

ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA AKTINOMISETES ASAL TANAH RIZOSFER CAGAR BIOSFER GIAM SIAK KECIL-BUKIT BATU RIAU

Rodesia Mustika Roza, Tetty Marta Linda, Atria Martina dan
Lindasari Br. Haloho

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau
rodesiamustikaroza@yahoo.com. (081371058346)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh aktinomisetes asal tanah rizosfer Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu Riau dan melihat kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri (*Streptococcus pyogenes* dan *Escherichia coli*) dan jamur (*Fusarium oxysporum* dan *Ganoderma* BTA1). Hasil penelitian ini mendapatkan 15 jenis isolat aktinomisetes yang diisolasi menggunakan metode *pour plate* dalam medium *Starch Casein Agar* (SCA). Hasil pengujian menunjukkan bahwa 7 jenis isolat (TBR1, TBR2, TBR3, MHG1, MHG3, MHG4, FPR4) mampu menghambat pertumbuhan semua mikroba target, 1 jenis isolat (MHG2) mampu menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*, *F. oxysporum*, dan *Ganoderma* sp BTA1, 2 jenis isolat (MHG5, FPR3) mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, *F. oxysporum*, dan *Ganoderma* sp BTA1, 1 jenis isolat (FPR1) mampu menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*, *E. coli* dan *F. oxysporum*, 1 jenis isolat (FPR5) hanya mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp BTA1, 2 jenis isolat (TBR4, FPR2) hanya mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, dan 1 jenis isolat (AKA1) tidak mampu menghambat pertumbuhan semua mikroba target.

Kata kunci: aktinomisetes, tanah rizosfer, antimikroba, Riau

ABSTRACT

The aims of study are to isolate actinomycetes from rhizosphere soil, to determine the ability of actinomycetes to inhibit the growth of bacteria (*Streptococcus pyogenes* and *Escherichia coli*) and fungi (*Fusarium oxysporum* and *Ganoderma* BTA1). A total of 15 actinomycetes strains were recovered from rhizosphere soil samples using pour plate method with *Starch Casein Agar* (SCA). The results showed that 7 isolates (TBR1, TBR2, TBR3, MHG1, MHG3, MHG4, FPR4) were active against all microbial targets, 1 isolate (MHG2) was active against *S. pyogenes*, *F. oxysporum*, and *Ganoderma* sp BTA1, 2 isolates (MHG5, FPR3) were active against *E. coli*, *F. oxysporum*, and *Ganoderma* sp BTA1, 1 isolate (FPR1) was active against *S. pyogenes*, *E. coli* and *F. oxysporum*, 1 isolate (FPR5) was only active against *Ganoderma* sp BTA1, 2 isolates (TBR4, FPR2) were only active against *E. coli*, and 1 isolate (AKA1) was not active against all microbial targets.

Key words: actinomycetes, rhizosphere soil, antimicrobial, Riau

PENDAHULUAN

Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu (CB GSK-BB) merupakan cagar biosfer yang terletak di dua kabupaten di provinsi Riau (Kabupaten Bengkalis dan Kabupaten Siak). Kawasan ini memiliki karakteristik hamparan rawa gambut. Konsep cagar biosfer adalah sistem pengelolaan terpadu dan menyeluruh, memungkinkan pemanfaatan berkelanjutan dan pelibatan masyarakat sekitar dalam pengelolaannya (Bakosursutanal 2012). Keanekaragaman Hayati dari hasil survey LIPI menunjukkan terdapat bermacam jenis pohon berkayu di seperti kempas (*Koompassia malacensis*), Meranti batu (*Shorea uliginosa*), Meranti bunga (*Shorea teymanniana*), Punak (*Tetrameristra glabra*), dan Durian burung (*Durio carinatus*) (Maisal 2011).

