

Aktivitas Antibakteri Actinomycetes yang Diisolasi dari Rizosfer Tanaman Solanaceae

Antibacterial Activity of Actinomycetes Isolated from Solanaceae Plants Rhizosphere

UMI FATMAWATI*, SLAMET SANTOSA, YUDI RINANTO, RIEZKY MAYA PROBOSARI

¹Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret
Jl. Ir. Sutami 36 A Ketingan Surakarta 57126, Telp. 0271-668603

* Korespondensi: umifatmawati84@yahoo.com

(Diterima 18 Desember 2013, disetujui 25 Januari 2014)

ABSTRAK

Actinomycetes merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang telah banyak dimanfaatkan untuk produksi antibiotik serta pengendali hayati untuk hama dan penyakit pada tanaman. Pada umumnya, Actinomycetes banyak terdistribusi di tanah, air, jaringan endofit, dan lingkungan alami yang lain. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui distribusi dan keanekaragaman Actinomycetes yang terdapat pada daerah perakaran pada tanaman *Solanaceae* dan mengetahui jenis isolat *Actinomycetes* yang diisolasi dari daerah perakaran tanaman *Soalaneceae* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Actinomycetes diisolasi dari tujuh sampel tanah rizosfer tanaman *Solanaceae* di wilayah sekitar Surakarta yaitu Selo Boyolali, dan Colomadu Karanganyar, Gondangrejo Karanganyar, Jatipurno Wonogiri, Solo. Isolat *Actinomycetes* dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode *well diffusion* pada media Gliserol-Yeast Ekstrak terhadap empat spesies bakteri patogen *Ralstonia solanacearum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Hasil dari penelitian ini yaitu diperoleh 54 isolat Actinomycetes yang diisolasi dari sampel tanah rizosfer tanaman *Solanaceae*. Isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* (29%), *S. aureus* (24%), *B. subtilis* (14%), dan *E. coli* (7%). Seluruh isolat memiliki kemampuan mendegradasi karbohidrat dan protein.

Kata kunci : Actinomycetes, antibakteri, tanaman *Solanaceae*, *R. solanacearum*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*.

ABSTRACT

Actinomycetes is one type of microorganism that has been widely used for the production of antibiotics as well as a biological control for pests and diseases in plants. In general, many Actinomycetes distributed in soil, water, tissues endophyte, and other natural environments. The study aimed to determine the distribution and diversity of Actinomycetes found in the root zone at *Solanaceae* plants and to know the isolates of Actinomycetes isolated from the root zone of plants *Soalaneceae* could inhibiting the growth of bacteria. Actinomycetes isolated from seven soil samples of *Solanaceae* plants rhizosphere in Selo Boyolali, Colomadu Karanganyar, Gondangrejo Karanganyar, and Wonogiri Jatipurno. The isolates of Actinomycetes tested the antibacterial activity by well diffusion method on media Glycerol-Yeast Extract against four species of pathogenic bacteria *Ralstonia solanacearum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Results showed that there were 54 isolates of Actinomycetes isolated from the soil samples of *Solanaceae* plants rhizosphere. Isolates could inhibit the growth of *R. solanacearum* (29%), *S. aureus* (24%), *B. subtilis* (14%), and *E. coli* (7%). Isolates had the ability to degrade carbohydrate and protein.

Keywords : Actinomycetes, antibacterial, *Solanaceae* plants, *R. solanacearum*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*.

PENDAHULUAN

Actinomycetes adalah organisme prokariotik yang termasuk bakteri gram positif, hidup bebas, saprofit, terdistribusi secara luas di tanah, air, dan membentuk kolonisasi pada jaringan tanaman atau endofit, juga penghasil berbagai senyawa aktif dari hasil metabolisme sekunder. Karakteristik morfologi dari prokaryot ini menyerupai fungi karena memiliki hifa atau filamen namun tidak bersekat, namun mikroba ini termasuk dalam golongan bakteri karena bersifat prokariot dan memiliki kandungan peptidoglikan pada dinding selnya.

Actinomycetes memiliki distribusi pertumbuhan yang luas serta pertumbuhan yang berupa filamen di dalam tanah, koloni di permukaan akar maupun di rizosfer, serta mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi senyawa aktif yang berupa metabolit sekunder (Bonjar *et al.* 2006). *Streptomyces* adalah genus yang paling terkenal dari famili Actinomycetes yang biasanya terdapat di dalam tanah serta dapat berperan dalam meningkatkan kesuburan tanah. Oleh karena itu, banyak ilmuwan yang mengembangkan dan memanfaatkannya sebagai agen biokontrol untuk melawan bakteri patogen pada tanaman.

Dari 22.500 senyawa aktif yang diperoleh dari mikroba, sebanyak 45% diproduksi oleh Actinomycetes, 38% oleh jamur, dan 17% oleh bakteri uniseluler (Berdy 2005; Rahman *et al.* 2011). Sebagian besar spesies Actinomycetes yaitu sebanyak 50% dari total populasi Actinomycetes tanah dan terkenal dalam memproduksi berbagai

metabolit sekunder termasuk antibiotik, imunomodulator, antikanker, antivirus, herbisida, dan insektisida yang bermanfaat dalam bidang kedokteran maupun bidang pertanian (Oskay *et al.* 2004; Berdy 2005).

