suhu 37°C (Lay dan Hastowo, 1994). Kontrol yang digunakan adalah kertas cakram dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm yang mengandung antibiotik streptomycin konsentrasi penuh yang dibuat dengan meresapkan streptomycin pada kertas cakram dan ditambahkan sedikit air kemudian dimasukan ke dalam oven suhu 40°C sampai semua airnya menguap.

Diukur diameter daerah bening (zona halo) yang terbentuk di sekitar biakan *Streptomyces* dan dibandingkan dengan kontrol. Pengulangan dilakukan tiga kali pada setiap perlakuan dan kontrol. Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan *analyse of varians* (ANOVA) dengan software SPSS *for windows version* 16.0 tahun 2008.

HASIL

Hasil isolasi *Streptomyces* dari sepuluh kawasan hutan di Propinsi Bali diperoleh secara keseluruhan 55 isolat dimana jumlah dan karakter isolat dan pada setiap lokasi pengambilan sampel ditunjukkan pada Gambar 1, Tabel 1 dan Tabel 2.

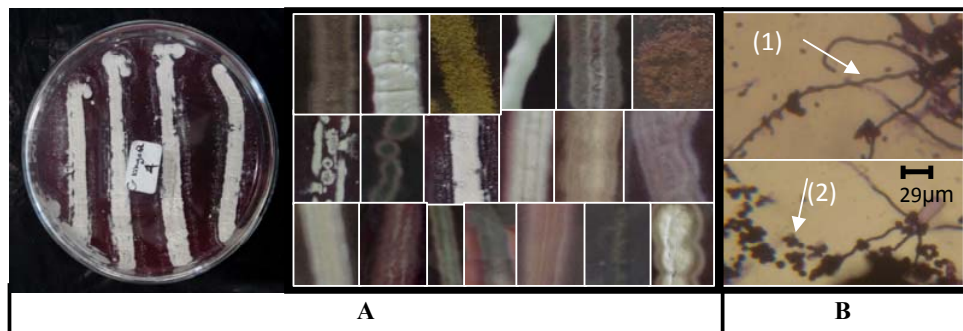
Hasil uji daya hambat *Streptomyces* spp. yang diisolasi dari sepuluh kawasan hutan di Bali terhadap lima strain *diarrheagenic E. coli* ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

PEMBAHASAN

Gambar 2. Daya hambat kontrol (K) dan *Streptomyces* (S) terbesar pada setiap strain *E. coli*, Keterangan : (A) *Streptomyces* PK5 terhadap EHEC; (B) *Streptomyces* GAA4 terhadap ETEC ; (C) *Streptomyces* GBK3 terhadap EIEC ; (D) *Streptomyces* SkBB5 terhadap EPEC ; dan (E) *Streptomyces* GM3 terhadap DAEC

Uji daya hambat *Streptomyces* spp. terhadap *Diarrheagenic Escherichia coli*

Berdasarkan Tabel 3, streptomycin memiliki kemampuan menghambat tiga strain *diarrheagenic E. coli* berturut - turut dari EIEC, EPEC dan DAEC, yaitu sebesar $28,00 \pm 1,00$ mm ; $39,67 \pm 1,53$ mm dan $38,33 \pm 2,08$ mm. Sedangkan pengujian streptomycin terhadap dua strain lainnya, yaitu EHEC dan ETEC



Gambar 1. a) Penampilan makroskopis jenis koloni *Streptomyces* hasil diisolasi pada media YEMA;
 b) Hasil pengamatan mikroskopis *Streptomyces*,
 Keterangan : (1) hifa, dan (2) spora

tidak menghasilkan zona hambat. Jawetz *et al.* (1996) menjelaskan bahwa streptomycin memiliki kemampuan merusak membran sel dan menghambat sintesis protein. Dalam Brook dkk. (2001) lebih dijelaskan bahwa streptomycin bekerja dalam merusak membran sel dan menghambat sintesis protein dengan berikatan dengan 16S rRNA pada ribosom bakteri, dan mengganggu ikatan formyl-methionyl-tRNA pada ribosom subunit 30S. Peristiwa ini akan mencegah mekanisme inisiasi translasi pada sintesis protein.