Adanya tanaman pada daerah tersebut merupakan habitat bagi mikroorganisme. Tanah rizosfer adalah bagian tanah yang dipengaruhi oleh perakaran tanaman. Rizosfer dicirikan oleh lebih banyaknya kegiatan mikrobiologis dibandingkan kegiatan di dalam tanah yang jauh dari perakaran tanaman. Di daerah rizosfer terdapat eksudat akar berupa: enzim, asam amino, vitamin, faktor tumbuh, tanin, alkaloid dan bahan organik sisa jaringan tanaman (Rao 1994). Mikroorganisme yang menghuni tanah dapat dikelompokkan menjadi bakteri, aktinomisetes, jamur, alga dan protozoa (Rao 1994). Kira-kira 70% antibiotik dihasilkan oleh aktinomisetes (Suwandi 1993).

Aktinomisetes merupakan anggota yang dominan dari populasi mikroba tanah rizosfer dan (Sutedjo 1991). Aktinomisetes mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder yang berbeda-beda seperti antibiotik, antifungi, herbisida, pestisida, antiparasit dan enzim seperti selulase dan xilanase (Muthahanas dan Listiana 2008).

Penelitian Prapagdee (2008) berhasil mengisolasi aktinomisetes dari tanah rizosfer di lahan pertanian Thailand dengan menggunakan medium SCA (*Starch Casein Agar*), dan mampu menghambat pertumbuhan *Sclerotium rolfsii*. Muthahanas (2008) berhasil mengisolasi 45 isolat *Streptomyces* sp. dari beberapa tanah rizosfer (cabe sembalun, tomat bayan, bawang sembalun dan cabe aikmal), sebanyak 20 isolat yang berhasil diisolasi mampu menghambat pertumbuhan jamur

patogen tanaman (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, dan *S. rolfsii*). Berdasarkan hal diatas dan belum adanya informasi mengenai aktinomisetes dari tanah rizosfer CB GSK-BB, maka perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan aktivitas antimikroba aktinomisetes asal tanah rizosfer CB GSK-BB Riau. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antimikroba aktinomisetes asal tanah rizosfer CB GSK-BB Riau terhadap bakteri dan jamur

METODE PENELITIAN

Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau dan sampel tanah rizosfer diperoleh dari CB GSK-BB Riau. Organisme uji yang digunakan adalah bakteri gram positif (*S. pyogenes*) patogen koleksi laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan bakteri gram negatif (*E. coli*) patogen koleksi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau serta jamur *F. oxysporum* dan *Ganoderma* sp BTA1 yang merupakan koleksi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

Isolasi Aktinomisetes

Isolasi aktinomisetes dari sampel tanah rizosfer dilakukan dengan teknik *pour plate* menggunakan medium SCA. Sebanyak 1 gr sampel tanah rizosfer diencerkan dalam 9 ml larutan garam fisiologis 0,85% hingga pengenceran 10^{-4} kemudian divortex. Sampel dipipet sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} dan dimasukkan ke cawan petri steril sebanyak dua kali ulangan (duplo), kemudian ditambahkan medium SCA dengan cara *pour plate*, dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Kemudian diinkubasi selama 7 - 14 hari pada suhu kamar.

Pemurnian isolat aktinomisetes dilakukan dengan mengambil koloni yang terpisah yang menunjukkan ciri-ciri aktinomisetes dengan menggunakan ose dan digoreskan pada cawan agar SCA. Cawan agar diinkubasi pada suhu kamar selama 7 - 14 sampai koloni aktinomisetes tumbuh. Isolat-isolat ini kemudian diberi label dan disimpan dalam refrigerator.

Peremajaan isolat aktinomisetes dilakukan dengan cara memindahkan isolat aktinomisetes yang telah dimurnikan ke dalam medium SCA yang baru. Biakan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 7 - 14 hari sampai koloni aktinomisetes tumbuh.

Peremajaan *Streptococcus pyogenes* dan *Escherichia coli*

S. pyogenes dan *E. coli* diremajakan dengan menumbuhkan pada medium NA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam hingga koloni tumbuh. Setelah tumbuh disimpan ke dalam refrigerator sampai pada tahap pengerjaan berikutnya.