Keistimewaan lain dari Actinomycetes adalah prokariota ini mampu menghasilkan *plant growth factor*, antioksidan, herbisida, pestisida, antiparasit, serta enzim selulase dan xilanase (Oskay *et al.* 2004; Bonjar *et al.* 2006). Hampir 80% antibiotik di dunia diketahui berasal dari Actinomycetes. Sebagian besar berasal dari genus *Streptomyces* dan *Micromonospora* (Pandey *et al.* 2004; Kumar *et al.* 2010). Sehingga pada dekade ini, Actinomycetes telah banyak dieksplorasi untuk penghasil bahan baku obat terutama untuk penyakit akibat infeksi bakteri patogen pada manusia, hewan, dan tumbuhan. Indikasi perlawanan Actinomycetes terhadap bakteri patogen dapat diukur dengan pembentukan zona hambat pada pertumbuhan bakteri patogen oleh senyawa antibiotik dari Actinomycetes (Kumar *et al.* 2010; George *et al.* 2012).

Berdasarkan uraian permasalahan di atas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan skrining Actinomycetes yang diisolasi dari tanah di daerah perakaran atau rizosfer tanaman Solanaceae seperti tomat, cabai, kentang, dan terong dan menguji aktivitas antibakteri, terutama bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* yang merupakan bakteri penyebab

penyakit layu pada tanaman Solanaceae, serta bakteri patogen lain seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah dikumpulkan dari berbagai daerah perakaran atau rizosfer tanaman Solanaceae, diantaranya: tomat, cabai, kentang dan terung. Tiap koleksi sampel diambil kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah. Tanah dimasukkan ke dalam botol plastik dan diberi label lokasi dan waktu pengambilan sampel. Setelah sampai di laboratorium, tanah dikeringkan selama 1 minggu, kemudian dihaluskan dan disaring. Tanah hasil ayakan yang akan digunakan untuk isolasi *Actinomycetes* (Kumar *et al.* 2010).

Analisis Sampel Tanah

Sampel tanah yang dikumpulkan untuk isolasi *Actinomycetes* dari masing-masing jenis tanaman dianalisis parameter fisika-kimia. pH tanah sampel ditentukan perubahan potensial menggunakan pH meter. Nitrogen total dalam sampel tanah ditentukan oleh metode mikrokjeldahl, fosfor tersedia diperkirakan oleh metode Bray dan Kurtz dan kandungan karbon organik ditentukan oleh Walkey dan metode Hitam (Maiti 2003). Kalium tersedia dalam sampel tanah yang diambil menggunakan amonium asetat netral sebagai ekstraktan dan ditentukan dengan menggunakan fotometer nyala (Maiti 2003).

Isolasi dan Maintenance Isolat *Actinomycetes*

Setiap sampel tanah sebanyak 1 g disuspensikan ke dalam 100 ml air fisiologis (NaCl 8,5 g/l) kemudian diinkubasi dalam *shaker* inkubator orbital pada suhu 28 °C dengan kecepatan rotasi 200 rpm selama 30 menit. Campuran dibiarkan stabil, dan dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-5} dengan menggunakan air steril fisiologis air dan diaduk dengan menggunakan *vortex* pada kecepatan maksimum. Masing-masing pengenceran dari 10^{-2} hingga 10^{-5} diambil sebanyak 0,1 ml dan disebar secara merata di atas permukaan media Starch-casein agar (Pati 10 g, Casein 0,3 g, KNO_3 2 g, K_2HPO_4 2 g, MgSO_4 0,05 g, CaCO_3 0,02 g, FeSO_4 0,01 g, Agar 18 g, *distilled water* 1 L, pH $7 \pm 0,1$) (George *et al.* 2012). Pada media ditambahkan tiamfenikol 50 ug/ml dan nistatin 100 ug/ml untuk menghambat kontaminasi bakteri dan jamur. Kemudian agar plate diinkubasi pada suhu 28°C dan 37°C, dan dipantau setelah 5 hari dan 10 hari masa inkubasi. Setelah inkubasi pada agar *plate* selama 1 minggu, koloni khas *Actinomycetese* akan terbentuk dan dapat diamati secara morfologi (Shirling and Gottlieb 1966 dalam George *et al.* 2012), dan dimurnikan di *plate* Agar Stach-casein dengan *re-streaking* dan menginkubasi pada suhu kamar selama 96 jam.

Karakterisasi Isolat *Actinomycetes*

Isolat murni *Actinomycetes* yang diperoleh kemudian dikarakterisasi secara morfologi dengan menggunakan *Bergey's Manual of Determination* serta karakterisasi fisiologi dengan mencacu pada Gordon (1966) dalam George *et al.* (2012).

Uji Aktivitas Antibakteri secara *In Vitro*

Skrining awal untuk kegiatan uji aktivitas antibiotik dari isolat adalah dengan menggunakan teknik *well diffusion* pada media agar Gliserol- Yeast-ekstrak (GYE). Sebanyak 1 ml isolat *Actinomycetes* yang ditumbuhkan dalam media GYE cair murni disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 3 menit, kemudian diperoleh supernatan yang kemudian diteteskan dalam sumuran Agar GYE yang sudah dioles dengan 4 macam bakteri uji untuk masing-masing petri dish. Media agar GYE kemudian diinkubasi pada 32 °C selama 7 hari supaya memungkinkan isolat untuk mengeluarkan antibiotik ke dalam media, dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran. Kemampuan daya hambat atau aktivitas antibakteri diukur dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk dalam skala milimeter (Kafur & Khan 2011). Bakteri uji yang digunakan adalah *Ralstonia solanacearum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lokasi Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari rizosfer tanaman Solanaceae di beberapa wilayah sekitar Surakarta, di antaranya dari: Selo Boyolali, Colomadu Karanganyar, Gondangrejo Karanganyar, Jatipurno Wonogiri dan Solo. Masing-masing daerah pertanaman memiliki karakteristik yang berbeda, maka dari itu perlu diketahui profil tanah dan pemupukan yang diberikan. Karakteristik sampel tanah yang diambil dari beberapa wilayah dapat dilihat pada Tabel 1.