Tidak adanya zona hambatan yang dihasilkan oleh streptomycin terhadap strain EHEC dan ETEC kemungkinan disebabkan oleh strain tersebut telah resisten terhadap streptomycin pada konsentrasi yang digunakan. Menurut Jawetz *et al.* (1996), mekanisme resistensi disebabkan oleh adanya mutasi kromosom bakteri yang mengalami perubahan reseptor P12 pada ribosom 30S. Resistensi ditimbulkan oleh adanya plasmid-perantara yang menyebabkan perusakan antibiotik oleh enzim yang dihasilkan. Menurut Joung *et al.* (2000), adanya gen *aadA* pada *E. coli* yang telah bermutasi, menyebabkan bakteri ini dapat bertahan dengan perlakuan streptomycin.

Berdasarkan Tabel 3, diperoleh isolat – isolat *Streptomyces* yang memiliki kemampuan paling tinggi dalam menghambat strain EHEC, ETEC, EIEC, EPEC dan DAEC berturut - turut adalah *Streptomyces* PK5 ($48,67 \pm 0,58$ mm), *Streptomyces* GAA4 ($29,00 \pm 2,00$ mm), *Streptomyces* GBK3 ($42,67 \pm 2,08$ mm), *Streptomyces* SkBB5 ($29,00 \pm 2,65$ mm) dan *Streptomyces* GM3 ($33,67 \pm 3,21$ mm). Daya hambat yang dihasilkan oleh isolat *Streptomyces* GAA4, *Streptomyces* GBK3 dan *Streptomyces* PK5 masing- masing pada strain EHEC, ETEC, EIEC, lebih besar dan berbeda sangat nyata dengan masing - masing kontrol. Besarnya zona hambat melebihi kontrol tersebut menunjukkan adanya potensi dari isolat tersebut untuk diteliti dan dikembangkan lebih lanjut untuk diisolasi senyawa metabolit sekunder berupa antibiotik yang dihasilkan sehingga diharapkan dapat memberikan solusi untuk masalah resistensi.

Adanya variasi besarnya zona hambat yang diperoleh dalam penelitian disebabkan oleh perbedaan sifat dari bakteri uji yang digunakan baik secara morfologi

dan fisiologi (Glazer and Nikaido, 1998 ; dan Paradkar *et al.*, 2001). Selain itu, juga disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing- masing isolat *Streptomyces*, memiliki struktur kimia, komposisi dan kandungan/konsentrasi yang berbeda dengan antibiotik kontrol. Menurut Jawetz *et al.* (1992) dan Pelczar Jr. *et al.* (1993) adanya perbedaan jenis antibiotik dengan bermacam-macam struktur

kimia yang ditemukan dapat mempengaruhi mekanisme dan letak kerjanya pada bakteri.

Menurut Jawetz *et al.* (1996) mekanisme terpenting dari kerja antibiotik terhadap sel bakteri adalah menghambat sintesa protein dan asam nukleat. Selain mekanisme tersebut aktivitas antibiotik juga meliputi perusakan dan penghambatan pembentukan dinding sel, perubahan permeabilitas sel target dan penghambatan kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan Tabel 3, diperoleh beberapa isolat yang hanya mampu menghambat satu strain *E. coli* dari lima keseluruhan, seperti *Streptomyces* SaNP3 dan SGH1 yang hanya mampu menghasilkan zona hambat pada pengujian terhadap strain DAEC. Menurut Joung *et al.* (2000), senyawa antimikrobal memiliki mekanisme tertentu dalam menghambat bakteri patogen sebagai sel target dimana senyawa ini akan mengenali reseptor khusus dalam sel target untuk kemudian melakukan penetrasi selanjutnya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh *Streptomyces* SaNP3 dan SGH1 kemungkinan memiliki reseptor khusus yang hanya dimiliki oleh sel target (DAEC) dan tidak dimiliki oleh empat strain lainnya. Untuk memastikan hal ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Pada Tabel 3 juga ditunjukkan bahwa terdapat beberapa isolat *Streptomyces* yang tidak mampu menghambat kelima strain *E. coli*. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sifat dari kelima strain tersebut yang telah resisten terhadap metabolit sekunder antibiotik yang dihasilkan oleh isolat *Streptomyces* SGH3, SuNP5 dan SuNP4 seperti beberapa jenis obat-obatan Menurut Alcamo (1997), beberapa bakteri Gram negatif termasuk *E. coli* diketahui telah resisten terhadap banyak obat-obatan yang diturunkan secara genetik oleh plasmid perantara diantara bakteri usus. Brook dkk. (2001) menyatakan penurunan sifat resistensi tersebut terjadi karena adanya transfer faktor R (*Resistance*) dalam plasmid. Selain itu, tidak adanya zona hambat disebabkan karena isolat tersebut tidak memproduksi antibiotik ataupun antibiotik yang diproduksi tidak dapat bekerja pada *E. coli* karena ketidakterediaan reseptor dalam sel target.