Peremajaan *Fusarium oxysporum* dan *Ganoderma* sp BTA1

F. oxysporum dan *Ganoderma* sp. BTA 1 diremajakan dengan menumbuhkan pada medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Setelah tumbuh disimpan ke dalam refrigerator sampai pada tahap pengerjaan berikutnya.

Karakterisasi Isolat Aktinomisetes

Karakterisasi isolat aktinomisetes dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni dari isolat yang tumbuh, meliputi bentuk, permukaan, tepian, elevasi, warna koloni, konsistensi, dan bau (Hadioetomo 1993) serta pengamatan bentuk hifa dengan menggunakan mikroskop.

Aktivitas Antimikroba Isolat Aktinomisetes terhadap Bakteri

Masing-masing stok inokulum *S. pyogenes* dan *E. coli* dengan jumlah inokulum 10^8 ml dimasukkan sebanyak 1 ml ke cawan steril, ditambahkan medium NA (*pour plate*). Setelah dibiarkan mengeras, masing-masing isolat aktinomisetes berumur 7 hari yang tumbuh di medium SCA dipotong dengan ukuran 6 mm x 6 mm. Potongan agar aktinomisetes ditransfer ke cawan NA yang masing-masing telah diinokulasikan bakteri target. Dalam uji ini, aktinomisetes dan bakteri target ditumbuhkan bersamaan. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Aktivitas antimikroba isolat aktinomisetes terhadap bakteri target ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar isolat uji (Suwandi 1993). Besarnya aktivitas dihitung dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk dikurangi dengan diameter koloni aktinomisetes (Yusnizar 2001).

Aktivitas Antimikroba Isolat Aktinomisetes terhadap Jamur

Masing masing stock inokulum *F. oxysporum* dan *Ganoderma* sp. BTA1 dengan jumlah inokulum 10^8 /ml dimasukkan sebanyak 1 ml ke cawan steril, kemudian ditambahkan medium PDA (*pour plate*). Setelah dibiarkan mengeras, masing-masing isolat aktinomisetes berumur 7 hari dipotong dengan ukuran 6 mm x 6 mm. Potongan agar aktinomisetes ditransfer ke cawan PDA yang masing-masing telah diinokulasikan jamur target. Dalam uji ini, aktinomisetes dan jamur target ditumbuhkan bersamaan. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Aktivitas antimikroba isolat aktinomisetes terhadap jamur target ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar isolat uji (Suwandi 1993). Besarnya aktivitas dihitung dengan mengukur

diameter zona bening yang terbentuk dikurangi dengan diameter koloni aktinomisetes (Yusnizar 2001).

Analisis Data

Data hasil isolasi aktinomisetes asal tanah rizosfer dari CB GSK-BB disajikan dalam bentuk tabel, untuk isolasi aktinomisetes dianalisa secara deskriptif berdasarkan pengamatan makroskopik (permukaan, bentuk koloni, tepian, elevasi, warna, konsistensi dan bau) dan pengamatan mikroskopik untuk bentuk hifa (Hadioetomo 1993). Aktivitas senyawa antimikroba menggunakan metode agar disk dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Aktinomisetes

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa diperoleh 15 isolat aktinomisetes yang diisolasi dari empat jenis tanah rizosfer yang berbeda.

Tabel 1. Jenis isolat aktinomisetes yang diperoleh dari masing-masing sampel tanah rizosfer Cagar Biosfer GSK-BB

Jenis tumbuhan	Jenis isolat	Kode isolat
Tenggek burung (famili Rutaceae)	4	TBR.1, TBR.2, TBR.3, TBR.4
Mahang (<i>Macaranga</i> sp.)	5	MHG.1, MHG.2, MHG.3, MHG.4, MHG.5
Akasia (<i>Acacia</i> sp.)	1	AKA.1
Prunus (<i>Prunus</i> sp.)	5	FPR.1; FPR.2; FPR.3; FPR.4; FPR.5

Ket : TBR: Tenggek burung, MHG: Mahang, AKA: Akasia dan FPR : Famili prunus.

