

**UJI AKTIVITAS ISOLAT ACTINOMYCETES DARI TANAH  
SAWAH SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIK**

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh:**

**FATAH MIFTAKUL JANNAH  
K 100 090 148**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2013**

**PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI**

**Berjudul:**

**UJI AKTIVITAS ISOLAT ACTINOMYCETES DARI TANAH SAWAH  
SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIK**

Oleh :


**Fatah Miftakul Jannah  
K100090148**

Telah disetujui dan disahkan pada :

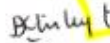
Hari : Rabu

Tanggal : 30 Januari 2013

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Dekan,

  
Dr. Muhammad Da'i, M. Si., Apt.

Penguji I



Ika Trisharyanti DK, M. Farm., Apt

Penguji II

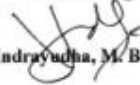


Rima Munawaroh, M. Sc., Apt

Pembimbing I

  
Ambarwati, M. Si

Pembimbing II

  
Peni Indrayudha, M. Biotech. Apt

Mahasiswa



Fatah Miftakul Jannah

**UJI AKTIVITAS ISOLAT ACTINOMYCETES DARI TANAH SAWAH  
SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIK**

***TEST ACTIVITIES OF ACTINOMYCETES ISOLATES FROM SOIL OF  
RICE FIELDS AS ANTIBIOTICS RESOURCH***

**Fatah Miftakul Jannah\*<sup>#</sup>, Ambarwati\*\*<sup>\*</sup>, dan Peni Indrayudha\***

**\*Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta**

**\*\*Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surakarta**

**Jl A Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102**

**<sup>#</sup>E-mail : Fatah\_miftakuljannah@ymail.com**

**ABSTRAK**

Actinomycetes merupakan bakteri yang sebagian besar terdapat dalam tanah dan mempunyai kemampuan sebagai penghasil antibiotik terbesar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah isolat Actinomycetes pada tanah sawah dan potensinya sebagai penghasil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

Penelitian ini menggunakan metode non eksperimental. Sampel tanah didapatkan dari tanah sawah yang ditanami padi jenis Joe Apu dari daerah Sukoharjo. Isolasi Actinomycetes dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate* pada media ScA (*Starch-casein* Agar) dan RhA (*Raffinosa-histidin* Agar). Untuk memurnikan isolat dilakukan purifikasi menggunakan metode *streak plate* pada media ScA. Identifikasi isolat Actinomycetes berdasarkan karakteristik koloni, pewarnaan Gram, dan *colour grouping*.

Pengujian terhadap bakteri uji menggunakan metode agar blok. Analisis hasil penelitian dilakukan secara kualitatif. Berdasarkan penelitian ini didapatkan 43 isolat, 3 isolat diantaranya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Isolat tersebut adalah TSR 13, TSR 46, dan TSR 53. Tetapi tidak ditemukan adanya isolat yang mampu menghambat *Salmonella typhi*.

Kata kunci : Actinomycetes, tanah sawah, antibiotik, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*

**ABSTRACT**

*Actinomycetes are bacteria that are mostly found in soil and have the ability as the largest producer of antibiotics. This study aims to find out the number of Actinomycetes isolates in soil of rice field and its potential as a producer of antibiotics that can inhibit the growth of Staphylococcus aureus and Salmonella typhi.*

*This study uses non-experimental methods. Soil samples obtained from the soil of rice field that is planted Joe Apu rice from Sukoharjo. Isolation of*

*Actinomycetes* is done by using pour plate methods in ScA (Starch-casein Agar) and RhA (Raffinosa-histidin Agar) media. Purification conducted using streak plate methods in ScA media. Identification of *Actinomycetes* isolates based on characteristics of colony, Gram staining, and color grouping. Tests on bacteria testing use agar block methods. Analysis of the results of research is conducted descriptively.

Based on this research, 43 isolates, 3 isolates among of them can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. Those isolates are TSR 13, TSR 46, and TSR 53. But there are no isolates are able to inhibit the growth of *Salmonella typhi*.

