

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA ACTINOMYCETES DARI TANAH PERAKARAN KUNYIT PUTIH (CURCUMA ZEDOARIA)

Andi Dian Astriani, M. Natsir Djide, Tadjuddin Naid

Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar

Email : andidianastriani.dty@uim-makassar.ac.id

ABSTRAK

Secara historis, Actinomycetes menghasilkan jumlah terbesar calon obat antibiotik baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi Actinomycetes dari tanah perakaran kunyit putih yang berpotensi sebagai antimikroba. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *experimental laboratory*. Teknik pengumpulan data yaitu dengan uji daya hambat Actinomycetes yang telah diisolasi terhadap bakteri uji yaitu *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan fungi *Candida albicans* untuk mengetahui adanya potensi antimikroba. Teknik analisis data yang digunakan yaitu dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan hasil uji daya hambat, dari 4 isolat, hanya 1 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Candida albicans*. Pemeriksaan ornamen rantai spora menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah Actinomycetes.

Kata Kunci: Actinomycetes, kunyit putih, antimikroba

PENDAHULUAN

Secara historis, Actinomycetes menghasilkan jumlah terbesar calon obat antibiotik baru (Berdy, 2005). Menurut Okami & Hotta dalam Ambarwati (2007), hampir 95% dari 200 antibiotik yang ada dihasilkan oleh Streptomycetes. (Ambarwati, 2007).

Streptomycetes dikenal mampu menghasilkan banyak antibiotik seperti streptomycin yang dihasilkan *Streptomyces griseus*, aureomisin yang dihasilkan oleh *S. aureofaciens*, oleandomycin dihasilkan oleh *S. antibioticus*, spyramicin dihasilkan oleh *S. ambofaciens*, dan eritromisin yang dihasilkan oleh *S. erythreus* (Ambarwati, 2007) yang masing-masing mempunyai khasiat yang berlainan. Selain Streptomycetes, masih ada anggota Actinomycetes yang juga mampu

menghasilkan antibiotik dan antitumor yaitu *Actinoplanes*, *Microsmonospora*, *Saccharopolyspora*, *Actinomodura*, dan *Dactylosporangium*.

Actinomycetes termasuk bakteri yang berbentuk batang, gram positif, yang bersifat anaerob fakultatif. Struktur Actinomycetes berupa filament lembut yang sering disebut hifa atau miselia, sebagaimana yang terdapat pada fungi, memiliki konidia pada hifa yang menegak. Actinomycetes merupakan bakteri yang bereproduksi dengan pembelahan sel, rentan terhadap penicillin tetapi tahan terhadap zat antifungi (Ambarwati, 2007).

Tanah merupakan habitat Actinomycetes. Populasi streptomycetes pada tanah mencapai 70%, sedangkan populasi Actinomycetes pada tanah yang subur mencapai 700.000 (Budiyanto,

2004). Fakta menunjukkan bahwa Actinomycetes naik secara kualitatif maupun kuantitatif memiliki peranan di dalam rizosfer, yang mempengaruhi pertumbuhan serta melindungi akar tanaman dari serangan fungi patogen akar (Ambarwati, 2007).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari rizosfer tanaman kunyit putih, pemilihan tanaman ini didasarkan pada fakta bahwa tanaman ini digunakan untuk mencegah kanker. Interaksi antara tanaman dan mikroba di rizosfir diinisiasi oleh tanaman dengan cara mensekresikan eksudat akar sehingga mengundang mikroba datang ke rizosfir. Mikroba yang mengkoloni rizosfir mengakibatkan terjadinya modifikasi lingkungan fisik dan kimia tanah di sekitar rizosfir yang akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Enny, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi secara morfologi Actinomycetes dari tanah perakaran kunyit putih yang berpotensi sebagai antimikroba.