Jenis isolat aktinomisetes yang paling banyak ditemukan adalah pada rizosfer mahang dan prunus (masing-masing lima isolat). Jenis isolat aktinomisetes yang paling sedikit ditemukan pada rizosfer akasia. Kondisi suhu, pH dan kelembaban dilokasi pengambilan sampel rizosfer mahang dan prunus berturut-turut adalah 30°C, 4 dan 50% dan 30°C, 4,6 dan 10% (Fahrizawati 2011). Banyaknya isolat aktinomisetes yang diperoleh dari rizosfer mahang dan prunus diduga dipengaruhi oleh jenis eksudat akar yang dihasilkan oleh tumbuhan tersebut yang mendukung pertumbuhan aktinomisetes.

Ambarwati (2007) berhasil mengisolasi dan mempurifikasi isolat aktinomisetes sebanyak 5 isolat dari rizosfer putri malu (*Mimosa pudica* L.) dengan kelembaban 7,91% dan pH 8,51 dan sebanyak 1 isolat dari rizosfer kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) dengan kelembaban 6,85% dan pH 8,3. Selanjutnya dinyatakan bahwa pH dan kelembaban merupakan faktor yang mempengaruhi kehidupan aktinomisetes

Karakterisasi Isolat Aktinomisetes

Sebanyak 15 jenis isolat yang berhasil diisolasi dari tanah rizosfer, dilakukan karakterisasi yang meliputi morfologi koloni antara lain bentuk koloni, permukaan, tepian, elevasi, warna koloni, konsistensi, bau seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakterisasi morfologi koloni masing-masing isolat aktinomisetes yang diperoleh dari sampel tanah rizosfer di Cagar Biosfer GSK-BB

Isolat	Morfologi koloni			
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
TBR. 1	Bundar	Seperti wol	Seperti tetesan	Krem
TBR. 2	Bundar	Seperti wol	Seperti tombol	Krem
TBR. 3	Bundar	Seperti wol	Seperti tetesan	Putih
TBR. 4	Bundar	Keriput	Seperti tombol	Putih
MHG. 1	Bulat tepian timbul	Licin	Timbul	Krem
MHG. 2	Konsentris	Licin	Timbul	Abu- abu

MHG. 3	Bulat tepian kerang	Berombak	Timbul	Krem
MHG. 4	Bulat tepian timbul	Licin	Timbul	Putih kecoklatan
MHG. 5	Keriput	Berombak	Timbul	Coklat
AKA. 1	Bulat tepian timbul	Licin	Datar	Putih kehijauan
FPR. 1	Keriput	Licin	Seperti tetesan -	Coklat
FPR. 2	Keriput	Berombak	Timbul	Abu-abu
FPR. 3	Bundar	Licin	Cembung	Abu-abu
FPR. 4	Bundar	Licin	Cembung	Coklat
FPR. 5	Bulat tepian timbul	Licin	Datar	Putih kekuningan

Karakterisasi ini bertujuan untuk mengetahui ciri-ciri aktinomisetes yang ditemukan. Semua isolat aktinomisetes yang ditemukan menunjukkan permukaan yang bertepung, konsistensi yang melekat kuat pada permukaan dan berbau serasah. Menurut Alexander (1976) bau serasah atau tanah yang dikeluarkan oleh isolat aktinomisetes merupakan hasil metabolisme yang terbentuk selama pertumbuhannya berupa gas yang disebut geosmin yang merupakan salah satu ciri khas yang dapat membedakan aktinomisetes dengan mikroba lain.