SIMPULAN

Pada sepuluh kawasan hutan Provinsi Bali ditemukan 55 isolat *Streptomyces* dengan keanekaragaman yang cukup tinggi satu sama lain. *Streptomyces* yang memiliki kemampuan paling tinggi dalam menghambat strain EHEC, ETEC, EIEC, EPEC dan DAEC berturut-turut adalah *Streptomyces* PK5 ($48,67 \pm 0,58$ mm), *Streptomyces* GAA4 ($29,00 \pm 2,00$ mm), *Streptomyces* GBK3 ($42,67 \pm 2,08$ mm), *Streptomyces* SkBB5 ($29,00 \pm 2,65$ mm) dan *Streptomyces* GM3 ($33,67 \pm 3,21$ mm).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis dan cara ekstraksi senyawa metabolit sekunder berupa antibiotik yang dihasilkan oleh isolat *Streptomyces* yang dalam penelitian ini berpotensi untuk mengatasi resistensi bakteri khususnya *diarrheagenic Escherichia coli* terhadap antibiotik yang sering digunakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterimakasih kepada Drs. I.B.G. Darmayasa, M.Si dan Drs. I Ketut Sundra, M.Sc atas saran yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan. Terimakasih juga kepada Kepala Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (DIKTI) Dinas Pendidikan Nasional yang telah membiayai keseluruhan penelitian ini melalui program PKM 2008. Selain itu ucapan terima kasih diberikan kepada Ir. Ida Ayu Astarini M.Sc., Ph.D. dan Dr. Ir. Made Pharmawati, M.Sc. yang telah memberikan masukan dalam penyelesaian naskah ini.

KEPUSTAKAAN

- Alcamo, L.E. 1997. *Fundamentals of Microbiology*. Fifth Edition. Wesley Longman Inc.: New York.
- Borodina, I., P. Krabben and J. Nielsen. 2005. Genome-scale Analysis of *Streptomyces coelicolor* A3(2) Metabolism. Available at : <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.3364705>. Opened : 14/08/2007.
- Brooks, G.F., J.S. Butel dan S.A. Morse. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Pertama. Salemba Medika : Jakarta.
- Di Salvo, A. 2002. Actinomycetes. Available at : <http://www.mirror.internux.co.id/med.sc.edu.85/mycology/mi->

[cology-2.htm](#). Opened : 14/08/2007.