Kondisi hara tanah berbeda-beda tergantung dari tempat dan sistem pemupukan yang diberikan. Kadar keasaman tanah (pH) masih dalam rentang normal 6-7,5. Sampel tanah dengan kandungan nitrogen dan karbon organik tertinggi terdapat pada tanah yang berasal dari kawasan Selo Boyolali, hal ini disebabkan karena kawasan tersebut digunakan untuk penanaman sayuran diantaranya tanaman Solanaceae (cabai, tomat, tembakau, dan terong) yang sengaja diberi pemupukan secara intensif untuk meningkatkan produktifitas hasil pertanian.

Tabel 1. Karakteristik lokasi pengambilan sampel tanah rizosfer tanaman Solanaceae

No	Lokasi Pengambilan	Tanaman	Pemupukan	pH	N total (%)	Bahan organik (%)
1	Selo Boyolali	Cabai	Pupuk kandang + KCL + urea	6,70	5,03	10,82
2	Selo Boyolali	Tembakau	Pupuk kandang + KCL + urea	6,54	5,69	12,83
3	Selo Boyolali	Tomat	Pupuk kandang	6,50	4,07	9,25
4	Selo Boyolali	Terong	Pupuk kandang + urea	7,27	2,25	4,21
5	Colomadu Karanganyar	Cabai	Urea	6,58	0,97	5,04
6	Wonogiri	Cabai	Pupuk kandang	6,68	1,54	7,41
7	Gondangrejo Karanganyar	Cabai	Pupuk kandang	6,84	0,86	4,51

Tabel 2. Karakteristik koloni isolat *Actinomycetes* yang tumbuh pada Media Starch-Casein III

No	Isolat	Karakteristik Koloni				
		Morfologi Koloni	Hifa Aerial	Hifa Substrat	Kelompok Streptomyces	Jumlah (%)
1	ToE11	Circular, filamentus,	Putih	Hitam keunguan	<i>Lavendule</i>	4,37
2	ToE12	Circular, entire	merah	merah	<i>Roseosporus</i>	6,67
3	ToE13	Irregular, filamentus	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	31,25
4	ToE14	Irregular, filamentus	Kuning	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	12,5
5	ToE15	Circular, filamentus	Ungu muda	Hitam	<i>Roseosporus</i>	12,5
6	ToE16	Irregular, lobate	Abu-abu	putih	<i>Griseofucus</i>	20,00
7	ToE21	Circular, filamentus	Kuning	coklat	<i>Flavus</i>	15,00
8	ToE22	Entire, circular	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	32,20
9	ToE23	Circular, undulate	merah	Kuning kecoklatan	<i>Roseosporus</i>	5,31
10	ToE24	Circular, filamentus	Putih	Ungu kemerahan	<i>Griseorubrovio laceus</i>	4,73
11	ToE25	Circular, filamentus	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	20,36
12	ToE26	Circular, filamentus	Abu-abu	Kuning kecoklatan	<i>Aureus</i>	30,50
13	ToE27	Circular, filamentus	Putih kekuningan	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	6,35
14	ToE28	Irregular, lobate	Abu-abu	Abu-abu	<i>Griseofucus</i>	8,45

Ket: CaE = Cabai Selo; TaE = Tembakau Selo; ToE = Tomat Selo; CaO = Cabai Solo
CaW = Cabai Wonogiri; KR = Cabai Karanganyar

Lanjutan Tabel 2

No	Isolat	Karakteristik Koloni				
		Morfologi Koloni	Hifa Aerial	Hifa Substrat	Kelompok Streptomyces	Jumlah (%)
15	TaE11	Circular, filamentus	Kuning	Kuning daya hambat terhadap kapang	<i>Flavus</i>	32,20
16	TaE12	Circular, filamentus	Putih	kuning	<i>Albosporus</i>	3,35
17	TaE14	Entire, circular	merah	Melekat substrat	<i>Roseosporus</i>	1,34
18	TaE21	Circular, filamentus	Putih	kuning	<i>Albosporus</i>	74,00
19	TaE22	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	Abu-abu	<i>Griseofucus</i>	8,57
20	CaE11	Circular, filamentus	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	30,43
21	CaE12	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	Abu-abu atau hitam	<i>Griseofucus</i>	26,08
22	CaE13	Circular, filamentus	merah	coklat	<i>Aureus</i>	4,34
23	CaE14	Circular, filamentus	Putih	Abu-abu	<i>Griseofucus</i>	39,13
24	CaE21	Circular, entire	merah	pink	<i>Roseosporus</i>	8,30
25	CaE22	Circular, filamentus	Putih	putih	<i>Albosporus</i>	41,67
26	CaE23	Circular, filamentus	coklat	Coklat	<i>Aureus</i>	25,00
27	CaE24	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	Hitam	<i>Griseofucus</i>	16,67
28	CaE25	Circular, filamentus	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Aureus</i>	6,40
29	CaW11	Circular, filamentus	Putih kecoklatan	kuning	<i>Albosporus</i>	15,38
30	CaW12	Circular, filamentus	Putih	coklat	<i>Flavus</i>	38,46
31	CaW13	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	Kuning kecoklatan	<i>Aureus</i>	15,38
32	CaW14	Circular, circle	Putih	Kuning coklat	<i>Aureus</i>	30,76
33	CaW21	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	coklat	<i>Aureus</i>	6,25
34	CaW22	Circular, filamentus	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Aureus</i>	93,70
35	CaO11	Circular filementus	Abu-abu	Hitam	<i>Griseofucus</i>	43,58