**Keywords:** *Actinomycetes*, soil of rice field, antibiotics, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*

## **PENDAHULUAN**

Saat ini banyak dikembangkan penelitian penghasil antibiotik, salah satunya dari *Actinomycetes*. *Actinomycetes* berhabitat di dalam tanah serta tersebar luas di tanah (Kar, 2008). Pada tanah kering fungi dan *Actinomycetes* lebih dominan (Hardjowigeno & Rayes, 2005). Menurut Suwandi (1993) 70% antibiotik dihasilkan oleh *Actinomycetes* terutama *Streptomyces*. Beberapa antibiotik yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* antara lain kloramfenikol dari *Streptomyces venezuelase*, eritromisin dari *Streptomyces erythreus*, linkomisin dari *Streptomyces lincolnensis*, vankomisin dari *Streptomyces orientalis*, dan streptomisin dari *Streptomyces griseus* (Jawetz *et al.*, 2005).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Oskay *et al.* (2004) berhasil mengisolasi *Actinomycetes* dari tanah pertanian sebanyak 50 isolat. Tujuh belas dari 50 isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas viridiflova*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis* subs, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Enterococcus faecalis* ATCC 10541, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 29998, *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Penelitian yang dilakukan oleh Manjula *et al.* (2009) ditemukan isolat *Actinomycetes* genus *Streptomyces* dari tanah di India sebanyak 13. Diantara 13 isolat tersebut 6 diantaranya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Isolat A2, A3, dan A5 dapat menghambat pertumbuhan

ketiga bakteri tersebut dengan besar hambatan lebih dari 10 mm. Isolat A4, A6 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*. Pada isolat A1 dapat menghambat ketiga bakteri tersebut tetapi zona hambatannya kurang dari 5 mm.

Ambarwati & Trisnawati (2009) berhasil mengisolasi isolat Actinomycetes dari tanah sawah di daerah Klaten yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tetapi tidak ada isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* ATCC 35218.

Hal itu mendorong untuk dilakukan penelitian uji aktivitas isolat Actinomycetes dari tanah sawah di daerah Sukoharjo sebagai penghasil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Salmonella typhi* merupakan wakil dari bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai wakil dari bakteri Gram positif.

## **KATEGORI DAN METODE PENELITIAN**

### **A. Kategori Penelitian**

Berdasarkan metode penelitiannya merupakan penelitian non eksperimental.

### **B. Bahan dan Alat**

#### 1. Bahan yang digunakan

Sampel tanah sawah, aquadest, larutan ringer, media *Starch-casein* Agar (ScA), media *Raffinosa-histidin* Agar (RhA), media *Oatmeal* Agar (OA), nistatin, pewarna Carbol gentian violet, pewarna iodium, alkohol 95%, pewarna safranin, minyak imersi, bakteri *Salmonella typhi*, dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### 2. Alat-alat yang digunakan

Cawan petri (Herma<sup>®</sup>, Normax<sup>®</sup>) steril, spatula, lilin, cawan porselin (Herma<sup>®</sup>), oven (Memmert<sup>®</sup>), mikropipet (Health<sup>®</sup>), *blue tips*, timbangan analitik (Acis<sup>®</sup> CAD-360H), *beaker glass* (Pyrex<sup>®</sup>) ukuran 50 mL, pengaduk gelas, pH meter, botol universal, tabung reaksi (Pyrex<sup>®</sup>), pipet (Pyrex<sup>®</sup>) steril,

*vortex mixer* (Health<sup>®</sup>), *colony counter* (Stuart Scientific<sup>®</sup>), autoklaf (One Med<sup>®</sup>), ose steril, *objek glass*, bunsen, *tissue*, mikroskop (Olympus<sup>®</sup>), perangkat digital mikroskop (Optilab<sup>®</sup> CPU Intel RAM 512 MB), dan *cork borer* diameter 6 mm.

## **JALANNYA PENELITIAN**

### **A. Pengambilan Sampel Tanah Sawah**

Sampel tanah diambil secara aseptis dari tanah sawah yang ditanami padi jenis Joe Apu yang berumur 80 hari milik Bapak Budi Kiswanto di daerah Rojoniten RT 02/01, Ngemplak Boti, Kartosuro, Sukoharjo. Pengambilan sampel dalam keadaan basah. Dicatat tanggal pengambilan, lokasi pengambilan, temperatur, pH, dan kelembaban tanah. Sampel tanah diletakkan dalam cawan petri dan dibiarkan di udara terbuka selama 4 hari.

### **B. Estimasi Berat Kering Sampel Tanah**

Suspensi sampel dengan nilai pengenceran  $10^{-1}$  yang tersisa dipindahkan ke dalam cawan porselin yang sudah diketahui beratnya. Selanjutnya cawan porselin yang berisi suspensi sampel tersebut dimasukkan dalam oven suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam untuk mengeringkan air. Setelah kering ditimbang untuk mengetahui berat kering tanah.

