

POTENSI *ACTINOMYCETES* YANG DIISOLASI DARI RHIZOSFER PINUS (*Pinus merkusii*) ASAL DESA LIMAPOCCOE KECAMATAN CENRANA KABUPATEN MAROS SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA

A. Rufaidah Hashary, Alhidayattullah, Alifia Awalia Nur

Prodi D-III Farmasi STIKes Salewangang Maros

Email: ifahhashary@gmail.com

ABSTRAK

Hutan pinus merupakan salah satu daerah yang memungkinkan ditemukannya *actinomycetes* secara melimpah. Hal ini disebabkan evapotranspirasi pinus yang tinggi dibandingkan pohon lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat *actinomycetes* pada rhizosfer (*pinus merkusii*) yang berada di kawasan hutan pinus di Desa Limapocoe dan apakah *actinomycetes* yang diperoleh memiliki aktivitas antimikroba. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental. Isolasi *actinomycetes* dilakukan dengan mengambil tanah dari rhizosfer pinus (*pinus merkusii*) menggunakan media HV, lalu dimurnikan pada media YMEA dan pengujian daya hambat berdasarkan metode difusi dengan menggunakan media MEA. Hasil penelitian ini menunjukkan, bahwa terdapat *actinomycetes* pada rhizosfer pinus (*pinus merkusii*) dan setelah dimurnikan diperoleh 2 isolat murni yakni AC₁ dan AC₂ setelah itu kedua isolat yang diperoleh menunjukkan adanya aktivitas daya hambat pada 3 mikroba uji yaitu; *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, dan *Candida albicans*. Penghambatan oleh isolat *actinomycetes* terhadap mikroba uji *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, dan *Candida albicans* dengan nilai penghambatan terbaik berturut-turut adalah 42.25 mm, 39.75 mm dan 30.75 mm. Nilai penghambatan kontrol positif (Kloramfenikol) terhadap *Vibrio cholerae* dan *Salmonella* sp. berturut-turut adalah 23.75 mm dan 25.83 mm, sedangkan kontrol positif (Ketoconazole) terhadap *Candida albicans* adalah 10 mm. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat *actinomycetes* yang diperoleh dari rhizosfer pinus (*pinus merkusii*) dari Desa Limapocoe, Kecamatan Cenrana, Kabupaten Maros dapat menghambat *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, dan *Candida albicans*.

Kata Kunci : Hutan pinus, Actinomycetes, Tanah rhizosfer, Antimikroba

PENDAHULUAN

Pinus adalah salah satu jenis kayu khas tropis yang bernilai komersial cukup baik dipasaran. Pinus terdiri dari banyak jenis yang berbeda-beda, tetapi hanya ada dua jenis yang banyak beredar dipasaran sebab kedua jenis pinus ini memang banyak dikenal memiliki kualitas paling baik diantara jenis-jenis lainnya yakni pinus radiata dan *Pinus merkusii* (Shifaukah, 2010).

Kondisi kawasan hutan pinus pada umumnya merupakan lingkungan yang kaya bahan organik dan merupakan habitat yang mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa literatur juga mendukung bahwa kawasan hutan pinus sangat potensial untuk isolasi mikroba khususnya *actinomycetes* yang mempunyai aktivitas untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang berguna (Uno dkk., 2012).

Kelompok bakteri gram-positif penghasil senyawa aktif terbanyak dibandingkan dengan bakteri ataupun cendawan adalah *actinomycetes*. Senyawa aktif yang dihasilkan seperti antimikroba, antikanker, antivirus, maupun antikoolesterol (Dewi, 2014).

Manfaat dari *actinomycetes* yakni dapat menghasilkan jenis senyawa farmakologis seperti antioksidan, antitumor serta antibakteri. *Actinomycetes* dianggap sebagai sumber potensial untuk produksi antibiotik, metabolit sekunder dan senyawa bioaktif (Janardhan *et al.*, 2014).

Hasil penelitian Sukmawaty *et al* (2020) mengatakan bahwa terdapat 15 isolat *actinomycetes* yang diisolasi dari tanah *Rhizosfer* hutan pinus Malino yang dimana semua isolat menghasilkan pigmen dan memiliki miselium udara. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa sebanyak 12 isolat bergenus *streptomycetes* berpotensi menghasilkan antimikroba. Selain itu menurut Nurjasmu dan Suryani (2012) menambahkan, bahwa sebanyak 12 isolat *actinomycetes* yang telah berhasil diisolasi dari Hutan Pinus Gunung Bunder Bogor mempunyai kemampuan menghambat *Culvularia* sp.