- Glazer, A.N. and Nikaido, H. (1998). In: *Microbial Biotechnology-fundamentals of Applied Microbiology*, W.H. Freeman and Company : New York, USA.
- Jawetz, E., J.L. Melnick dan E.A. Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Cetakan Pertama. Edisi ke-20. Penerjemah : Dr. Edi Nugroho dan R.F. Maulang. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Joung, J. K., E. I. Ramm and C. O. Pabo (2000). A bacterial two-hybrid selection system for studying protein-DNA and protein-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(13): 7382-7.
- Kim, S. B., and M. Goodfellow. 2001. *Streptomyces avermitilis* sp. nov., nom. rev., a taxonomic home for the avermectin-producing streptomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* vol. 52 : Newcastle.
- Lay, B.W., dan S. Hastowo. 1994. *Mikrobiologi*. Bioteknologi Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Lestari, Y. 2001. Ekologi dan Keragaman Hayati Bakteri Penghasilnya. Dalam *Pelatihan Mikrobiologi Dosen – Dosen Perguruan Tinggi Negeri Se-Jawa dan Bali*. Jurusan Biologi FMIPA-IPB Dirjen Perguruan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.
- Nataro, J.P., and J.B. Kaper. 1998. *Diarrheagenic Escherichia coli*. Center for Vaccine Development, Departments of Medicine, Pediatrics, and Microbiology & Immunology, University of Maryland School of Medicine : Baltimore, Maryland
- Paradkar, A., Mosher, R.H., Anders, C., Griffin, A., Griffin, J., Hughes, C., Greaves, P., Barton, B. and Jensen, S.E. 2001. Applications of Gene Replacement Technology to *Streptomyces clavuligerus* strain Development for Clavulanic Acid Production. *App Env Microbiol* 67: 2292-2297.
- Paustian, T. 1999. *Microbiology and Bacteriologi*. The World of Microbes *Streptomyces*. Available at : <http://www.bact.wisc.edu/Microtextbook/index.php> Opened : 14/08/2007
- Pelczar Jr., M.J., E.C.S. Chan and N.R. Krieg. 1993. *Microbiology Concepts and Applications*. McGraw-Hill Higher Education : New York.
- Scheaffer, A.L., and W. Mendelall. 1990. *Elementary Survey Sampling 4th Edition*. PWS-Kent Publishing Corporation : Boston.

LAMPIRAN

Tabel 1. Jumlah isolat *Streptomyces* hasil isolasi pada setiap lokasi pengambilan sampel

No.	Lokasi	Jumlah Isolat
1	Hutan Wisata Monkey Forest Ubud - Kabupaten Gianyar.	6
2	RTK 8 (Hutan Gunung Agung Abang - Kabupaten Karangasem)	7
3	RTK 4 (Hutan Gunung Batukaru - Kabupaten Buleleng, Badung dan Tabanan)	7
4	RTK 2 (Hutan Gunung Mungsu - Kabupaten Buleleng)	3
5	RTK 5 (Hutan Munduk Pengejaran - Kabupaten Bangli)	5
6	RTK 20 (Hutan Penulisan Kintamani - Kabupaten Bangli)	8
7	RTK 28 (Hutan Suana Nusa Penida - Kabupaten Klungkung)	5
8	RTK 21 (Hutan Sangeh - Kabupaten Badung)	3
9	RTK 29 (Hutan Sakti Nusa Penida - Kabupaten Klungkung)	4
10	RTK 19 (Hutan Bali Barat - Kabupaten Jembrana dan Buleleng)	7
Total		55

Tabel 2. Karakter makroskopis dan mikroskopis isolat *Streptomyces* spp. pada setiap lokasi