### **C. Estimasi Kelembaban Sampel Tanah**

Satu gram tanah ditimbang lalu dimasukkan dalam cawan porselin yang sudah diketahui beratnya, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam atau sampai beratnya konstan, nilai kelembaban sampel tanah dinyatakan sebagai persentase rata-rata kehilangan berat tanah selama pemanasan.

### **D. Penentuan pH Sampel Tanah**

Diambil kira-kira 2 gram sampel tanah lalu dimasukkan dalam *beacker glass* ukuran 50 mL dan ditambahkan *aquadest* sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan batang pengaduk. Penambahan *aquadest* dilanjutkan hingga terbentuk lapisan air di permukaan masa sampel tanah lalu dibiarkan selama 30 menit sampai 1 jam. Pengukuran nilai pH dilakukan dengan pH meter kemudian dibaca dan dicatat. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali dan hasilnya dirata-rata.

### **E. Ekstraksi Propagol dari Sampel Tanah**

Tanah ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditempatkan pada botol universal. Setelah itu ditambahkan 9 ml larutan ringer dan dikocok selama 5 menit (suspensi ini merupakan pengenceran  $10^{-1}$ ). Setelah itu suspensi sampel diletakkan dalam air panas ( $50^{\circ}\text{C}$ ) selama 10 menit. Diambil 5 tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 9 ml larutan ringer dengan pipet steril. Dimasukkan 1 ml suspensi dari pengenceran  $10^{-1}$  ke salah satu tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan ringer, dan dikocok secara merata, suspensi ini mempunyai tingkat pengenceran  $10^{-2}$ . Dengan cara yang sama, dibuat suspensi dengan tingkat pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$  (Ambarwati & Trisnawati, 2009).

#### **F. Isolasi Selektif Actinomycetes**

Masing-masing tingkat pengenceran, diambil sampel sebanyak 1 mL dan diinokulasikan secara *pour plate* pada medium *Starch-casein Agar* (ScA) dan *Raffinosa Histidin* (RhA) dengan penambahan nistatin sebagai antifungi. Medium yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu (Ambarwati, 2007).

#### **G. Purifikasi Actinomycetes**

Koloni yang tumbuh pada media diamati. Setiap koloni yang memiliki kenampakan berbeda diisolasi pada media ScA hingga diperoleh isolat murni dan ditumbuhkan secara *streak plate*. Isolat diinkubasi pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu. Isolat diduga sebagai anggota Actinomycetes terutama *Streptomyces* bisa diamati dari terbentuknya miselium dan warna isolat.

#### **H. Colour Grouping Actinomycetes**

Isolat yang telah dipurifikasi diinokulasi pada media Oatmeal agar. Caranya diambil satu ose isolat dan ditumbuhkan secara *spread plate* pada media *Oatmeal* agar. Medium yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama 2 minggu. Diamati warna isolat yang tumbuh.

#### **I. Pewarnaan Gram**

Pada isolat yang telah dipurifikasi dilakukan pewarnaan Gram.

#### **J. Uji Isolasi Actinomycetes sebagai Penghasil Antibiotik**

Dibagi menjadi 2 skrining yaitu :

1. Skrining awal

Skrining ini digunakan untuk menentukan Actinomycetes yang mempunyai daya hambat positif dan negatif dengan cara isolat-isolat yang telah dipurifikasi diuji cobakan pada bakteri uji, yaitu *Salmonella thypi* sebagai bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif. Metode yang digunakan adalah *agar block*. Dibuat kultur agar pada cawan dari bakteri uji (diambil 1 mL suspensi dari tiap-tiap bakteri uji, ditambahkan media *Nutrient Agar* cair (Oxoid), diratakan dan dipadatkan. Selanjutnya cawan petri dibagi menjadi empat kuadran. Setelah itu agar pada cawan dilubangi dengan *cork borer* berdiameter 6 mm. Dengan cara yang sama dibuat *agar block* biakan isolat Actinomycetes, *agar block* yang terbentuk ditempatkan pada lubang agar cawan pada salah satu kuadran, langkah yang sama pada tiga kuadran lainnya, langkah selanjutnya, semua biakan diinkubasi pada suhu 37°C. Dan diamati ada tidaknya zona hambat.

## 2. Skrining lanjutan

Isolat yang berpotensi memiliki daya hambat (+) dilakukan skrining lebih lanjut dengan menggunakan 3 replikasi. Dilakukan cara yang sama dengan skrining awal.