Ket: CaE = Cabai Selo; TaE = Tembakau Selo; ToE = Tomat Selo; CaO = Cabai Solo
CaW = Cabai Wonogiri; KR = Cabai Karanganyar

Lanjutan Tabel 2

No	Isolat	Karakteristik Koloni				
		Morfologi Koloni	Hifa Aerial	Hifa Substrat	Kelompok Streptomyces	Jumlah (%)
34	CaW22	Circular, filamentus	Putih	Kuning kecoklatan	<i>Aureus</i>	93,70
35	CaO11	Circular filementus	Abu-abu	Hitam	<i>Griseofucus</i>	43,58
36	CaO12	Circular, circle	Putih berlendir	putih	<i>Albosporus</i>	10,25
37	CaO13	Circular, filamentus	Coklat	Coklat	<i>Flavus</i>	2,56
38	CaO14	Circular, filamentus	kuning	kuning	<i>Flavus</i>	20,51
39	CaO21	Circular filamentus	Hitam	hitam	<i>Griseofucus</i>	25,00
40	CaO22	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	Kuning kecoklatan	<i>Albosporus</i>	10,71
41	CaO23	Circular, filamentus	Putih kecoklatan	Abu-abu	<i>Albosporus</i>	35,71
42	CaO24	Circular, filamentus	Putih	Abu-abu	<i>Albosporus</i>	30,60
43	CaO31	Circular, filamentus	Putih	coklat	<i>Albosporus</i>	50,00
44	GR11	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	Coklat	<i>Aureus</i>	30,00
45	GR12	Circular, filamentus	Abu-abu	putih	<i>Griseofucus</i>	25,00
46	GR13	Circular, filamentus	Putih kecoklatan	coklat daya hambat terhadap kapang	<i>Aureus</i>	20,00
47	GR14	Circular, filamentus	coklat	transparan	<i>Flavus</i>	15,78
48	GR15	Circular, filamentus	Putih	kuning	<i>Albosporus</i>	10,00
49	GR16	Circular, filamentus	Ungu	ungu	<i>Roseosporus</i>	5,00
50	GR21	Circular, filamentus	Abu-abu	coklat	<i>Aureus</i>	35,29
51	GR22	Circular, entire	Putih	merah	<i>Roseosporus</i>	8,30
52	GR23	Circular, filamentus	Putih kecoklatan	coklat	<i>Albosporus</i>	33,30
53	GR25	Circular, filamentus	Putih tengah hitam	coklat	<i>Albosporus</i>	17,60
54	GR26	Circular, filamentus	coklat	coklat	<i>Flavus</i>	17,70

Ket: CaE = Cabai Selo; TaE = Tembakau Selo; ToE = Tomat Selo; CaO = Cabai Solo
CaW = Cabai Wonogiri; KR = Cabai Karanganyar

