

KEANEKARAGAMAN ISOLAT ACTINOMYCETES PENGHASIL ZAT ANTIBAKTERI DARI RIZOSFER PADI (*Oriza sativa*)



AMBARWATI¹, TANTI AZIZAH S², LANGKAH SEMBIRING³
DAN SUBAGUS WAHYUONO⁴

¹ Prodi Kesehatan Masyarakat FIK Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jalan Ahmad Yani, Tromol Pos I, Pabelan, Kartasura, Surakarta

² Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

³ Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

⁴ Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Abstrak - Indonesia menempati urutan tinggi dalam hal penyakit infeksi. Semetara itu, banyak bakteri yang telah mengalami resistensi terhadap antibiotik yang biasa digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi. Hal ini mendorong peneliti untuk menemukan antibiotik baru dari Actinomycetes yang diindikasikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik terbanyak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi Actinomycetes dari rizosfer padi (*Oriza sativa*) yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri. Penelitian ini menghasilkan 18 isolat Actinomycetes, 4 isolat diantaranya mampu menghasilkan zat antibakteri. Keempat isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter daerah hambatan 11 mm (RPR 8), 18 mm (RPR 15), 16 mm (NRPR 6), serta 21 mm (NRPR 46), namun demikian tidak ada satupun isolat yang mampu menghambat *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer padi berpotensi menghasilkan zat antibakteri.

Kata Kunci : Actinomycetes, Rizosfer Padi, Zat Antibakteri, *B. Subtilis* dan *E. coli*

PENDAHULUAN

Indonesia menempati urutan tinggi dalam hal penyakit infeksi. Sutriyanto (2011) melaporkan bahwa penyakit TBC di Indonesia menempati urutan tertinggi ke-3 di dunia selama 10 tahun ini dan baru pada tahun 2011 turun menjadi peringkat ke-5. Semetara itu, banyak bakteri yang telah mengalami resistensi terhadap antibiotik yang biasa digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi. Berdasarkan hasil penelitian Sudiyo, *et al* (2008) diketahui selama kurun waktu dua tahun hampir semua *S. aureus* resisten terhadap Penisilin dan terdapat peningkatan isolat *P. aeruginosa* yang resisten terhadap Ciprofloxacin. Hasil penelitian Kumala, *et al* (2010) menyimpulkan bahwa 75,9% *Klebsiella pneumoniae*, penyebab penyakit pneumonia telah resisten terhadap Tikarsilin. Hal ini mendorong peneliti untuk menemukan antibiotik baru dari bakteri (Suarsana *et al.*, 2001) dari fungi (Worang, 2003, Prihatiningtias *et al.*, 2005) dan dari Actinomycetes (Oskay *et al.*, 2004, Nediaikova & Naidenova, 2005, Lestari, 2006).

Saat ini banyak penelitian yang difokuskan pada kelas Actinomycetes, yang diindikasikan sebagai

bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik terbanyak. Sekitar 70% di antara antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh *Streptomyces* (Suwandi, 1993). Populasi *Streptomyces* pada tanah mencapai 70% (Rao, 2001), sedangkan populasi Actinomycetes pada tanah yang subur mencapai 700.000 (Budiyatno, 2004). Pada umumnya mikroorganisme yang hidup di wilayah rizosfer lebih banyak dari pada di tanah yang bukan rizosfer (Rao, 2001). Banyaknya mikroorganisme termasuk Actinomycetes pada rizosfer ini disebabkan karena akar tanaman mempunyai kemampuan mengeluarkan eksudat. Eksudat mengandung berbagai macam asam amino (Widayati, 2005), vitamin dan zat organik lainnya (Budiyatno, 2004) yang berguna sebagai sumber energi bagi mikroorganisme yang hidup di sekitar perakaran tersebut.