## **ANALISIS DATA**

Analisis data dilakukan secara deskriptif yaitu dengan mengamati ada tidaknya zona hambat dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yang mampu dihambat oleh Actinomycetes.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel tanah dilakukan secara aseptis untuk menghindari kontaminan. Dilakukan dengan cara mendekatkan lilin dengan cawan petri pada saat sampel tanah diambil. Lilin sebagai pengganti bunsen yang berfungsi untuk menciptakan lingkungan steril. Pengambilan sampel dilakukan pada lima titik yang berbeda (Devi & Chhetry, 2012) dengan jarak masing-masing kurang lebih 50 cm. Sampel diletakkan dalam cawan petri dan dibiarkan di udara terbuka selama 4 hari untuk mengurangi kelembaban (Ambarwati, 2007). Menurut Sari *et*



*al.* (2012) jumlah Actinomycetes dalam tanah dipengaruhi oleh kelembaban, suhu, dan pH.

Menurut Kanti (2005) Actinomycetes dapat tumbuh dalam rentang pH antara 6,5 – 8,0. Besar kecilnya pH dapat mempengaruhi banyak sedikitnya jumlah Actinomycetes. Semakin asam maka kandungan Actinomycetes terutama Streptomyces akan menurun (Lee & Hwang, 2002). Pada pH < 5 hanya terdapat <1% Actinomycetes (Waluyo, 2009). Pada penelitian ini pH tanah sawah sebesar 7,58.

Actinomycetes dapat tumbuh dengan sempurna pada nilai kelembaban yang rendah yaitu kurang dari 0,98% (Zenova *et al.*, 2007) sehingga berbeda dengan bakteri yang lebih menyukai kondisi kelembaban yang tinggi (Ambarwati, 2007). Oleh karena itu dalam preparasi, sampel tanah diangin-anginkan selama 4 hari yang bertujuan untuk mengurangi nilai kelembaban dari sampel sehingga bakteri akan berkurang karena mati (Ambarwati, 2007). Nilai kelembaban dari sampel tanah didapat 0,94% sehingga optimal untuk pertumbuhan Actinomycetes yang diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Nilai kelembaban ekuivalen dengan berat kering. Semakin rendah nilai kelembaban maka berat kering semakin rendah dan baik untuk pertumbuhan Actinomycetes.

## **B. Isolasi dan Purifikasi**

Media *Starch-casein* Agar (ScA) dan *Raffinosa histidin* Agar (RhA) merupakan media yang selektif untuk pertumbuhan Actinomycetes (Ambarwati, 2007 & Sembiring *et al.*, 2000). Dalam pembuatan media ScA dan RhA dilakukan penambahan nistatin yang berfungsi sebagai antifungi. Pertumbuhan bakteri juga ditekan dengan cara memanaskan suspensi tanah pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 10 menit (Ambarwati, 2007). Menurut Haryati (2012) bakteri selain Actinomycetes rentan pada suhu 50<sup>0</sup>C sehingga Actinomycetes masih dapat tumbuh dalam jumlah yang banyak. Semakin tinggi suhu yang digunakan untuk pre-preparasi jumlah Actinomycetes yang didapatkan akan semakin sedikit (Haryati, 2012) karena Actinomycetes tidak suka terhadap keadaan yang panas

(Waluyo, 2009). Setelah itu inokulan diinkubasi pada suhu 28<sup>0</sup>C selama 14 hari (Sembiring *et al.*, 2000).

Lama pertumbuhan pada Actinomycetes berbeda dengan pertumbuhan bakteri. Actinomycetes mempunyai pertumbuhan yang lebih lambat. Bakteri dapat tumbuh dalam waktu 24 jam sedangkan Actinomycetes dapat tumbuh setelah 5 hari (Manjula *et al.*, 2009). Isolat yang tumbuh kemudian dihitung jumlah koloninya dengan *colony counter*. Isolat yang tumbuh dalam media RhA mempunyai struktur yang lebih besar daripada dalam media ScA. Jumlah isolat pada media ScA lebih banyak daripada jumlah isolat pada media RhA. Jumlah isolat pada media ScA 1. 193. 560 kol/g dan pada media RhA 1. 311. 776 kol/g.

Berdasarkan isolasi pada media ScA dan RhA koloni yang memiliki penampakan berbeda dilakukan purifikasi untuk memperoleh isolat Actinomycetes yang murni. Dilakukan dengan memindahkan tiap isolat yang tumbuh pada saat isolasi ke dalam media ScA. Inkubasi dilakukan pada suhu 28<sup>0</sup>C selama 2 minggu. Penelitian ini mendapatkan isolat murni sebanyak 43 isolat.