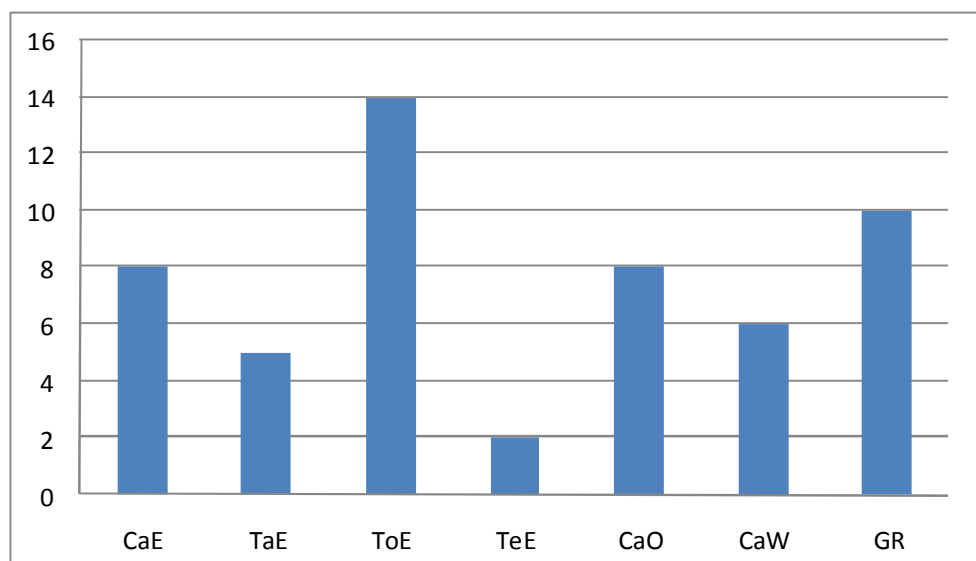
Morfologi Koloni Actinomycetes

Sebanyak 54 isolat yang berhasil diisolasi pada media SC-III dari 7 sampel tanah rizosfer tanaman Solanaceae. Sebagian besar merupakan golongan *Streptomyces spp* (Oskay *et al.* 2004) dimana memiliki variasi warna koloni pada hifa aerial dan substrat. Beberapa isolat yang terkumpul dari masing-masing sampel memiliki kesamaan morfologi dilihat dari bentuk koloni, margin, warna, struktur hifa aerial dan hifa yang melekat substrat. Data mengenai morfologi dan kuantitas keberdaam masing-masing isolat *Actinomycetes* dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan uraian karakteristik morfologi Tabel 2, maka isolat *Actinomycetes* dapat dikelompokkan berdasarkan masing-masing sampel tanah rizoid dan kelompok jenis *Streptomyces*. Isolat *Actinomycetes* yang memiliki kemiripan morfologi dengan *Streptomyces aereochromogenes* dimasukkan dalam kelompok Aerus dimana memiliki warna hifa aerial abu-abu dan hifa substrat kuning atau oranye (Tan *et al.* 2006). Sedangkan isolat yang memiliki kemiripan dengan *Streptomyces roseocaneus* dimasukkan dalam kelompok Roseosporus yang memiliki hifa aerial berwarna merah, pink atau oranye, dan hifa substrat berwarna kuning,

oranye, atau pink. Pembagian lain seperti Albosporus karena memiliki kemiripan dengan morfologi *Streptomyces aburaviensis*, Griseofucus mirip dengan *Streptomyces griseus* serta kelompok Flavus.

Adapun pembagian persebaran jenis *Streptomyces* yang terdapat pada masing-masing sampel seperti tercantum pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, keaneragaman isolat tertinggi terdapat pada sampel rizosfer tanaman tomat yang berasal dari daerah Selo Boyolali sebanyak 14 isolat, sedangkan keragaman terendah terdapat pada sampel rizosfer tanaman terong Selo Boyolali, yakni hanya terdapat dua isolat *Actinomycetes* dimana sebagian besar media SC-III sudah terkontaminasi kapang pada saat masa inkubasi. Semakin banyak jumlah isolat yang ditemukan dari tiap sampel tanah, semakin besar kemungkinan untuk memperoleh strain baru *Actinomycetes* yang mempunyai aktivitas antibakteri bagi bakteri patogen seperti *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

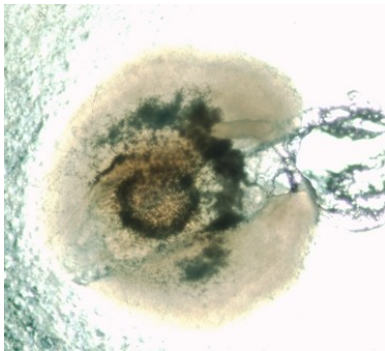


Ket: CaE = Cabai Selo; TaE = Tembakau Selo; ToE =Tomat Selo; CaO = Cabai Solo
CaW = Cabai Wonogiri; KR =Cabai Karanganyar

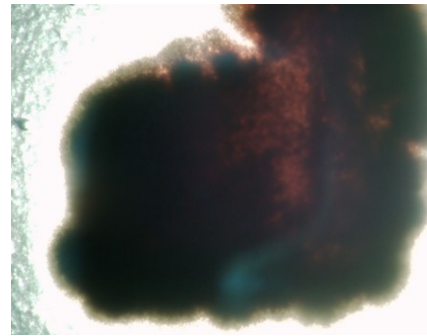
Gambar 2. Tingkat keragaman isolat Actinomycetes pada masing-masing rizosfer tanaman Solanaceae.

Kafur & Khan (2011) menyatakan bahwa seleksi isolat *Actinomycetes* dari tanah maupun dari jaringan tanaman sangat bermanfaat untuk memperoleh strain baru, selain itu keanekaragaman mikroorganisme merupakan faktor penting untuk screening dan isolasi senyawa biokatif baru. Sedangkan Taecchowisan *et al.* (2002) mengemukakan bahwa kelompok *Streptomyces spp* merupakan kelompok yang paling sering ditemui di lingkungan maupun di jaringan tumbuhan monokotil maupun *herbaceous*. Pencarian senyawa antibiotik baru akan lebih menjanjikan jika beragam actinomycetes dikumpulkan dan diseleksi. Maka dari itu, perlu dilakukan identifikasi

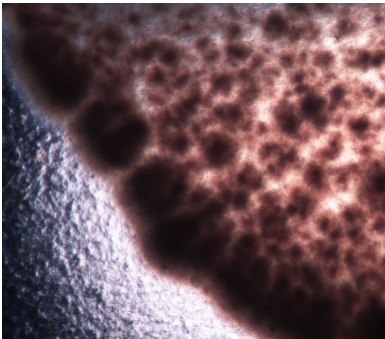
karakteristik tanah asal. Hal ini didasarkan pada hipotesis bahwa keragaman Actinomycetes mungkin dipengaruhi oleh keragaman spesies tanaman yang tumbuh. Actinomycetes mampu tumbuh subur di sampah humus dan lapisan serasah daun. Selain itu, pada jenis tanaman yang berbeda juga menghasilkan jenis metabolit sekunder yang berbeda dan beberapa bahan kimia senyawa beracun bagi mikroorganisme tanah termasuk Actinomycetes (Khanna *et al.* 2011). Namun, adaptasi lingkungan juga menyebabkan Actinomycetes untuk menghasilkan metabolit sekunder sendiri.