Karakter Isolat	Kode Isolat <i>Streptomyces</i>									
	MFG	GAA	GBK	GM	MP	PK	SaNP1	SGH	SuNP	SkBB
I. Karakteristik Makroskopis										
A. Warna Koloni										
1. Coklat muda	1, 2, 5		1, 5	2, 3	2, 3	4, 7	1, 2, 3	3	1, 5	3, 6
2. Coklat		2, 3	4	1			4	2	2, 3	
3. Hijau kekuningan	3		2, 6, 7							
4. Hijau		6				8			4 (kecoklatan)	
5. Putih padat	4	4, 5, 7	3			2, 3		1		5, 7
6. Putih berbulu		1			1 (tepi hitam), 4 (pucat), 5	1, 5, 6 (tepi hitam)				
7. Hitam										2
8. Jingga kecoklatan										1
9. Abu-abu										4
B. Pigmentasi										
1. Merah	1, 3, 4, 6	1, 4, 5, 6, 7	2, 3, 4, 6, 7	1	4, 5	2, 3, 4, 7, 8		1	1, 2	1, 2, 3, 5, 7
2. Coklat	2, 5	2, 3	1, 5	2, 3	1, 2, 3	1, 5, 6	1, 2, 3, 4	2, 3	3, 4, 5	4, 6
C. Topografi Permukaan										
1. Bertepung	2, 4	4, 5, 7	3, 5	1	2	2, 3, 4, 7		1		5, 7
2. Serat menjulang ke atas	3		1, 2, 6, 7				2		4	
3. Bulu-bulu tipis	1, 5, 6	1, 2, 3, 6	4	2, 3	1, 3, 4, 5	1, 5, 6, 8	1, 3, 4	2, 3	1, 2, 3, 5	1, 2, 3, 4, 6
D. Bentuk Permukaan										
1. Cembung	1, 2, 5	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	3, 4, 5	1, 2, 3	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8	1, 3, 4	1, 2, 3	1, 2, 3, 5	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
2. Tidak beraturan	3, 6		1, 2, 6, 7			6	2		4	
3. Rata	4									
E. Lain-lain										
1. Serabut halus sekitar koloni	2	1, 2, 3, 6	5		3, 4			3		1
2. Bagian tepi terpisah	4	4, 5	3					1		5, 7
II. Karakteristik Mikroskopis										
A. Hifa										
1. Lurus	1, 2, 4, 5	1, 2, 6	1, 2, 3, 5, 7	1, 2, 3	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 4, 5, 6, 8	1, 2, 3, 4	2, 3	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 4, 6
2. Bergelombang	1, 3	1, 2, 3, 5, 6, 7	1, 5, 6, 7	2, 3	2, 3	3, 4, 5, 8	1, 2, 3, 4	3	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
3. Spiral	5, 6	3, 4, 5, 7	4			1, 2, 3, 4, 7		1		3, 5, 7
B. Spora										
1. Lurus	1, 2, 3, 4	1, 6, 7	2, 5, 7	2, 3	1, 2, 3, 4, 5	2, 4, 6, 8	1, 2, 4	1, 2, 3	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 6, 7
2. Bergelombang	4, 6	1, 3, 5, 7	1, 2, 3, 6, 7	1, 2	2, 3	1, 3, 4, 5, 6, 8	1, 2, 3	1, 3	2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
3. Spiral	4	2, 3, 4, 6	1, 3, 4, 6	1		1, 2, 3, 4, 5, 7	3		2, 4, 5	2, 3, 5, 7

Keterangan : Penentuan karakter makroskopis dan mikroskopis, mengikuti sebagian besar pola Kim and Goodfellow (2002).

MFG = Monkey Forest Gianyar, GM = Gunung Mungsu, SaNP = Sakti Nusa Penida, SkBB = Sumberklampok Bali Barat, GAA = Gunung Abang Agung, MP = Munduk Pengejaran, SGH = Sangeh, GBK = Gunung Batukatu, PK = Penulisan Kintamani, SuNP = Suana Nusa Penida

Tabel 3 Hasil Uji Daya Hambat Isolat *Streptomyces* spp. terhadap lima strain *diarrheagenic Escherichia coli*