### **C. Colour Grouping**

*Colour grouping* dilakukan dengan melihat warna yang terbentuk pada miselium udara, miselium vegetatif, dan warna terdifusi atau tidak terdifusi ke media (Sembiring *et al.*, 2000). Miselium udara adalah miselium yang berhubungan langsung dengan udara. Actinomycetes juga memiliki hifa yang dikelilingi oleh selubung (*sheath*) hidrofobik yang mengarah dari permukaan koloni ke udara. Miselium vegetatif adalah miselium yang berada pada bagian bawah. Dalam pengamatan miselium vegetatif, warna yang terbentuk dapat terdifusi atau tidak terdifusi ke media OA (*Oatmeal Agar*). Miselium dikatakan terdifusi jika pigmen yang terdapat dalam sel Actinomycetes mampu mengubah warna media dan menyebar di dasar media (Susilowaty *et al.*, 2007).

Menurut Susilowaty *et al.* (2007) perbedaan warna pada media OA disebabkan karena adanya perbedaan kandungan pigmen dalam sel Actinomycetes. Dan masing-masing warna tersebut tergantung dari jenis Actinomycetesnya. Pengamatan Actinomycetes dapat dilakukan dengan mata

telanjang (Sembiring *et al.*, 2000) sehingga persepsi warna antara orang yang satu dengan yang lain dapat berbeda. Pembentukan warna inilah yang membedakan antara Actinomycetes dengan bakteri, pada bakteri tidak dapat membentuk warna jika ditanam dalam media OA sedangkan Actinomycetes dapat membentuk warna. Pada penelitian ini didapatkan 21 kelompok *colour grouping* (Tabel 1).

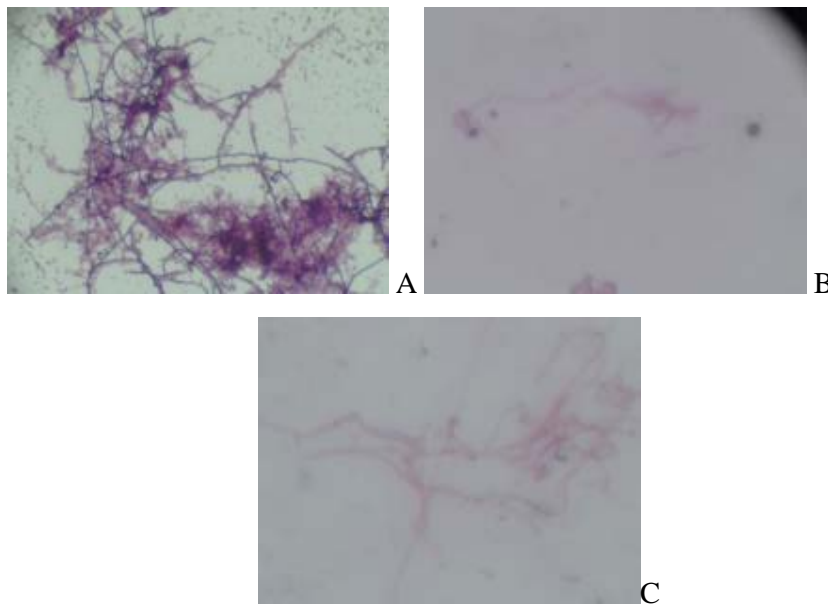
Alimuddin *et al.* (2011) berhasil mengelompokkan isolat Actinomycetes menjadi 17 kelompok warna. Lima puluh tiga persen miselium udara isolat berwarna abu-abu. Penelitian yang dilakukan Kumar *et al.* (2010) sebagian besar miselium udara berwarna putih. Selain warna abu-abu dan putih ditemukan miselium udara berwarna coklat, kuning, krem, dan pink. Oleh karena itu Actinomycetes mempunyai keanekaragaman yang bervariasi dan perlu digali lebih lanjut keanekaragaman dari Actinomycetes.