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin. Desain penelitian ini adalah *experimental laboratories*. Lokasi pengambilan sampel yaitu di Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan. Penelitian dilakukan dengan cara

menguji daya hambat Actinomycetes yang telah diisolasi terhadap mikroba uji
Alat

Alat yang digunakan adalah Cawan petri (Herma®, Normax®) steril, spatula, lilin, cawan porselin (Herma®), oven (Memmert®), mikropipet (Health®), *blue tips*, timbangan analitik (Acis® CAD-360H), *beaker glass* (Pyrex®) ukuran 50 mL, pengaduk gelas, pH meter, botol universal, tabung reaksi (Pyrex®), pipet (Pyrex®) steril, 4 *vortex mixer* (Health®), *colony counter* (Stuart Scientific®), erlenmeyer (Pyrex®) autoklaf (One Med®), ose steril, *objek glass*, bunsen, *tissue*, mikroskop (Olympus®), perangkat digital mikroskop (Optilab® CPU Intel RAM 512 MB).

Bahan

Sampel tanah yang diperoleh dari rizosfer Kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), aquadest, alcohol, larutan Ringer laktat, media Starch Casein Agar, media Nutrient Agar, media Potato Dekstora Agar, paper disk, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Candida albicans*, aquades.

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel tanah yang diambil dari rizosfer kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) yaitu tanah yang melekat pada akar kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) sebanyak satu genggam dari 5 tempat yang berbeda dalam 1 rumpun/lahan.

Sebanyak 5 gram sampel tanah dilarutkan ke dalam labu Erlenmeyer yang

berisi 45 ml aquadest, lalu dihomogenkan menggunakan vortex, selanjutnya diberi praperlakuan dengan metode heat shock yang dilakukan dengan memanaskan sampel selama 1 jam pada suhu 70°C. Kemudian sampel dibuat pengenceran bertingkat sampai 10⁻⁴. Masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml dan diinokulasikan dengan metode sebar (*pour plate*) pada medium Starch Casein Agar (SCA) yang sebelumnya telah disuplemansi Nystatin untuk mencegah pertumbuhan fungi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C sampai isolat tumbuh. Koloni hasil isolasi yang menunjukkan penampakan berbeda pada isolasi tahap pertama dipurifikasi pada medium Starch Casein Agar dan medium Nutrien Agar dengan menggunakan metode *quadrant streak* sehingga diperoleh isolat murni.

Uji potensi antimikroba dengan metode difusi agar

Uji antimikroba dilakukan terhadap bakteri (*E.coli*, *S.aureus*) dan jamur (*C. albicans*). Analisis antimikroba dengan menggunakan metode difusi agar

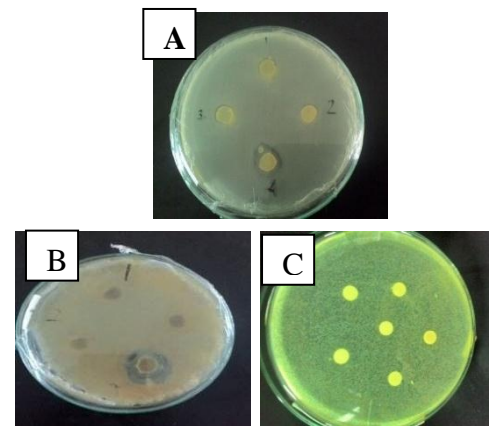
Pengamatan morfologi dan rantai spora

Pengamatan morfologi dilakukan terhadap isolat yang memiliki kemampuan menghambat mikroba. Pengamatan morfologi dilakukan dengan menggunakan metode *culture slide*, yaitu : isolat Actinomycetes ditumbuhkan pada medium SNA, selanjutnya pada medium ditancapkan pada kaca steril pada media

dengan posisi kemiringan 45° berdekatan dengan koloni mikrobia. Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 14 hari sampai isolat tumbuh pada kaca slide. Setelah terbentuk spora, maka kaca slide diambil dan diamati pembentukan rantai spora dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 4 isolat yang diperoleh, 1 isolat mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *C. albicans* (gambar 1).