Desa Limapocoe merupakan salah satu desa yang berada di Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros yang memiliki hutan pinus, yang dimana menurut Sukmawaty *et al* (2020) mengatakan bahwa kawasan pinus merupakan lingkungan yang mencolok eksplorasi *actinomycetes*.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti melakukan penelitian tentang “Potensi *Actinomycetes* yang diisolasi dari Rhizosfer *Pinus Merkusii* asal Desa Limapocoe, Kecamatan Cenrana, Kabupaten Maros”.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimental dengan melakukan percobaan di laboratorium Mikrobiologi STIKes Salewangang Maros. Pada penelitian ini, peneliti ingin mengetahui potensi *actinomycetes* yang diisolasi dari Rhizosfer *Pinus Merkusii* di Desa Limapocoe Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros sebagai penghasil antimokroba.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, inkubator, jangka sorong, *laminar air flow*, lemari pendingin, mikro pipet, oven, dan timbangan analitik.

Bahan yang digunakan aquadest, antibiotik berupa ketoconazole dan kloramfenikol, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*., *Candida albicans*, media HV (*Humic Vitamin*), NA (*Natrium Agar*), PDA (*Potato Dextrose Agar*), YMEA (*Yeast Malt Ekstrak Agar*), MEA (*Malt Ekstrak Agar*), dan sampel tanah Rhizosfer.

Pengambilan sampel

Sampel untuk isolasi *actinomycetes* diperoleh dari tanah daerah Rhizosfer pinus diambil secara acak pada 3 titik sampling. Sampel ditempatkan dalam pot steril kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan analisis fisiko-kimia terhadap sampel tanah meliputi pH, dan suhu.

Pembuatan Media

1. Media YMEA (*Yeast Malt Ekstrak Agar*)

Ditimbang media *Yeast Malt East Agar* sebanyak 5,5 gr, dilarutkan dalam 250 ml aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Dipanaskan diatas *hotplate* sampai mendidih. Setelah itu didiamkan hingga dingin, lalu ditutup dengan kapas. Kemudian media disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 180°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media dituangkan kedalam cawan petri. Proses ini dilakukan didekat nyala api bunsen, kemudian didiamkan selama ± 15 menit.

2. Media HV

Ditimbang bahan-bahan komposisi media *Yeast Malt East Agaryakni* 0,1% asam humat, 0,002% CaCO₃, 0,001% FeSO₄, 0,171% KCL, 0,005% MgSO₄.7H₂O, 0,05% Na₂ HPO₄, 2% Bacto Agar dan Vitamin B. Dituang kedalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest steril sebanyak 500 ml. Dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih. Setelah itu didiamkan hingga dingin, lalu tutup dengan kapas. Kemudian dimasukkan media disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 180°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media dituangkan kedalam cawan petri. Proses ini dilakukan didekat nyala api bunsen, kemudian didiamkan selama ± 15 menit.

3. Media MEA

Ditimbang media *Malt Ekstrak Agar* 125 gram, dilarutkan dalam 250 ml aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih. Setelah itu didiamkan hingga dingin, lalu tutup dengan kapas. Kemudian dimasukkan media disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 180°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media dituangkan kedalam cawan petri. Proses ini dilakukan didekat nyala api bunsen, kemudian didiamkan selama ± 15 menit.

Isolasi dan pemurnian *Actinomycetes*

Sampel tanah yang akan diisolasi dikeringkan terlebih dahulu pada suhu ruang selama 3 sampai 5 hari, ditumbuk halus dan diayak. Sampel tanah pinus sebanyak 1 gram disuspensikan pada 10 ml aquadest steril, dihomogenkan. 1 ml suspensi dilarutkan dalam 9 ml. Larutan kemudian diencerkan sampai 10⁻³ kali konsentrasi semula, diambil 0,1 ml, disebar ke permukaan media HV dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 1 sampai 4 minggu.

Koloni *actinomycetes* yang tumbuh dimurnikan dengan menggunakan media YMEA. Isolat *actinomycetes* yang telah tumbuh di murnikan dengan metode *Streak Platedan* diinkubasi dengan suhu 30°C selama 14 hari (Sulistiyani dan Nunuk, 2011).

Aktivitas Antimikroba Isolat *Actinomycetes* terhadap *Salmonella sp.*, *Vibrio Cholerae* dan *Candida Albicans*.