**Tabel 1. Colour grouping isolat Actinomycetes**

Group ke-	Warna Miselium Udara	Warna Miselium Vegetatif	Warna Pigmen Terdifusi	Jumlah Isolat	Isolat
1	Pink Muda	Putih Pink	-	1	TSR 75
2	Hitam	Coklat Tua	-	1	TSR 81
3	Hijau Kuning	Hijau	Hijau	1	TSR 26
4	Krem	Kuning	-	3	TSR 27, TSR 3, TSR 42
5	Abu-abu Tua	Hijau	-	1	TSR 51
6	Ungu	Ungu	-	2	TSR 13, TSR 14
7	Abu-abu Tua	Abu-abu	-	4	TSR 45, TSR 76 TSR 59, TSR 46
8	Abu-abu Muda	Abu-abu	-	6	TSR 50, TSR 79, TSR 4, TSR 73, TSS 82, TSS 77
9	Krem	Kuning Muda	-	1	TSR 70
10	Abu-abu Muda	Kuning Muda	Kuning Muda	1	TSR 11
11	Salem Muda	Salem	-	1	TSR 1
12	Putih	Putih	-	4	TSR 9, TSS 78, TSR 74, TSR 68
13	Krem	Kuning Muda	Kuning Muda	1	TSR 10
14	Krem	Putih	-	1	TSR 15
15	Putih	Putih	Putih	6	TSR 18, TSR 49, TSR 52, TSR 61, TSR 62, TSR 31
16	Pink	Salem – Pink	-	1	TSR 53
17	Salem Muda	Orange	-	1	TSR 60
18	Putih	Putih-Kuning	-	3	TSR 36, TSR 84, TSR 17
19	Krem	Kuning	Kuning	1	TSR 80
20	Abu-abu Muda	Abu-abu Muda	-	2	TSR 54, TSR 55
21	Coklat Muda	Coklat Tua	-	1	TSR 67

#### D. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram digunakan untuk melihat morfologi sel dari Actinomycetes. Menurut Waluyo (2009) morfologi Actinomycetes mirip dengan fungi yaitu tumbuh dalam bentuk filamen miselium dan membentuk spora. Pengamatan pada mikroskop dilakukan dengan perbesaran 1000x (obyektif 100x dan okuler 10x) (Nanjwade *et al.*, 2010). Dengan pengamatan melalui mikroskop dapat dibedakan antara fungi dengan Actinomycetes. Actinomycetes dan fungi sama-sama mempunyai hifa. Sehingga secara kasat mata pada usia Actinomycetes yang sudah tua morfologinya secara makroskopik hampir sama. Untuk membedakannya dapat diamati secara mikroskopis. Hifa yang dimiliki fungi mempunyai ukuran yang lebih besar daripada hifa pada Actinomycetes (Ambarwati, 2007). Pada perbesaran 40x hifa pada fungi terlihat jelas. Sedangkan hifa pada Actinomycetes terlihat serabut pada perbesaran 1000x. Dari hasil pengecatan Gram diketahui isolat Actinomycetes memiliki sel berbentuk batang bercabang, berwarna ungu, dan Gram positif (Gambar 1).



**Gambar 1. Pengecatan Gram isolat Actinomycetes**

**Keterangan :**

- A : Pengecatan Gram isolat TSR 13
- B : Pengecatan Gram isolat TSR 46
- C : Pengecatan Gram isolat TSR 53