Penelitian Ambarwati, *et al* (2010) berhasil mengisolasi *Streptomyces* dari rizosfer jagung (*Zea mays*) dan berhasil menemukan 23 isolat, 10 isolat diantaranya mampu menghambat bakteri gram positif dan satu isolat (RNJ14) mampu menghambat *S. aureus* dengan kuat (32,33 mm). Penelitian lainnya dari Ambarwati, *et al* (2012) telah menemukan 12

isolat *Streptomyces* yang diisolasi dari rizosfer dan non rizosfer rumput teki yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik, diketahui pula ada dua isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* FNCC 0060 dengan kuat, yaitu isolat SNR19 dengan diameter daerah hambatan sebesar 31,33 mm dan isolat RNR25 sebesar 33,33 mm.

Padi merupakan tanaman budidaya terbesar di Indonesia, hal ini disebabkan karena sebagian besar penduduk Indonesia, yaitu mencapai 95% mengkonsumsi beras sebagai makanan pokok. Oleh karena itu perlu kiranya dilakukan penelitian untuk mengisolasi actinomycetes dari rizosfer padi, hal ini dikarenakan jika dari rizosfer Padi ditemukan isolat Actinomycetes yang berpotensi menghasilkan antibakteri dengan spektrum luas, maka dimungkinkan isdat tersebut dapat difungsikan sebagai pestisida untuk mengendalikan bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi Actinomycetes dari rizosfer Padi yang berpotensi menghasilkan zat antibakteri.

METODE

Jenis Penelitian dan Sampel tanah

Jenis penelitian ini adalah eksplorasi dengan pemeriksaan laboratorium. Sampel tanah diambil dari rizosfer Padi di lima titik yang berbeda di sawah Rojoniten, Ngemplak Boti, Kartasura, Sukoharjo.

Isolasi dan Purifikasi

Dilakukan pengenceran dari sampel sampai 10^{-5} . Dari tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} diambil 0,1 ml dan diinokulasikan secara *surface plate* pada media Starch-casein Agar dan media Raffinosa-histidin Agar. Media yang telah diinokulasi diinkubasikan pada suhu 25°C selama empat hari sampai dua minggu (Sembiring *et al.*, 2000). Dari koloni yang menunjukkan kenampakan berbeda dipurifikasi pada media Starch-casein Agar.

Pewarnaan Gram

Dari hasil purifikasi dilakukan pewarnaan gram yang dilakukan berdasarkan prosedur Prescott *et al.*, (1999).

Uji Potensi Isolat sebagai Penghasil Antibiotik

Isolat-isolat yang telah dipurifikasi diuji cobakan pada bakteri uji, yaitu *E. coli* sebagai wakil bakteri gram negatif serta *B. subtilis* sebagai wakil bakteri gram positif. Media yang digunakan *Nutrient Agar* (oxoid) dengan metode agar blok Nedialkova dan Naidenova (2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan media isolasi yang selektif untuk menumbuhkan Actinomycetes, Raffinosa-histidin Agar (RhA). Raffinosa dapat digunakan oleh Actinomycetes sebagai sumber karbon (Antonova-Nikolova *et al.*, 2005; Korn-Wendisch dan Kutzner, 1992). Untuk mencegah pertumbuhan bakteri lain, maka suspensi sampel

tanah dipanaskan dulu pada suhu 50°C selama 10 menit (Sembiring, 2002). Selain itu untuk mencegah pertumbuhan kapang maka ditambahkan cyclohexamide yang berfungsi mencegah pertumbuhan fungi (Korn-Wendisch dan Kutzner, 1992; Sembiring, 2000). Hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya kerancuan, karena secara morfologi Actinomycetes mirip dengan fungi, yaitu sama-sama memiliki miselium.

Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi diperoleh sebanyak 18 isolat. Selanjutnya pada isolat-isolat tersebut dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi selnya dan uji dilakukan antibakteri. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *E. Coli* sebagai wakil bakteri gram negatif dan *B. subtilis* sebagai wakil bakteri gram positif.