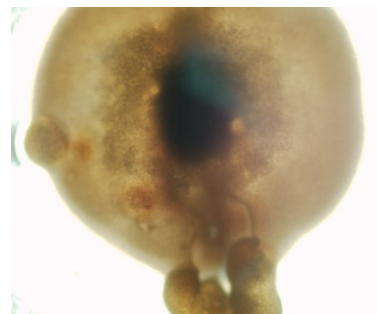
(a). Isolat warna putih



(b) Isolat warna merah



(c). Isolat warna ungu



(d). Isolat warna kuning

Gambar 3. Isolat warna putih (a), merah (b), ungu (c), dan kuning (d).

Aktivitas Antibakteri dan Kemampuan Hidrolisis Senyawa Polimer

Aktivitas antibakteri dari kultur cair GYE dilakukan dengan menggunakan metode agar *well diffusion* (Kafur & Khan 2011; Khanna *et al.* 2011) pada media GYE agar terhadap empat species bakteri: *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri uji ditumbuhkan pada media LB cair (pH 7) selama 24 jam, setelah itu diinokulasikan pada media GYE dengan metode *swab*. Sumuran dibuat dengan menggunakan cetakan pipa plastik steril yang berdiameter 5 mm. Sebanyak 50 ul supernatan dari masing-masing isolat Actinomycetes

ditambahkan pada masing-masing sumuran dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pada akhir pertumbuhan bakteri dapat diamati dengan terbentuknya zona hambat berupa zona bening yang kemudian diukur dengan skala mm.

Berikut ini adalah data profil aktivitas antibakteri dari 54 isolat Actinomycetes serta kemampuannya dalam menghidrolisis senyawa polimer seperti, casein, pati, selulosa, dan gelatin-pepton.

Tabel 3. Profil aktivitas antibakteri actinomycetes serta kemampuan hidrolisis senyawa

No	Isolat	Daya Hambat (mm)				Hidrolisis			
		R. Solanacearum	B. subtilis	E. coli	S. aureus	Casein	Pati	Selulosa	Gelatin-Pepton
1	ToE11	-	-	-	-	+	+	+	+
2	ToE12	-	-	-	-	+	+	+	+
3	ToE13	12	-	-	-	+	+	+	+
4	ToE14	-	-	-	8	+	+	+	+
5	ToE15	-	-	-	8	+	+	+	+
6	ToE16	-	-	-	-	+	+	+	+
7	ToE21	-	-	-	-	+	+	+	+
8	ToE22	-	-	-	-	+	+	+	+
9	ToE23	9	-	-	-	+	+	+	+
10	ToE24	-	-	-	-	+	+	+	+
11	ToE25	-	-	-	-	+	+	+	+
12	ToE26	-	-	-	-	+	+	+	+
13	ToE27	-	-	-	-	+	+	+	+
14	ToE28	-	-	-	-	+	+	+	+
15	TaE11	-	-	-	12	+	+	+	+
16	TaE12	15	-	-	12	+	+	+	+
17	TaE14	12	-	-	10	+	+	+	+
18	TaE21	-	-	-	-	+	+	+	+
19	TaE22	12	-	-	-	+	+	+	+
20	CaE11	8	9	-	8	+	+	+	+
21	CaE12	-	-	-	-	+	+	+	+
22	CaE13	-	-	-	-	+	+	+	+
23	CaE14	8	10	8	-	+	+	+	+
24	CaE21	-	-	-	-	+	+	+	+
25	CaE22	-	-	-	-	+	+	+	+
26	CaE23	-	-	-	15	+	+	+	+
27	CaE24	12	12	-	-	+	+	+	+
28	CaE25	-	-	-	9	+	+	+	+
29	CaW11	8	-	-	-	+	+	+	+
30	CaW12	16	-	-	-	+	+	+	+
31	CaW13	9	-	-	-	+	+	+	+
32	CaW14	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
33	CaW21	12	-	-	-	+	+	+	+
34	CaW22	14	-	-	-	+	+	+	+
35	CaO11	-	-	-	-	+	+	+	+
36	CaO12	-	-	-	-	+	+	+	+
37	CaO13	-	-	-	-	+	+	+	+
38	CaO14	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
39	CaO21	-	8	-	9	+	+	+	+
40	CaO22	12	12	8	14	+	+	+	+

Ket: CaE = Cabai Selo; TaE = Tembakau Selo; ToE = Tomat Selo; CaO = Cabai Solo
 CaW = Cabai Wonogiri; KR = Cabai Karanganyar
 n.a = *not available*, dimungkinkan karena isolat tidak tumbuh selama inkubasi

Lanjutan Tabel 3

No	Isolat	Daya Hambat (mm)				Hidrolisis			
		R. Solanacearum	B. subtilis	E. coli	S. aureus	Casein	Pati	Selulosa	Gelatin-Pepton
41	CaO23	-	-	-	-	+	+	+	+
42	CaO24	-	-	-	-	+	+	+	+
43	CaO31	-	-	-	8	+	+	+	+
44	GR11	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
45	GR12	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
46	GR13	12	12	-	-	+	+	+	+
47	GR14	8	12	14	9	+	+	+	+
48	GR15	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
49	GR16	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
50	GR21	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
51	GR22	n.a	n.a	n.a	n.a	+	+	+	+
52	GR23	-	-	-	-	+	+	+	+
53	GR25	-	-	-	-	+	+	+	+
54	GR26	-	12	12	9	+	+	+	+
Total isolat		16	8	4	13	54	54	54	54