Gambar 1. Hasil uji antagonis terhadap mikroba uji

Keterangan :

- A. Penghambatan terhadap *Candida albicans*
- B. Penghambatan terhadap *E.coli*
- C. Penghambatan terhadap *S. aureus*

Hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan jika isolat terpilih mampu menghasilkan senyawa antibakteri terhadap gram negatif (*E.coli*). Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa isolat yang terpilih hanya mampu menghasilkan senyawa antifungi dan antibakteri gram negatif.

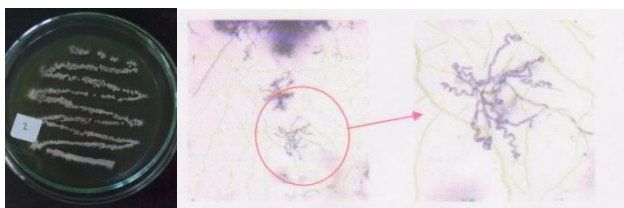
Diameter zona hambat hasil uji antagonis masing-masing isolat Actinomycetes terhadap mikroba uji ditampilkan pada tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Diameter zona hambat uji antagonis dari semua isolat Actinomycetes

NO	Kode isolat	Diameter zona hambat (mm)		
		<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
1.	KP 1	-	-	-
2.	KP 2	-	-	-
3.	KP 3	-	-	-
4.	KP 4	14	-	20

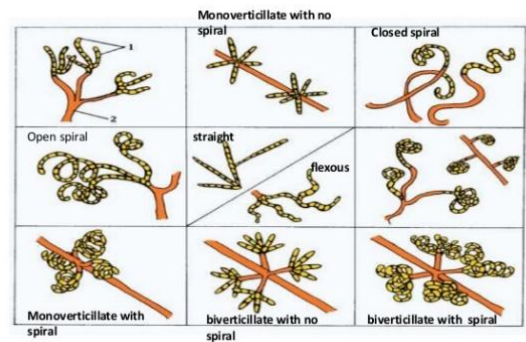
Ali (2009) menyatakan jika suatu senyawa antibiotic dikatakan memiliki kemampuan penghambatan yang kuat jika luas zona bening yang dihasilkan di atas 20 mm. Berdasarkan zona hambat yang diperoleh, kemampuan penghambatan Actinomycetes isolat KP4 tergolong lemah.

Pengamatan morfologi dan rantai spora dilakukan terhadap Isolat KP 4 (gambar 2).



Gambar 2. Morfologi rantai spora berdasarkan pengamatan secara mikroskopik (pembesaran 400x).

Morphology of spore bearing structure



Gambar 3. Morfologi spora aktinomycetes

Streptomyces dicirikan dengan penampakan yang khas dan mirip dengan kapang sehingga Actinomycetes terkadang diidentikkan dengan kapang meskipun kenyataannya tidaklah demikian. Karena kenampakan morfologisnya serta perkembangannya yang mirip dengan fungi yang dilihat dari miseliumnya, sehingga Actinomycetes disebut juga *ray fungi*. Hal paling substansial yang membedakan fungi dengan Actinomycetes adalah komposisi selulernya.

Salah satu ciri dari genus Streptomyces yang dapat diamati pada isolat yang terpilih adalah bagian yang menyerupai kerak pada permukaan isolat dapat mudah terlepas saat digores dan menyisakan bagian permukaan yang menyerupai warna miselium substrat yaitu kuning kecoklatan. Ciri ini pula yang dapat digunakan untuk membedakan jamur dengan Actinomycetes (Madigan dkk, 2003). Bagian kerak yang berwarna putih pada dasarnya merupakan spora yang dihasilkan oleh Actinomycetes.

