

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI ACTINOMYCETES DARI AKAR TANAMAN DI EKOSISTEM KARST GORONTALO, INDONESIA

Alfandi kibu<sup>1\*</sup>, Yuliana Retnowati<sup>2</sup>, Novri Youla Kandowanko<sup>3</sup>, Wirnangsi Din Uno<sup>4</sup>, Abubakar Sidik Katili<sup>5</sup>, Nurdin<sup>6</sup>

Departemen of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negri Gorontalo  
Jl. Bj. Habibie, Bone Bolango, Gorontalo, Indonesia  
Email: fan.kibu@gmail.com

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received :

5 Desember 2024

Revised :

10 Desember 2024

Accepted :

17 Desember 2024

**Kata Kunci:** Actinomycetes;  
Antibiotik; S. Aureus E; P.  
Aeruginosa

**Keywords:** Actinomycetes;  
Antibiotics; S. Aureus E; P.  
Aeruginosa

### Abstrak

Masalah resistensi beberapa bakteri patogen dapat diatasi dengan menemukan senyawa metabolit baru dari mikroorganisme Actinomycetes yang memiliki potensi antibiotik dengan mengeksplorasi daerah ekstrem, salah satunya di daerah karst, terutama pada akar tanaman. Pengambilan sampel akar dilakukan dengan pengambilan sampel + 20 cm pada setiap jenis tanaman yang ditemukan. Isolasi bakteri Actinomycetes dilakukan dengan metode pelat. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode garis. Bentuk morfologi spora dilihat menggunakan alat SEM (Scanning Electron Microscope). Hasil penelitian menemukan 2 isolat akar tanaman yang diisolasi mengandung bakteri Actinomycetes. 2 isolat menunjukkan karakter morfologis miselium, oval dan bulat dalam bentuk dan memiliki berbagai warna. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa setiap isolat dapat menghambat beberapa jenis bakteri patogen, dilihat dari zona bening dengan diameter yang berbeda dan hasil SEM (Scanning Electron Microscopy) menunjukkan 2 isolat memiliki karakter dan bentuk spora yang sama dengan Actinomycetes, yaitu genus Streptomyces.

### Abstract

The problem of resistance of some pathogenic bacteria can be overcome by finding new metabolite compounds from Actinomycetes microorganisms that have antibiotic potential by exploring extreme areas, one of which is in the karst area, especially in plant roots. Root sampling was carried out by taking samples + 20 cm on each type of plant found. Isolation of Actinomycetes bacteria was carried out using the plate method. Antibacterial activity testing was carried out using the line method. The morphological form of the spores was viewed using an SEM (Scanning Electron Microscope) tool. The results of the study found 2 isolates of isolated plant roots containing Actinomycetes bacteria. 2 isolates showed morphological characteristics of mycelium, oval and round in shape and had various colors. The results of the antibacterial activity test showed that each isolate could inhibit several types of pathogenic bacteria, seen from the clear zone with different diameters and the results of SEM (Scanning Electron Microscopy) showed 2 isolates had the same character and shape of spores as Actinomycetes, namely the genus Streptomyces.

## PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia*, *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri patogen yang umumnya menyebabkan berbagai penyakit. Ketiga bakteri patogen ini telah banyak dilaporkan mengalami resistensi terhadap banyak antibiotik. Seperti pada *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik seperti penisilin, eritromisin, sefoxitin (Schulte & Munson, 2019). Bakteri *Escherichia* resisten terhadap beberapa antibiotik seperti Penisilin G, Cefotaxime, Tetracycline (Agustin & Ningtyas 2022) dan resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap tobramycin dan tigecycline (Sanz-García *et al.*, 2018).

Masalah resistensi beberapa bakteri patogen dapat diatasi dengan menemukan antibiotik atau senyawa metabolit baru, oleh karena itu upaya yang dilakukan adalah mengeksplorasi daerah ekstrem, salah satunya di wilayah karst. Ekosistem karst merupakan salah satu ekosistem ekstrem. Kondisi tanah karst yang cenderung kering erat kaitannya dengan fisikokimia dan menjadi faktor pertumbuhan tanaman. Namun, ada aktivitas mikroba yang dapat memberikan nutrisi bagi tanaman agar tetap hidup.

Seperti mikroba *Actinomycetes* dalam kondisi ini mikroba akan mengatur metabolisme sel untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan reproduksi, seperti mengubah jalur metabolisme untuk menghasilkan energi yang cukup dalam kondisi lingkungan yang kekurangan nutrisi. *Actinomycetes* adalah sekelompok mikroorganisme yang hidup di dalam tanah dan memainkan peran penting dalam penguraian bahan organik serta pembentukan senyawa bioaktif. *Actinomycetes* menghasilkan senyawa antibakteri melalui proses produksi senyawa metabolit sekunder. *Actinomycetes* menghasilkan senyawa antibakteri melalui proses biosintesis, yaitu dengan menghasilkan senyawa antibakteri dari bahan kimia yang tersedia di lingkungan sekitar (Nurmujahidin *et al.*, 2023).