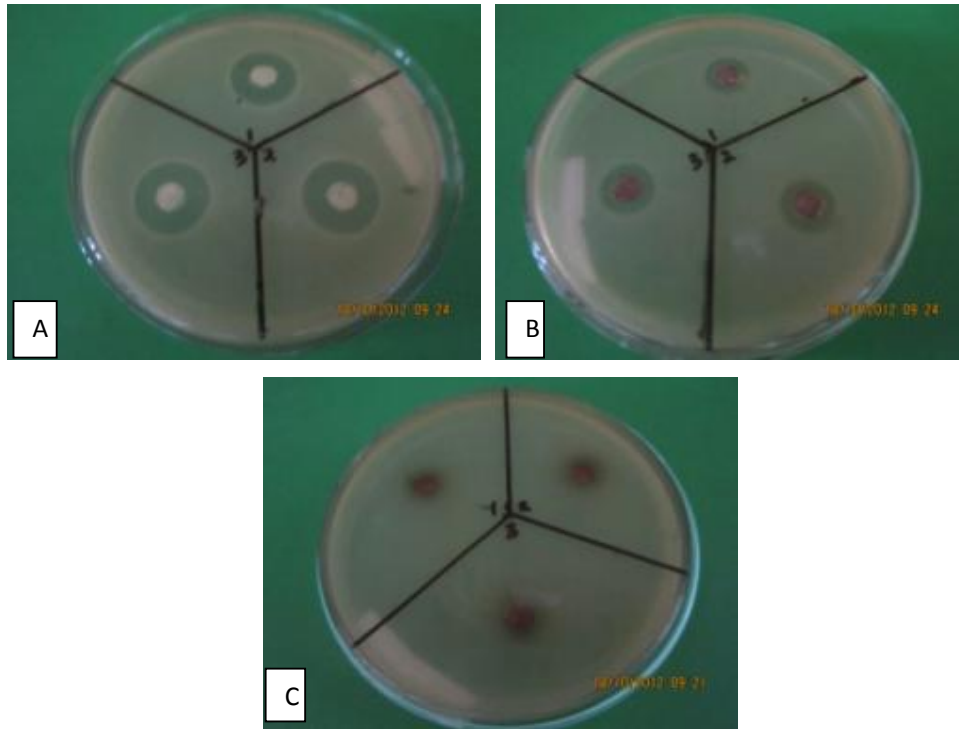
### E. Uji Potensi Antibiotik

Pengujian antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode *agar block* (Nedialkova & Naidenova, 2005). Actinomycetes dapat menghasilkan antibakteri karena aktivitas metabolit sekunder yang dihasilkan isolat Actinomycetes (Singh *et al.*, 2006). Berdasarkan pengujian diantaranya 43 isolat didapatkan 3 isolat yang positif dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Isolat tersebut adalah TSR 13, TSR 46, dan TSR 53 (Tabel 2 & Gambar 2). Tetapi tidak ada isolat yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Pada penelitian Pandey *et al.* (2011) Actinomycetes yang diisolasi dari pekarangan tanah rumah sakit Dr. Ram Manohar Lohia Hospital dan RML Park di Lucknow India mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 30 mm. Ambarwati & Trisnawati (2009) membuktikan bahwa isolat Actinomycetes yang diisolasi dari tanah sawah di daerah Klaten mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* tetapi tidak mampu menghambat bakteri *Eschericia coli*.

Penghambatan bakteri uji oleh isolat Actinomycetes diasumsikan akibat adanya senyawa antibakteri hasil metabolit sekunder Actinomycetes yang disekresikan pada media. Semakin banyak senyawa antibakteri yang disekresikan ke media semakin besar zona hambatannya (Susilowati *et al.*, 2007). Pada penelitian ini tidak ditemukan hambatan terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri Gram negatif. Penelitian sebelumnya jarang ditemukan hasil yang positif terhadap bakteri Gram negatif. Hal ini dimungkinkan disebabkan karena selubung sel Gram negatif sangat kompleks dan strukturnya berlapis-lapis. Sedangkan pada Gram positif selubung selnya relatif sederhana dan terdiri dari 2-3 lapis (Jawetz *et al.*, 2005).

**Tabel 2. Hasil uji antibiotik isolat Actinomycetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus***

Isolat	Rep			Keterangan
	1	2	3	
TSR 46	+	+	+	Positif
TSR 53	+	+	+	Positif
TSR 13	+	+	+	Positif



**Gambar 2.** Hasil uji antibiotik isolat Actinomycetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

**Keterangan :**

- A** : Hasil uji isolat TSR 46  
**B** : Hasil uji isolat TSR 53  
**C** : Hasil uji isolat TSR 13

Mekanisme kerja antibakteri yang dihasilkan oleh Actinomycetes adalah dengan menghambat sintesis protein (Mutschler, 1999). Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein akan mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat (Suwandi, 1993) dan selektif (Spicer, 2000).

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**A. KESIMPULAN**

1. Jumlah isolat Actinomycetes yang didapat dari tanah sawah sebanyak 43 isolat.
2. Tiga isolat Actinomycetes yang diisolasi dari tanah sawah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Isolat tersebut adalah TSR 13, TSR 46, dan TSR 53. Tetapi tidak ada isolat yang mempunyai hambatan terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

## B. SARAN

Perlu dilakukan uji KLT dan bioautografi untuk mengetahui kandungan senyawa yang dihasilkan dari metabolit sekunder Actinomycetes yang dapat berfungsi untuk menghambat bakteri uji.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini dalam program hibah pekerti.