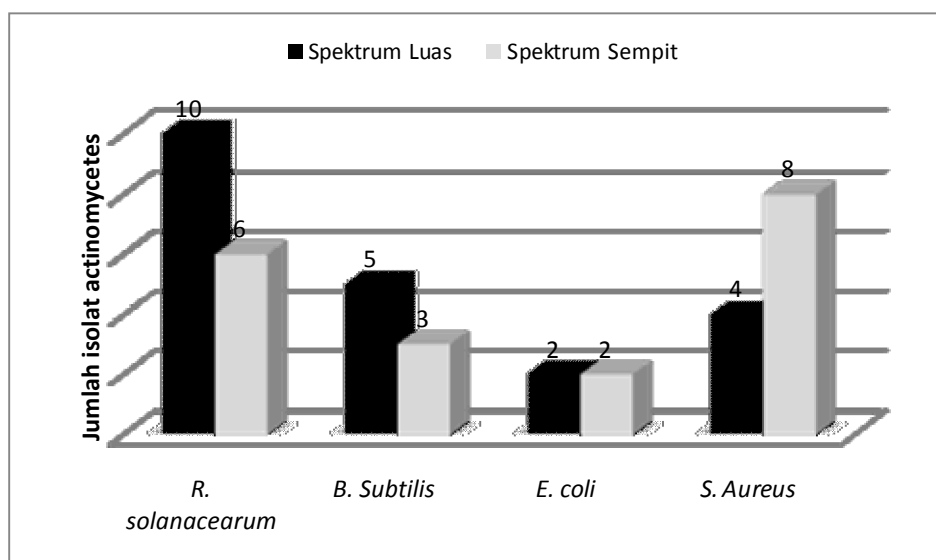
Ket: CaE = Cabai Selo; TaE = Tembakau Selo; ToE = Tomat Selo; CaO = Cabai Solo
 CaW = Cabai Wonogiri; KR = Cabai Karanganyar
 n.a = *not available*, dimungkinkan karena isolat tidak tumbuh selama inkubasi

Berdasarkan Tabel 3, terdapat beberapa isolat Actinomycetes dari rizosfer beberapa tanaman Solanaceae memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri uji dengan senyawa antibakteri ekstraselular. Sebanyak 16 isolat (30%) dari total isolat terkumpul memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*, sebanyak 8 isolat (14%) menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, sebanyak 4 isolat (7%) menghambat pertumbuhan *E. coli*, serta 13 isolat (24%) mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Rata-rata kerentanan atau *susceptibility* tertinggi adalah pada bakteri *B. subtilis* dengan luasan spektrum rata-rata 11,11 mm. Sedangkan tingkat *susceptibility*

terendah pada bakteri *S. aureus*, dengan luasan spektrum rata-rata 9,6 mm.

Spektrum daya hambat isolat Actinomycetes terhadap bakteri uji digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu: > 10 mm (spektrum luas); 2-10 (spektrum sempit); 0 (tidak memiliki aktivitas antibakteri). Gambaran mengenai tingkat spektrum hambat isolat Actinomycetes terhadap masing-masing bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 4.

Isolat Actinomycetes yang memiliki spektrum daya hambat luas untuk bakteri *R. solanacearum* sebanyak 10 isolat: ToE13, TaE12, TaE14, TaE22, CaE24, CaW12, CaW21, CaW22, CaO22, dan GR 13.



Gambar 4. Tingkat spektrum daya hambat actinomycetes terhadap bakteri uji *R. solanacearum*, *B. subtilis*, *E. coli*, dan *S. aureus*.

Isolat Actinomycetes yang memiliki spektrum luas terhadap bakteri *B. subtilis* sebanyak 4 isolat: CaE24, CaO22, GR13, dan GR26. Isolat yang menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan spektrum luas sebanyak 2 isolat: GR14 dan GR26. Isolat Actinomycetes yang mampu menghambat *S. aureus* sebanyak 4 isolat TaE11, TaE12, CaE23, CaO22.

Selain itu, dapat juga dilihat isolat Actinomycetes yang memiliki kemampuan menghambat lebih dari dua jenis spesies bakteri uji sekaligus yaitu: CaE11, CaE14, CaO22, GR14, dan GR26. Dari hasil penelitian ini, tidak menutup kemungkinan isolat-isolat tersebut dikembangkan sebagai sumber antibiotik baru di bidang farmasi maupun sebagai biokontrol penyakit tanaman.

Berdasarkan Gambar 4 dapat disimpulkan bahwa tingkat kerentanan bakteri uji yang paling tinggi terhadap senyawa antibakteri dari isolat Actinomycetes ada pada bakteri *R. solanacearum*, dimana terdapat 10 isolat

yang mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* dengan spektrum luas. Isolat-isolat tersebut memiliki potensi untuk diteliti lebih lanjut dan dikembangkan biokontrol untuk penyakit layu bakteri pada tanaman Solanaceae. Menurut Tan *et al.* (2006), beberapa kelompok *Streptomyces* memiliki kemampuan untuk mendegradasi dinding sel bakteri *R. solanacearum* terutama pada isolat yang diperoleh dari sampel tanah atau jaringan tanaman yang terinfeksi penyakit layu bakteri. Hal ini diduga karena adanya kompetisi antara kenaikan densitas patogen dengan aktivitas degradasi dinding sel yang dilakukan oleh Actinomycetes yang terdapat pada endofit maupun rizosfer tanaman. Proporsi penghambatan dan degradasi dinding sel dipengaruhi oleh kondisi fisiologis tanaman juga dari mana sampel diambil. Tempat sampling juga mempengaruhi jumlah Actinomycetes penghasil sideropore.