Isolat yang sudah dipurifikasi diuji dengan bakteri *Salmonella sp.*, dan *Staphylococcus sp.* dengan metode difusi. Pengujian dengan bakteri dilakukan dengan menggores bakteri uji ke media YMA, kemudian diberi isolat *actinomycetes* yang telah dilubangi menggunakan *cork bored* dengan diameter 10,5 mm. Selanjutnya diamati potensi isolat *actinomycetes* dalam menghasilkan antimikroba dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada media (Pertiwi dkk., 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salewangang Maros dengan jumlah 5 sampel tanah *rhizosfer* pinus dengan metode penelitian cakram dan difusi untuk mengetahui apakah *actinomycetes* yang terdapat pada tanah *rhizosfer* pinus memiliki aktivitas antimikroba.

Isolasi *actinomyvetes* dengan media HV yang dilanjutkan dengan pemurnian dengan menggunakan media YMEA menghasilkan 2 isolat murni yang berbeda secara morfologi. Kedua isolat tersebut diuji kemampuan daya hambatnya dengan menggunakan mikroba uji, yakni *Candida albicans*, *Vibrio choerae*, dan *Salmonella sp.* Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Uji aktivitas antimikroba

Isolat	Bakteri Uji	Diameter Daya Hambat (mm)		Rata-Rata
		1	2	
AC ₁	<i>Candida Albicans</i>	15	5	10
AC ₂		10,5	10	10,25
KP		10	10	10
KN		-	-	-
AC ₁	<i>Vibrio Cholerae</i>	45	37	41
AC ₂		42	42,5	42,25
KP		22,5	25	23,75
KN		-	-	-
AC ₁	<i>Salmonella sp.</i>	42,5	37	39,75
AC ₂		29	32,5	30,75
KP		26,16	25,5	25,83
KN		-	-	-

Keterangan :

AC₁ : Isolat *actinomycetes* 1

AC₂ : Isolat *actinomycetes* 2

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

Berdasarkan di atas membuktikan bahwa isolat *actinomycetes* dengan daya hambat yang tergolong sangat kuat yakni isolat AC₂ terhadap bakteri uji *Vibrio cholerae* dengan diameter 42,5 mm. David Stout (1971) mengemukakan, bahwa ketentuan kekuatan antibiotik sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti (sangat kuat), daerah hambatan 10-20 mm (kuat), daerah hambatan 5-10 mm (sedang), daerah hambatan 5 mm atau kurang (lemah). Dapat dilihat dari hasil tabel tersebut, rata-rata daya hambat yang didapatkan oleh isolat *actinomycetes* terhadap *Vibrio cholerae* dan *Salmonella sp.*, tergolong sangat kuat, sedangkan daya hambat 17 isolat *actinomycetes* terhadap *Candida albicans* uji hanya termasuk dalam kategori yang kuat.

Hasil uji daya hambat isolat *actinomycetes* terhadap mikroba uji *Vibrio cholerae*, dan *Salmonella sp.*, menunjukkan aktivitas daya hambat yang tergolong sangat kuat, hal tersebut dikarenakan bakteri memiliki sel prokariot dengan struktur sel yang relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibiotik masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Sulistiyani dan Nunuk, 2011). Menurut Kumala, dkk (2015) berpendapat

bahwa *actinomycetes* terbukti dapat menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat menghambat 8 bakteri patogen termasuk bakteri *Vibrio cholerae* dan *Salmonella*, dengan diameter daya hambat masing-masing 17,38 mm dan 13,15 mm, sedangkan Kurniati, dkk (2019) mengemukakan bahwa, isolate *actinomycetes* yang diperoleh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholera* dan *Salmonellas p.*, dengan diameter daya hambat masing-masing 15,8 mm dan 23 mm. Hal ini dapat dilihat bahwa daya hambat yang diperoleh dari isolat *actinomycetes* yang berasal rhizosfer pinus (*pinus merkusii*) sangat kuat dari beberapa hasil penelitian yang dibandingkan.

Aktivitas daya hambat isolat *actinomycetes* terhadap *Candida albicans* menunjukkan bahwa, isolat *actinomycetes* yang diperoleh dari kawasan hutan pinus di Desa Limapocoe memiliki daya hambat yang tergolong kuat karena, untuk mengetahui kuat atau tidaknya potensi antifungi suatu isolat *actinomycetes* perlu dilakukan karakterisasi atau identifikasi pendahuluan senyawa antibiotiknya. Adapun Lo and Co (2002) mengemukakan bahwa, isolat *actinomycetes* dapat ditingkatkan potensi antifunginya dengan cara diekstraksi. Menurut pendapat Khorina (2014) masing-masing isolate *actinomycetes* tidak diketahui senyawa yang terdapat di dalam setiap isolat *actinomycetes* karena, setiap isolat *actinomycetes* memiliki senyawa yang berbeda-beda maka hasil dari uji potensi antifungi dari setiap isolate *actinomycetes* menunjukkan daya hambat yang berbeda pula terhadap cendawan uji *Candida albicans*.