Penelitian sebelumnya telah mengisolasi potensi bakteri *Actinomycetes* pada ekosistem karst, terutama di daerah tanah dan potensi sebagai antibiotik. Seperti dalam penelitian (TÜFEKÇİ *et al.*, 2023) hasil penelitiannya terhadap 179 isolat *Actinomycetes yang terisolasi*, 53 isolat (29,6%) menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap setidaknya satu dari 11 mikroorganisme yang diuji, termasuk bakteri Gram positif dan Gram negatif. Saat ini, beberapa penelitian paling sering menemukan *Actinomycetes* di bagian rimosfer tanah, tetapi mikroorganisme ini juga ada di bagian akar tanaman beberapa penelitian mengatakan *Actinomycetes* adalah sekelompok mikroorganisme yang penting dalam akar, di lingkungan tanah mikroorganisme seperti bakteri dan *Actinomycetes* berperan penting dalam meningkatkan kesehatan tanaman dengan membentuk hubungan simbiosis dengan akar tanaman, menyediakan nitrogen, dan melindungi tanaman dari patogen (Jastrzębska 2010) oleh karena itu penelitian ini akan fokus pada potensi *Actinomycetes* pada akar tanaman pada ekosistem karst yang memiliki potensi sebagai antibiotik pada bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Escherichia*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini alat dan bahan yang digunakan berupa sekop kecil, plastik steril, sampel akar tanaman dari ekosistem karst, penangas air, tabung reaksi, Pati Casein Agar (SCA), sikloheksimida, nistatin, cawan petri, inkubator, RHO, Agar Nutrisi, bakteri uji *Escherichia*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, spektrofotometri, Kaldu Nutrisi. Sampel akar diambil menggunakan sekop kecil di beberapa titik pengambilan sampel dengan pengambilan sampel  $\pm 20$  cm pada setiap jenis tanaman yang ditemukan, kemudian disimpan dalam plastik steril dan diberi kode label lokasi kemudian disimpan dalam coolbox agar tetap aman.

Menurut (Mangamuri *et al.*, 2012; Malek *et al.*, 2014) Sampel akar diolah terlebih dahulu dengan pemanasan basah dalam penangas air pada suhu 60°C selama 15 menit dalam campuran air laut dan aquades steril (1:1 v / v). Suspensi akar diencerkan hingga tingkat pengenceran 10-6 dan sebanyak 100  $\mu$ l diinokulasi pada media Starch Casein Agar (SCA) pada pelat permukaan. Media dilengkapi dengan 25  $\mu$ g/ml cycloheximide dan 25  $\mu$ g/ml nistatin. Petri diinkubasi pada suhu 28  $\pm$  2°C selama 10-28 hari. Unit Pembentuk Koloni (CFU) ditentukan dan koloni dengan morfologi berbeda diisolasi ke media RHO untuk transfer lebih lanjut ke media RHO sebagai isolat murni.

Uji aktivitas antibakteri isolat *Actinomycetes* terhadap bakteri patogen berdasarkan metode garis. Agar Nutrisi Sedang dibuat 3 sumur dengan diameter 5 mm. *Isolat aktinomicetes* berumur 28 hari pada media SCA diekstraksi dengan diameter 5 mm dan dipindahkan ke dalam sumur. Kemudian diinkubasi pada suhu 280°C $\pm$ 2 selama 7 hari. Bakteri uji *Escherichia*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media Kaldu Nutrisi dan massa sel disamakan secara spektrofotometri pada OD 1.2. Sebanyak 600  $\mu$ l bakteri uji diinokulasi di sekitar koloni *Actinomycetes* dengan metode pelat permukaan dan diinkubasi pada suhu 30 ° C selama 2x24 jam. Diameter zona penghambatan di sekitar *Actinomycetes* dan diameter koloni *Actinomycetes* diukur untuk menentukan Indeks Zona Penghambatan.

Bakteri diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi. Karakter morfologi secara makroskopis meliputi warna koloni, bentuk miselium, dan permukaan koloni sedangkan karakter makroskopis meliputi bentuk sel dan respon sel terhadap warna, dan untuk ornamen spora menggunakan SEM.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian untuk mendapatkan *Actinomycetes* dilakukan di ekosistem karst di Gorontalo dengan tiga titik pengambilan sampel, yaitu di lokasi pertama yang terletak di bukit Bangga, Kecamatan Paguyaman Pantai dengan titik koordinat (0°29'47.55" N; 122°33'6.17" E), lokasi kedua di bukit Panipi, Kecamatan Batudaa dengan titik koordinat (0°32'43.22" N; 122°59'51.80" E) dan lokasi ketiga di bukit Olhuta, Kecamatan Kabila Bone dengan titik koordinat (0°25'10.05" LU; 123°5'53.44" E). Di 3 lokasi ini ditemukan berbagai jenis dengan jumlah yang bervariasi dari tiga lokasi bukit karst. Di lokasi bukit Bangga ditemukan 12 isolat tanaman, di lokasi bukit Panipi ditemukan 13 isolat tanaman, sedangkan di lokasi bukit Olhuta ditemukan 12 jenis isolat tanaman.