Berdasarkan Tabel 1. Dapat diketahui bahwa dari 18 isolat, empat isolat diantaranya mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Keempat isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter daerah hambatan 11 mm (RPR 8), 18 mm (RPR 15), 16 mm (NRPR 6) serta 21 mm (NRPR 46). Namun demikian dari keempat isolat yang menghasilkan zat antibakteri tidak satupun isolat yang mampu menghambat *Eschericia coli* (bakteri gram negatif). Dengan demikian keempat isolat tersebut berpotensi sebagai penghasil zat antibakteri.

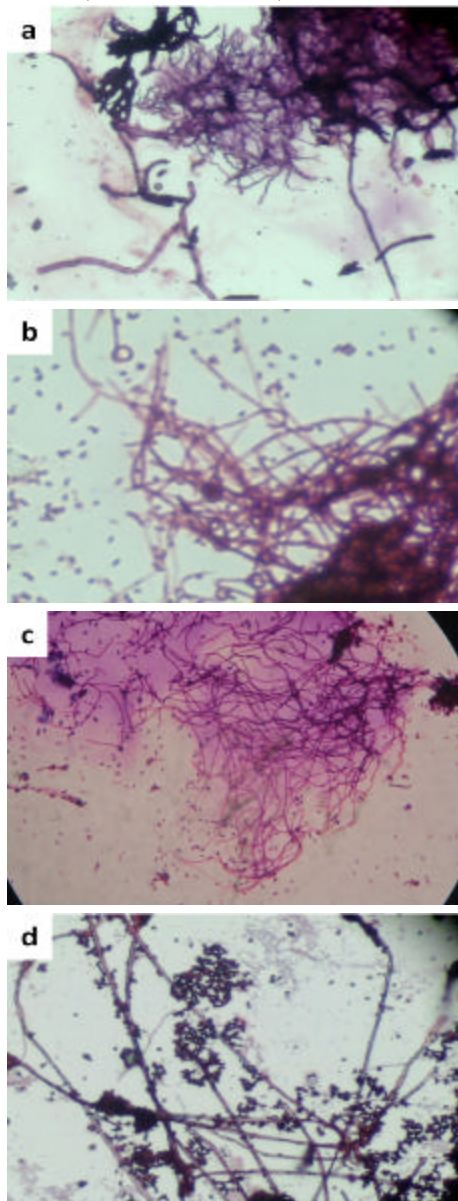
Berdasarkan ciri koloninya yang kering, dan hasil pewarnaan gram (Gambar 1) yang menunjukkan morfologi batang bercabang, warna ungu dan termasuk bakteri gram positif, maka keempat isolat tersebut dapat dikategorikan sebagai anggota dari Actinomycetes. Menurut Nedialkova dan Naidenova (2005), bila diameter daerah hambatan sebesar 7 – 15 mm maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, 16 – 25 mm dikategorikan sedang, dan lebih dari 25 mm dikategorikan kuat. Oleh karena itu tiga isolat tersebut tingkat penghambatannya terhadap *B. subtilis* dikategorikan sedang (RPR 15, NRPR 6, dan NRPR 46). Sedangkan RPR 8 dapat menghambat *B. subtilis* dengan kategori lemah.

Berdasarkan hasil penelitian Ambarwati (2007) yang mengisolasi Actinomycetes dari rizosfer putri malu, telah diperoleh empat isolat yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri, yaitu isolat PM1e yang mampu menghambat *E. coli* = 17 mm (sedang) dan *S. aureus* = 16 mm (sedang), isolat PM24 dan PM1d yang hanya mampu menghambat *S. aureus* = 11 mm (sedang) dan 10 mm (sedang) serta isolat PM12 yang hanya mampu menghambat *E. coli* = 12 mm (sedang). Bila dibandingkan dengan hasil tersebut di atas maka dari segi spektrum kerjanya, isolat dari rizosfer putri malu lebih luas spektrum kerjanya karena isolat yang ditemukan rata-rata dapat menghambat bakteri uji baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif, namun dari segi besarnya hamatan isolat dari rizosfer padi lebih baik karena

ada yang dapat menghambat *B. Subtilis* dengan kategori sedang (18 mm dan 21 mm).