Berdasarkan Tabel 3, semua isolat Actinomycetes yang diisolasi menunjukkan reaksi positif dalam menghidrolisis senyawa polimer, dalam hal ini: pati, casein, selulosa, dan gelatin-pepton. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona degradasi (*clear zone*) disekitar koloni Actinomycetes yang telah ditumbuhkan pada media Starch casin, CMC agar, dan Gelatin-Peptide Agar. Pengamatan zona degradasi pada media Starch Casein dapat dilihat secara langsung setelah 7 hari inkubasi, sedangkan pada media CMC dapat dilihat dengan mewarnai permukaan agar dengan larutan Congo-Red selama 10 menit, kemudian dicuci dengan larutan NaCl 1 N kemudian diamati zona beningnya (Kanti 2005). Pada pengamatan zona degradasi uji proteolitik dapat dilakukan pada media gelatin-pepton Agar dengan meneteskan larutan HgCl₂ 1,5% kemudian diamati zona bening yang terbentuk (Jain *et al.* 2009).

Terdapatnya kemampuan hidrolisis senyawa polimer seperti selulosa dan gelatin oleh isolat Actinomycetes, maka dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim amylase dan protease. Selain itu, Actinomycetes juga dapat dimanfaatkan untuk degradasi selulosa sehingga dapat membantu siklus karbon pada tanah (Kanti 2005). Berdasarkan kemampuan hidrolisis gelatin, isolat ini juga dapat berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen bioremediasi limbah gelatin, seperti pada industri makanan maupun farmasi (Jain *et al.* 2009).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini didapatkan 54 isolat Actinomycetes yang diisolasi dari tujuh sampel tanah rizosfer tanaman Solanaceae. Isolat Actinomycetes yang mampu menghambat pertumbuhan *R. Solanacearum* (29%), *S. aureus* (24%), *B. subtilis* (14%), *E. coli* (7%) dan. Keseluruhan isolat yang tumbuh bereaksi positif dalam mendegradasi senyawa: pati, casein, selulosa dan gelatin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Publikasi ini merupakan sebagian hasil penelitian Hibah Pemula Tahun 2013 yang didanai oleh BOPTN DIKTI.

DAFTAR PUSTAKA

- Berdy J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot.* 58: 1-26.
- Bonjar SGH, Zamanian S, Aghigi S, Farokkhi R, Mahdavi MJ, and Saadoun I. 2006. Antibacterial activity of Iranian *Streptomyces coralus* strain 63 against *Ralstonia solanacearum*. *J. Biol. Sci.* 6(1): 127-129.
- George MA, Anjumol, George G, and Hatha AAM. 2012. Distribution and bioactive potential of soil Actinomycetes from different ecological habitats. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6(10): 2265-2271.
- Gordon RE. 1966. Some strains in search of a genus Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia or what? *J. Gen. Microbiol.* 43: 329-343.
- Jain R, Agarwal SC & Jaon PC. 2009. Proteolytic Actinomycetes from Indian habitats. *J. Cult. Collect.* 6(1): 28-37.

- Kafur A & Khan AB. 2011. Isolation of endophytic *Actinomycetes* from *Catharanthes roseus* (L.) G. Don leaves and their antimicrobial activity. *Iran. J. Biotech.* 9(4): 302-306.
- Kanti A. 2005. *Actinomycetes* selulolitik dari tanah Hutan Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi. *Jurnal Biodiversitas.* 6(2): 85-89.
- Khanna M, Solanki R & Lal R. 2011. Selective isolation of rare *Actinomycetes* producing novel antimicrobial compound. *Intl. J. of Adv. Biotec. and Res.* 2(3): 357-375.
- Kumar N, Singh RK, Mishra SK, Singh AK, Pachouri UC. 2010. Isolation and screening of soil *Actinomycetes* as source of antibiotics active against bacteria. *Int. J. of Micr. Res.* 2(2): 12-16.
- Martin C and French ER. 1985. Bacterial Wilt of Potato *Ralstonia Solanacearum*. *Technical Information Bulletin* 13: 1-6.
- Oskay M, Tamer AU and Azeri C. 2004. Antibacterial activity of some *Actinomycetes* isolated from farming soils of Turkey. *Afr. J. Biotechnol.* 3(9): 441-446.
- Pandey A, Ali I, Butola KS, Chatterji T, Singh V. 2011. Isolation and characterization of *Actinomycetes* from soil and evaluation of antibacterial activities of *Actinomycetes* against pathogens. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Tech.* 2(4): 384-392.
- Rahman MA, Islam MZ, and Islam MAU. 2011. Antibacterial activities of *Actinomycete* isolates collected from soils of Rajshahi, Bangladesh. *Biotechnol. Res. Int.* 2011: 1-6.
- Shirling EB, Gottlieb D. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces species*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16(3): 313-340.
- Tan HM, Cao LX, He ZF, Su GJ, Lin B & Zou SN. 2006. Isolation of endophytic *Actinomycetes* from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum* in vitro. *World J Microbiol Biotechnol* 22:1275–1280.