## DAFTAR ACUAN

- Alimuddin, W, J., Asmara, W. & Mustofa., 2011, Antifungal Production of Strain of Actinomycetes spp Isolated from the Rhizosfer of Cajuputi Plant : Selection and Detection of Exhibiting Activity Against Tested Fungi, *Indonesian Journal of Biotechnology*, 16 (1), 1-10.
- Ambarwati, 2007, Studi Actinomycetes yang Berpotensi Menghasilkan Antibiotik dari Rhizosfer Tumbuhan Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) dan Kucing-kucingan (*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.
- Devi, T. R. & Chhetry, GKN., 2012, Rhizosphere and non Rhizosphere Microbial Population Dynamics and Their Effect on Wilt Causing Pathogen of Pigeonpea, *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2(5), 1-4.
- Hardjowigeno, S & Rayes L., 2005, *Tanah Sawah*, 138, Bayu Media, Jawa Timur.
- Haryati, R. S., 2012, Populasi Actinomycetes dari Pasir Pantai Krakal Yogyakarta dengan Pretreatment yang Berbeda, *Skripsi*, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Eddy Mudihardi, Kuntaman, Eddy Bagus Wasito, Ni Made Mertaniasih, Setio Harsono, & Lindawati Alimsardjono., 224, 260-262, Salemba Medika, Jakarta.
- Kanti, A., 2005, Actinomycetes Selulolitik dari Tanah Hutan Taman Nasional Bukit Dua Belas Jambi, *Biodiversitas*, 6(2), 85-89.

- Kar, A., 2008, *Pharmaceutical Microbiology*, New Age International Ltd, Publishers, New Delhi.
- Kumar, N., Singh, R. K., K. S. Mishra., K. Singh. A. & C. Pachouri U., 2010, Isolation and Screening of Soil Actinomycetes as Source of Antibiotics Active Against Bacteria, *International Journal of Microbiology Research*, 2(2), 12-16.
- Lee, J. Y. & Hwang, B.K., 2002, Diversity of Antifungal Actinomycetes in Various Vegetative Soils of Korea, *Canadian Journal of Microbiology*, 48, 407-417.
- Manjula, C., Rajaguru, P. & Muthuselvam, M., 2009, Screening for Antibiotic Sensitivity of Free and Immobilized Actinomycetes Isolated from India, *Advances in Biological Research*, 3(4), 84-88.
- Mutschler, E, 1999, *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*, Edisi Kelima, Alih Bahasa Widiyanto, M. B. & Ranti, A. S., 635, Penerbit ITB, Bandung.
- Nanjwade, B. K., Chandrashekhara, S., Goudanavar, P. S., Shamarez, A. M. & Manvi, F. V., 2010, Production of Antibiotics from Soil-Isolated Actinomycetes and Evaluation of Their Antimicrobial Activities, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, August, 9(4), 373-377.
- Nedialkova, D. & Naidenova, M., 2005, Screening the Antimicrobial Activity of Actinomycetes Strains Isolated from Antarctica, *Journal of Culture Collection*, 4, 29-35
- Oskay, M., Tamer, A. Ü. & Azeri, C., 2004, Antibacterial Activity of Some Actinomycetes Isolated from Farming Soils of Turkey, *African Journal of Biotechnology*, 3, 441-446.
- Pandey, A., Ali, I., Butola, K. S., Chatterji, T. & Singh, V., 2011, Isolation and Characterization of Actinomycetes from Soil and Evaluation of Antibacterial Activities of Actinomycetes Against Pathogens, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(4), 384-392.
- Sari, D. W., Pramuda, H., & Zubaidah, E., 2012, Aktivitas Antijamur dan Fraksinasi Ekstrak Butanol dari Isolat Actinomycetes AT 00244 Terhadap Jamur Fitopatogen Tanaman Kopi (*Coffea Sp.*), *Rosselinia bunodes*, dan *Phellinus lamanoensis*, *Laporan Penelitian*, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Minat Bioteknologi Agroindustri Pasca Sarjana, Universitas Brawijaya.



- 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 Leeuwenhoek*, 78, 353-366.
- Singh, L. S., Baruah, I. & Bora, T. C., 2006, Actinomycetes of Loktat Habitat : Isolation and Screening for Antimicrobial Activities, *Biotechnology*, 5(2), 217-221.
- Susilowati, D. N., Hastuti, R. D. & Yuniarti, E., 2007, Isolasi dan Karakterisasi Aktinomisetes Penghasil Antibakteri Enteropatogen *Eschericia coli* K1. 1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes* 5407, *Jurnal Agro Biogen*, 3(1), 15-23.
- Suwandi, U., 1993, Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik, *Cermin Dunia Kedokteran*, 89, 46-48.
- Waluyo, L., 2009, *Mikrobiologi Lingkungan*, 266-268, UMM Press, Malang.
- Zenova, G. M., Manucharova, N. A. & Zvyagintsev, D. G., 2011, Extremophilic and Extremotolerant Actinomycetes in Different Soil Types, *Eurasian Soil Science*, 44(4),  
<http://link.springer.com/article/10.1134%2FS1064229311040132?LI=true>  
(diakses tanggal 25 November 2012).