No	Perlakuan	Rata - Rata Zona Hambat (mm)				
		EHEC	ETEC	EIEC	EPEC	DAEC
1	Kontrol	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	28,00 ± 1,00 ^{ghijk}	39,67 ± 1,53 ^l	38,33 ± 2,08 ^j
2	GBK1	28,33 ± 0,58 ^{qrs}	13,33 ± 1,53 ^{bcd}	35,33 ± 1,53 ^{opqrs}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
3	GBK2	27,00 ± 0,00 ^{opqr}	23,33 ± 2,08 ^{kl}	36,67 ± 1,53 ^{pqrst}	00,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 3,46 ^{ab}
4	GBK3	25,00 ± 1,00 ^{lmno}	18,00 ± 1,00 ^{ghi}	42,67 ± 2,08 ^w	13,33 ± 6,81 ^{cd}	12,33 ± 2,31 ^{defg}
5	GBK4	32,00 ± 0,00 ^t	23,33 ± 0,58 ^{kl}	34,00 ± 2,00 ^{nopq}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
6	GBK5	26,00 ± 1,00 ^{nopq}	25,00 ± 1,00 ^l	29,00 ± 2,00 ^{hijkl}	19,33 ± 2,08 ^{fg}	00,00 ± 0,00 ^a
7	GBK6	2,33 ± 4,04 ^a	12,00 ± 1,00 ^{bc}	00,00 ± 0,00 ^a	8,33 ± 0,58 ^b	00,00 ± 0,00 ^a
8	GBK7	28,33 ± 2,52 ^{qrs}	14,33 ± 1,53 ^{bcdef}	39,00 ± 1,00 ^{stuv}	15,33 ± 4,16 ^{de}	15,33 ± 4,04 ^{fgh}
9	MFG1	24,33 ± 3,51 ^{klmno}	17,33 ± 1,53 ^{efgh}	29,00 ± 1,00 ^{hijkl}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
10	MFG2	24,00 ± 1,00 ^{ijklmn}	23,00 ± 3,61 ^{kl}	28,00 ± 1,00 ^{ghijk}	00,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,00 ^{abcde}
11	MFG3	19,33 ± 1,53 ^{fg}	00,00 ± 0,00 ^a	26,67 ± 1,53 ^{efghij}	00,00 ± 0,00 ^a	7,67 ± 1,15 ^{bcd}
12	MFG4	25,00 ± 2,00 ^{lmno}	00,00 ± 0,00 ^a	30,67 ± 3,21 ^{klmn}	12,33 ± 0,58 ^{cd}	18,00 ± 2,00 ^{gh}
13	MFG5	12,33 ± 0,58 ^{bc}	00,00 ± 0,00 ^a	28,00 ± 1,00 ^{ghijk}	25,67 ± 3,21 ^h	9,67 ± 16,74 ^{cdef}
14	MFG6	28,00 ± 1,00 ^{pqrs}	18,33 ± 3,06 ^{ghi}	29,00 ± 1,73 ^{hijkl}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
15	GAA1	28,67 ± 0,58 ^{qrs}	17,67 ± 3,79 ^{fghi}	30,00 ± 4,36 ^{klmn}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
16	GAA2	17,67 ± 0,58 ^{ef}	25,33 ± 3,06 ^l	24,33 ± 1,53 ^{efg}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
17	GAA3	14,00 ± 1,00 ^{cd}	00,00 ± 0,00 ^a	26,00 ± 1,00 ^{efghi}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
18	GAA4	30,33 ± 4,51 st	29,00 ± 2,00 ^m	30,00 ± 1,00 ^{ijklm}	20,00 ± 5,00 ^g	18,33 ± 2,89 ^{gh}
19	GAA5	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	10,67 ± 4,04 ^{bc}	16,00 ± 4,36 ^{fgh}
20	GAA6	21,33 ± 2,08 ^{ghij}	16,67 ± 2,08 ^{defgh}	25,67 ± 1,53 ^{efgh}	00,00 ± 0,00 ^a	14,67 ± 2,31 ^{fgh}
21	GAA7	21,00 ± 1,00 ^{ghij}	14,33 ± 0,58 ^{bcdef}	36,00 ± 1,00 ^{pqrst}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
22	GM1	25,33 ± 0,58 ^{mnp}	20,00 ± 1,00 ^{hij}	39,00 ± 1,00 ^{stuv}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
23	GM2	19,33 ± 0,58 ^{fg}	14,00 ± 1,00 ^{bcde}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
24	GM3	18,00 ± 1,00 ^{ef}	18,67 ± 1,52 ^{ghi}	32,00 ± 3,61 ^{lmno}	00,00 ± 0,00 ^a	33,67 ± 3,21 ⁱ
25	MP1	22,00 ± 1,00 ^{ghijk}	13,00 ± 2,00 ^{bc}	29,33 ± 1,53 ^{hijkl}	00,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^{abcd}
26	MP2	23,33 ± 0,58 ^{ijklmn}	14,00 ± 1,00 ^{bcde}	29,67 ± 2,52 ^{ijklm}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
27	MP3	29,67 ± 1,15 ^{rst}	22,67 ± 2,08 ^{kl}	26,00 ± 1,00 ^{efghi}	00,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^{abcd}
28	MP4	19,33 ± 1,53 ^{fg}	11,33 ± 0,58 ^b	23,67 ± 2,52 ^{def}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