Aktivitas Antimikroba Isolat Aktinomisetes terhadap Bakteri dan Jamur Target

Hasil uji daya hambat 15 jenis isolat aktinomisetes terhadap bakteri target (*S. pyogenes* dan *E. coli*) dan jamur target (*F. oxysporum* dan *Ganoderma* sp BTA1) dengan metode agar disk terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona hambat isolat aktinomisetes asal tanah rizosfer terhadap bakteri dan jamur

Kode Isolat	Zona bening yang terbentuk (dalam mm)			
	Bakteri <i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i>	Jamur <i>F. oxysporum</i> <i>Ganoderma</i> sp BTA 1	
TBR 1	21	8,8	9,3	9,3
TBR 2	11,5	16,5	10,3	10,3
TBR 3	11,9	22,8	11,5	11,5
TBR 4	-	14	-	-
MHG 1	32,9	10,6	9,8	6
MHG 2	18,5	-	18	18
MHG 3	12	10,4	6,5	14
MHG 4	23	12,5	16	10,3
MHG 5	-	13,1	10	10,3
AKA 1	-	-	-	-
FPR 1	5,5	14,5	10,8	-
FPR 2	-	16,5	-	-
FPR 3	-	7,3	10,5	6,5
FPR 4	9,4	10	4,9	11,5
FPR 5	-	-	-	7,5

Zona bening yang terbentuk disekitar isolat aktinomisetes menunjukkan adanya kemampuan isolat aktinomisetes untuk menghambat pertumbuhan mikroba target. Pada Tabel 3 terlihat terdapat tujuh isolat yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap keempat mikroba target, satu isolat (TBR.4) hanya memiliki aktivitas antimikroba terhadap *E.coli* dan isolat AKA.1 tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap keempat mikroba target. Tidak adanya zona hambat yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes terhadap mikroba target tersebut diduga disebabkan karena masing-masing isolat aktinomisetes memiliki kemampuan berbeda-beda dalam menghasilkan metabolit sekunder. Dharmawan *et al.* (2009) menyatakan tidak terbentuknya zona hambat kemungkinan disebabkan oleh karena mikroba target tersebut telah mengalami resistensi terhadap antimikroba yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes.

KESIMPULAN

1. Diperoleh 15 isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi dengan menggunakan medium SCA.
2. Diperoleh 7 isolat aktinomisetes yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap empat mikroba target (TBR. 1, TBR. 2, TBR. 3, MHG. 1, MHG. 3, MHG. 4, FPR. 4).

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Second edition. Cornell University: New York.
- Ambarwati. 2007. Studi *Actinomycetes* yang berpotensi menghasilkan antibiotik dari rizosfer putri malu (*Mimosa pudica* L.) dan kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* 8 (1): 1 – 14.
- Bakosursutanal. 2012. www.riaudailyphoto.com/2012/04/cagar-biosfer-giam-siak-kecil.html. (diakses 19 April 2012).
- Dharmawan WE, Retno K, Made SP. 2009. Isolasi *Streptomyces spp.* pada kawasan hutan Provinsi Bali serta uji daya hambatnya terhadap lima strain diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jurnal biologi* 10 (1): 1 – 6.
- Fahrizawati. 2011. Eksplorasi dan uji daya hambat aktinomisetes asal tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu Riau terhadap bakteri dan jamur (Skripsi). Biologi FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.
- Hadioetomo. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. PT. Gramedia: Jakarta.
- Maisal RA. 2011. Lahirnya Cagar Biosfer di Riau. <http://gskbb.blogspot.com/2011/04/lahirnya-cagar-biosfer-di-riau.html>. (diakses 19 April 2012).
- Muthahanas I, Listiana E. 2008. Skrining *Streptomyces* sp. isolat Lombok sebagai pengendalian hayati beberapa jamur patogen tanaman. Jurusan Budidaya Fakultas Pertanian Universitas Mataram.
- Prapagdee, B, Kuekulvong C, Mongkolsuk, S. 2008. Antifungal potensial of extracelluler metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* againts phytophastogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences* 4 (5): 330 - 337.
- Rao S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. UI-Pres: Jakarta.
- Sutedjo MM, Kartasapoetra AG, Sastroatmodjo, S. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Rineka Cipta: Jakarta.
- Yusnizar. 2001. Skrining Aktinomisetes dari ekosistem air hitam yang menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* dan *Helminthosporium oryzae* serta spektrum aktivitasnya terhadap mikroba lain (Tesis). Institut Pertanian Bogor, Program Pasca Sarjana, Bogor.