Berdasarkan pada tabel 1. menunjukkan hasil bahwa kontrol positif (Kloramfenikol) pada *Vibrio cholerae*, memiliki daya hambatan bakteri yang sangat kuat dengan diameter zona hambat 23,75 mm dan pada kontrol positif (Ketoconazole) memiliki daya hambatan yang kuat dengan diameter daya hambat 10 mm. Sedangkan pada kontrol negatif (aquadest) tidak memberikan respon terhadap mikroba uji, hal tersebut disebabkan karena pH dari aquadest netral sehingga aquadest tidak memiliki daya hambat pada pengujian antibakteri. Kontrol positif dan negatif ini dijadikan sebagai data pembanding.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa *actinomycetes* yang terdapat di Desa Limapocoe Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros berpotensi untuk menghambat *Salmonella*, *Candida albicans*, dan *Vibrio Cholerae*.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa terdapat *actinomycetes* pada tanah di kawasan hutan pinus di Desa Lima Pocoe Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros. *Actinomycetes* yang ada di Desa Limapocoe Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros dapat menghambat bakteri *Salmonella*, cendawan *Candida albicans*, dan bakteri *Vibrio Cholerae*.

DAFTAR PUSTAKA

- David, W.W., dan Stout, T.R.1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22 (1): 659-665.
- Dewi, AK. 2014. *Aktivitas antifungi 18 isolate actinomycetes dari sampel pasir gunung merapi dengan lama fermentasi yang berbeda terhadap Candida albicans*. Surakarta : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan.
- Janardhan, A., Kumar, A.P., Viswanath, B., Saigopal, D.V.R. Narasimha, G. 2014. *Production of bioactive compounds by actinomycetes and their antioxidant properties. Biotechnology Research International*. Hal. 1-8 .
- Khorina, A.D. 2014. *Aktivitas Antifungi Isolat Actinomycetes dari Sampel Pasir Gunung Merapi Dengan Lama Fermentasi yang Berbeda Terhadap Candida Albicans*.
- Kumala, Tiara., Afghani, Jayuska., dan Puji, Ardiningsih. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri 18 isolate Actinomycetes 9ISP1 dari Spons Asal Perairan Pulau Randayan. Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura*, 4 (2) : 30–36.
- Kurniati, D.I., Puji, A., dan Risa, N. 2019. *Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Actinomycetes Berasosiasi dengan Koral. Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura* 8(2) : 46–51.

- Lo, C.W. and C.C. Ho., 2002. *Actinomycetes Isolated From Soil Samples From The Crocker Range Saba, ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC)*. Hal 2.
- Nurjasmii, R., dan Suryani. 2011. *Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit Actinomycetes Asal Hutan Pinus Gunung Bunder Bogor Terhadap Pertumbuhan Curvularia Sp. Secara In Vitro*. Jakarta. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Respati Indonesia.
- Pertiwi, P.H., Bambang S.L., and Rochmah, K. 2015. *Isolasi, Identifikasi Dan Penapisan Aktivitas Antimikroba Sterptomycetes Sp. Isolat Tanah Lumpur Lapindo Sidoarjo*. 8.
- Shifaukah, Ahmad. 2010. *Ekosistem Hutan Pinus*. Jakarta. Universitas Airlangga Press.
- Sukmawaty, E., Sitti, R.S., dan Mashuri, M. 2020. *Characterization of Soil Actinomycetes From Malino Pine Forest Rhizosphere of South Sulawesi*. *Elkawnie* 6, no. 2 : 315. <https://doi.org/10.22373/ekw.v6i2.5383>.
- Sulistiyanii, T.R., dan Nunuk, W. 2011. *Isolation, Selection, and Molecular Identification Of Antibiotic Producing Actinomycetes*, 8.
- Uno, Wirnangsi D., S. Pd, M. Kes, Yuliana, Retnowati, S. Si, M. Si, dan Dr Novri Kandowangko. 2012. *Biodeversitas Actinomycetes pada Kawasan Pinus Dsa Bulalo Kecamatan Kwandang dan Uji Potensi sebagai Penghasil Antibiotika*. 7.