29	MP5	21,00 ± 1,00 ^{ghij}	15,33 ± 2,52 ^{cdefg}	25,67 ± 3,51 ^{efgh}	00,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 6,93 ^{abc}
30	PK1	16,33 ± 0,58 ^{de}	00,00 ± 0,00 ^a	39,33 ± 2,08 ^{tuvvw}	00,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^{abcd}
31	PK2	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	14,33 ± 3,21 ^{de}	20,00 ± 3,00 ^h
32	PK3	40,00 ± 1,00 ^v	18,00 ± 2,65 ^{ghi}	40,33 ± 0,58 ^{uvw}	00,00 ± 0,00 ^a	17,67 ± 1,53 ^{gh}
33	PK4	36,33 ± 0,58 ^u	24,00 ± 1,00 ^{kl}	32,00 ± 1,00 ^{lmno}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
34	PK5	48,67 ± 0,58 ^w	24,00 ± 2,65 ^{kl}	42,33 ± 2,08 ^{vw}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
35	PK6	27,00 ± 1,00 ^{opqr}	00,00 ± 0,00 ^a	26,00 ± 1,00 ^{efghi}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
36	PK7	26,00 ± 1,00 ^{nopq}	24,00 ± 1,00 ^{kl}	31,00 ± 1,00 ^{klmn}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
37	PK8	23,00 ± 1,00 ^{ijklm}	17,00 ± 2,00 ^{efgh}	29,33 ± 4,51 ^{hijkl}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
38	SGH 1	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	12,67 ± 2,52 ^{efg}
39	SGH 2	16,33 ± 1,53 ^{de}	00,00 ± 0,00 ^a	15,00 ± 1,00 ^b	00,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 3,46 ^{ab}
40	SGH 3	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
41	SaNP1	26,00 ± 1,00 ^{nopq}	23,33 ± 1,53 ^{kl}	29,33 ± 1,53 ^{hijkl}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
42	SaNP2	27,00 ± 1,00 ^{opqr}	15,33 ± 3,51 ^{cdefg}	27,33 ± 4,16 ^{fghijk}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
43	SaNP3	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	7,67 ± 13,28 ^{bcd}
44	SaNP4	00,00 ± 0,00 ^a	2,33 ± 4,04 ^a	20,00 ± 3,00 ^c	00,00 ± 0,00 ^a	5,33 ± 4,73 ^{abc}
45	SuNP1	25,00 ± 1,00 ^{lmno}	23,00 ± 2,00 ^{kl}	37,67 ± 2,52 ^{qrst}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
46	SuNP2	32,33 ± 3,21 ^t	24,67 ± 4,04 ^{ijk}	35,00 ± 1,00 ^{opqrs}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
47	SuNP3	22,33 ± 2,89 ^{hijkl}	19,33 ± 2,52 ^{hi}	33,33 ± 1,53 ^{mnp}	00,00 ± 0,00 ^a	2,33 ± 4,04 ^{ab}
48	SuNP4	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
49	SuNP5	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
50	SkBB1	11,33 ± 0,58 ^b	12,00 ± 1,00 ^{bc}	28,00 ± 1,00 ^{ghijk}	00,00 ± 0,00 ^a	15,33 ± 3,06 ^{fgh}
51	SkBB2	21,33 ± 0,58 ^{ghij}	21,00 ± 1,00 ^l	38,33 ± 1,15 ^{rstu}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
52	SkBB3	24,33 ± 0,58 ^{kl}	11,67 ± 2,08 ^b	20,33 ± 1,53 ^{bcd}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
53	SkBB4	35,00 ± 1,00 ^u	15,33 ± 1,53 ^{cdefgh}	27,33 ± 2,52 ^{fghijk}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
54	SkBB5	30,67 ± 3,51 st	24,33 ± 0,58 ^{lm}	35,33 ± 4,04 ^{opqrs}	29,00 ± 2,65 ⁱ	19,33 ± 4,51 ^h
55	SkBB6	21,00 ± 2,00 ^{ghi}	25,67 ± 1,53 ^m	23,00 ± 2,65 ^{cde}	00,00 ± 0,00 ^a	00,00 ± 0,00 ^a
56	SkBB7	19,67 ± 1,15 ^{fgh}	25,67 ± 4,16 ^m	26,33 ± 3,06 ^{efghij}	16,67 ± 5,03 ^{ef}	20,00 ± 1,00 ^h

Keterangan : Penentuan huruf dilakukan dengan menggunakan uji Duncan (α = 0,05). Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan korelasi rata-rata zona hambat yang tidak berbeda nyata, sedangkan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan daya hambat yang berbeda nyata. Huruf yang terdapat pada kolom zona hambat yang berbeda tidak memiliki korelasi satu dengan yang lain.