Warna kerak pada isolat akan mengalami perubahan seiring dengan bertambahnya waktu pertumbuhan, perubahan warna pada isolat Aktinomycetes akan terjadi saat memasuki minggu ke lima inkubasi dari putih menjadi abu-abu dan akan terus menjadi gelap hingga pada akhirnya menjadi hitam.

Untuk menentukan apakah isolat yang didapatkan adalah Aktinomycetes yaitu dengan pengamatan rantai spora. formasi rantai spora yang berhasil diamati memperlihatkan *closed spiral* (gambar 2). Rantai spora yang terbentuk hanya terdiri dari satu buah untuk setiap percabangan. Spora yang dimiliki oleh Streptomyces sendiri sangat beragam namun dapat dikelompokkan berdasarkan formasi dan susunannya (gambar 3) Untuk jenis Streptomyces dibagi menjadi tiga bagian yaitu *Rectiflexibiles* (RF), *Retinaculiapetri* (RA), dan *Spirales* (S) (Shirling & Gottlieb, 1966).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, diperoleh 1 isolat (KP 4) mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *C. albicans*. Dari penampakan morfologi, isolat KP 4 menunjukkan kesamaan dengan ciri khas genus Streptomyces. Melihat potensi tersebut, maka perlu dilakukan karakterisasi dan identifikasi molekuler lebih lanjut isolat KP 4.

KEPUSTAKAAN

- Ali dkk. (2009). Antifungal Production of a Strain of Actinomycetes spp Isolated from the Rhizosphere of Cajuput Plant Selection and Detection of Exhibiting Activity Tested Fungi. I.J. Biotech. 16(1): 1-10.
- Ambarwati. (2007). Studi Actinomycetes yang Berpotensi Menghasilkan Antibiotik dari Rhizosfer Tumbuhan Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) dan Kucingkucingan (*Acalypha indica* L.).Jurnal Penelitian Science dan Teknologi 8(1), 1-14.
- Ambarwati & Trisnawati A. G.(2009).Isolasi Actinomycetes dari Tanah Sawah Sebagai Penghasil Antibiotik.Jurnal Penelitian Sains & Teknologi, 10(2), 101-111.
- Berdy.(2005). Bioactive microbial metabolites. A personal view. J Antibiot 58(1) :1-26
- Budiyanto M.A.K. (2004).*Mikrobiologi Terapan*. Malang: UMM Press
- Dwi N dkk. (2007). Isolasi dan Karakterisasi Actinomycetes Penghasil Antibakteri. Jurnal AgroBiogen 3 hal 7-15.
- Enny Widyati. 2013. *Memahami Interaksi Tanaman Mikroba*. Tekno Hutan Tanaman Vol 6 No 1. Bogor : Kampus Balitbang Kehutanan.
- Madingan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. 2003. Brock Biology of Microorganisms. Tent Edition. Prentice Hall, USA.
- Nedialkov, D. & Naidenova M. (2005) Screening the Antimicrobial Activity of Actinomycetes Strains Isolated from Antarctica, Journal of Culture Collections Volume 4, 2004-2005, pp. 29-35.
- Sembiring L., Ward A. C. & Goodfellow M., (2000). Selective Isolation and

Characterisation of Members of the *Streptomyces violaceusniger* clade associated with the roots of *Paraserianthes falcataria*, Antonie van Leewenhoek. 78, 353-366.

Shing S. *et al.* (2006). Actinomycetes of Loktat Habitat: Isolation and Screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnology* 5(2): 217-221

Shirling & Gottlieb. (1966). Methods For Characterization of *Streptomyces* Species. *International Journal of Systematic Bacteriology* Vol 16 No 3 Jul 1966 Hal 313-340.

Susilowati dkk. (2007). Isolasi dan Karakterisasi Aktinomisetes Penghasil Antibakteri Enteropatogen *Eschericia coli* K1.1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes* 5407. *Jurnal AgroBiogen*. 3 Hal 15-23.