Menurut Mutschler (1991), mekanisme kerja antibakteri yang dihasilkan oleh Actinomycetes adalah dengan menghambat sintesis protein. Menurut Suwandi (1993) antibakteri yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein akan mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat. Namun demikian, dari segi sifat toksisitas selektif, antibiotik jenis ini mempunyai toksisitas selektif relatif rendah. Hal ini disebabkan karena pada sel hospes juga terjadi sintesis protein, sehingga antibiotik tersebut juga dimungkinkan dapat mempengaruhi sintesis protein pada sel hospes.

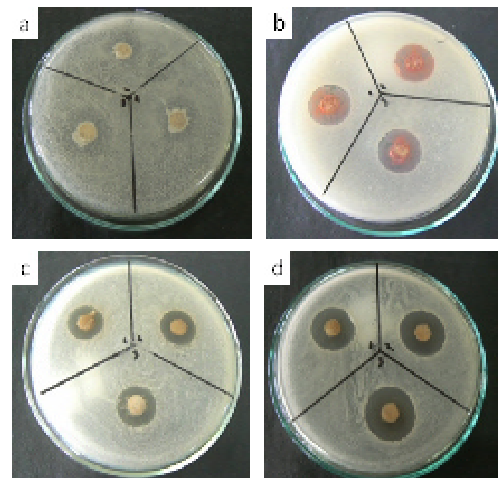
Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram. a. Isolat RPR8; b. Isolat RPR 15; c. Isolat NRPR6; d. Isolat NRPR46



Tabel 2. Hasil Uji Potensi Isolat Sebagai Penghasil Antibiotik

No	Kode Isolat	Diameter Daerah Hambatan (mm) Yang Dihasilkan oleh Isolat Terhadap Bakteri Uji	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1	RPR 3	0,00	0,00
2	RPR 6	0,00	0,00
3	RPR 8	0,00	11,00
4	RPR 9	0,00	0,00
5	RPR 10	0,00	0,00
6	RPR 15	0,00	18,00
7	RPR 24	0,00	0,00
8	RPR 25	0,00	0,00
9	RPR 28	0,00	0,00
10	RPR 35	0,00	0,00
11	RPR 36	0,00	0,00
12	RPR 38	0,00	0,00
13	RPR 40	0,00	0,00
14	RPR 42	0,00	0,00
15	RPR 46	0,00	0,00
16	RPR 48	0,00	0,00
17	NRPR 6	0,00	16,00
18	NRPR 46	0,00	21,00

Gambar 2. Penghambatan Isolat Terhadap Bakteri Uji. a. Penghambatan Isolat RPR8 terhadap *B. subtilis*; b. Penghambatan Isolat RPR15 terhadap *B. subtilis*; c. Penghambatan Isolat NRPR6 terhadap *B. subtilis*; d. Penghambatan Isolat NRPR46 terhadap *B. subtilis*



KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa dari rizosfer Padi dapat ditemukan isolat Actinomycetes yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri yang dapat menghambat *B. subtilis* dengan kategori lemah dan sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan bagian kecil dari penelitian Skim Hibah Pekerti. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada DKTI lewat Kopertis wilayah VI Jateng yang telah mendanai penelitian ini dengan SK No. 007/O06.2/PP/SP/2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, 2007. Kajian Actinomycetes yang Berpotensi Menghasilkan Antibiotik dari Rhizosfer Putri Malu dan Kucing-Kucingan. *Jurnal Sains & Teknologi*, Vol 8, No. 1, April 2007.
- Ambarwati, C.J. Soegihardjo dan Sembiring L, 2010. Isolasi dan Identifikasi Streptomycetes dari Rizosfer Jagung (*Zea mays*L.) yang Berpotensi sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Biota*. ISSN 0853-8670. *Terakreditasi Dikti* Vo. 15, No. 1, Februari 2010
- Ambarwati, Sembiring L dan C.J. Soegihardjo, 2012. Antibiotic Produced by Streptomycetes Associated with Rhizosphere of Purple Nut Sedge (*Cyperus rotundus* L.) in Surakarta, Indonesia. *African Journal of Microbiology Research*. 6 (1), 9 February 2012
- Antonova-Nikolova, S., Tzekova, N., and Yocheva, L. 2005. Taxonomy of *Streptomyces* sp. Strain 3B, *Journal of Culture Collection*, 4 : 36-42.
- Budyanto, M. A. K. 2004. *Mikrobiologi Terapan*. UMM Press, Malang.
- Kom-Wendisch, F., and Kutzner, H. J. 1992. The Family Streptomycetaceae. In *The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria : Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*. Second Edition. (A. Balows, H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, & Karl-Heinz Schleifer. Eds). Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, & Budapest.
- Kumala S., Pasanema, D., A., M., dan mardiasuti, 2010. Pola Resistensi Antibiotik terhadap Isolat Bakteri Sputum Penderita Tersangka Infeksi Saluran Nafas Bawah. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vo. 5, No. 1 Januari 2010:24-32.
- Lestari, Y. 2006. Identification of Indigenous *Streptomyces* spp. Producing Antibacterial Compounds. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 11 (2) : 99-101.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi Kelima. Alih Bahasa Widiyanto, M. B. & Ranti, A. S. Penerbit ITB, Bandung.
- Nedialkova, D. and Naidenova, M. 2005. Screening the Antimicrobial Activity of *Actinomycetes* Strains Isolated from Antarctica. *Journal of Culture Collections*, 4 : 29-35.
- Oskay, M., Tamer, A. U. & Azeri, C. 2004. Antibacterial Activity of some Actinomycetes Isolated from Farming Soil of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 3(9): 441-446.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., and Klein, D. A. 1999. *Microbiology*. Fourth Edition. WCB McGraw-Hill, Boston.
- Prihatiningtias, W., Widyastuti, S. M. & Wahyuono, S. 2005. Senyawa Antibakteri dari *Thievalia polygonoperda* Fungi Endofit Tumbuhan Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca*. Miers). *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon*, 6(1): 19-22.
- Rao, N. S. S. 2001. *Soil Microbiology*. Fourth Edition of Soil Microorganism and Plant Growth. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA
- Sembiring, L., Ward A. C. and Goodfellow, M. 2000. Selective Isolation and Characterisation of Members of the *Streptomyces violaceusniger* Clade Associated with the Roots of *Paraserianthes falcataria*. *Antonie van Leeuwenhoek Journal* 78 (3-4) : 353-366.
- Sembiring, L. 2002. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi untuk Mahasiswa S2*. Laboratorium Mikrobiologi. Fakultas Biologi. UGM, Yogyakarta.
- Suarsana, I. N., Utama, I. H. dan Suartini, N. G. A. A. 2001. Aktivitas In vitro Senyawa Antimikroba dari *Streptococcus lactis* Jvet 2(1). *Jurnal veteriner* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Bali.
- Sudibyo, E., S., Rohmawati, E., Munira, dan Febriana S., A., 2008. *Berkala Kesehatan Klinik*, Vol. XIV, No. 2, Desember 2008:98-102.
- Sutriyanto, E. 2011. Indonesia Peringkat tertinggi Infeksi. *Tribunnews*, Selasa 20 Desember 2011.
- Suwandi, U. 1993. Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik. *Cermin Dunia Kedokteran* 89 (48).
- Widayati, W. E. 2005. Bakteri Endofit pada Tanaman Tebu (*Solanum officinarum* L.) Identifikasi dan Mekanisme Asosiasi. *Disertasi Program Bioteknologi*. UGM, Yogyakarta.
- Worang, R. L. 2003. Fungi Endofit sebagai Penghasil Antibiotika. *Tesis S2 Fakultas Biologi UGM*, Yogyakarta.