Untuk mendapatkan *Actinomycetes mengisolasi*, Itu dilakukan dengan menumbuhkan *Actinomycetes isolat* dari setiap sampel akar tanaman yang ditemukan di tiga lokasi menggunakan media Starch Casein Agar (SCA), dan untuk kultur murni ditransfer ke media RHO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 37 spesies tumbuhan yang diperoleh dari tiga lokasi bukit karst di Gorontalo, diperoleh 2 jenis isolat yang berasal dari akar tanaman, kedua jenis isolat ini diberi kode K.A.IC.K (Alang-alang (*Imperata silinder*)), dan K.A.CR.HT (Pakis (*Cycas rumphii*)). Akar tanaman adalah sumber langka potensial yang sangat baik *Actinomycetes* strain dan mungkin, metabolit sekunder baru (Matsumoto & Takahashi, 2017).

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut pada dasarnya mampu menghambat ketiga jenis bakteri uji, namun isolat K.A.IC.K dan isolat K.A.CR.HT mampu menghambat ketiga jenis bakteri uji dengan diameter zona penghambatan berkisar antara 0,77mm hingga 5,35mm, Hasil uji aktivitas antibakteri *isolat Actinomycetes* diperoleh dari sampel akar dari 2 jenis tanaman di tiga lokasi menunjukkan bahwa mereka mampu menghambat bakteri patogen *Escherichia*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* yang selama ini resisten terhadap beberapa antibiotik. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona yang jelas di area pertumbuhan bakteri *Actinomycetes*. *Actinomycetes* adalah sumber sejumlah besar antibiotik alami dan semisintetis, dan merupakan produsen metabolit sekunder yang struktur kimianya telah mengilhami penemuan antibiotik sintesis yang sama sekali baru (De Simeis & Serra, 2021).

K.A.IC.AP isolat dan K.A.CR.HT kedua isolat ini mampu menghambat tiga jenis bakteri patogen uji, yaitu *Escherichia*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam isolat K.A.CR.HT zona bersih diperoleh untuk bakteri *Escherichia* 1,81mm, bakteri *Staphylococcus aureus* 0,77mm, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 0,94mm. Pada isolat K.A.IC.AP, zona jernih yang diperoleh untuk bakteri *Escherichia* adalah 5,35mm, bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 2,04mm, dan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* adalah 1,43mm **tabel 3.1**. Kedua isolat ini menunjukkan bahwa ada aktivitas antibiotik spektrum luas yang bekerja melawan lebih banyak bakteri gram negatif dan gram positif (Ahmad Krisdianto & Walid, 2023).

#### Identifikasi *Actinomycetes* penghasil Antivirus

##### 1. Karakter morfologi, karakter mikroskopis dan ornamen spora

###### a. Isolasi K.A.IC.K

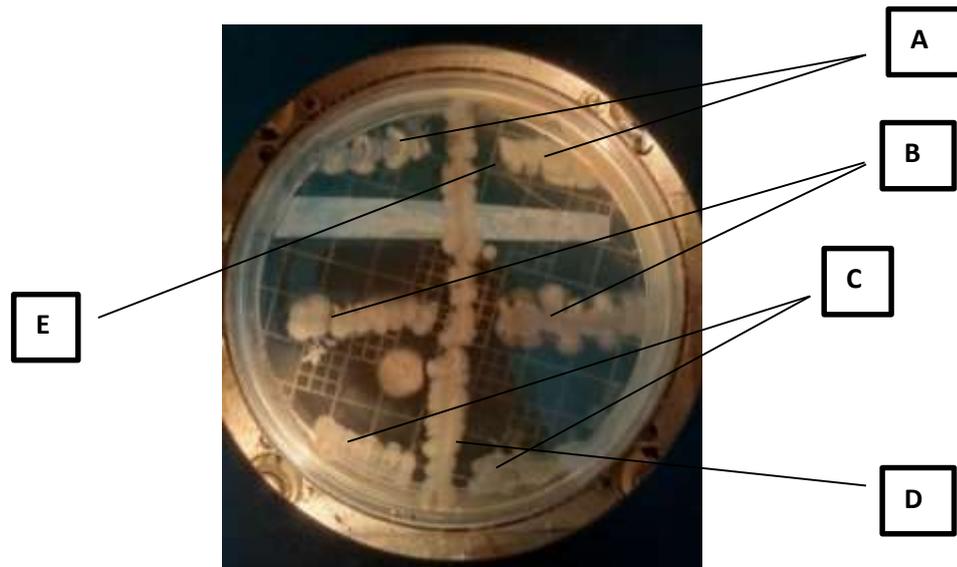
Isolat ini memiliki karakteristik morfologis, antara lain miselium udara kuning dengan bentuk koloni oval dan bentuk tepi utuh serta miselium substrat putih, untuk pewarnaan gram *Isolat Actinomycetes* dengan kode K.A.IC.K menunjukkan gram positif yang ditandai dengan warna ungu dan bentuk spora rantai dan hasil SEM (*Scanning Electron Microscope*) menunjukkan bentuk morfologi ornamen spora batang dengan rantai spora pendek dan lurus

###### b. Isolasi K.A.CR.HT

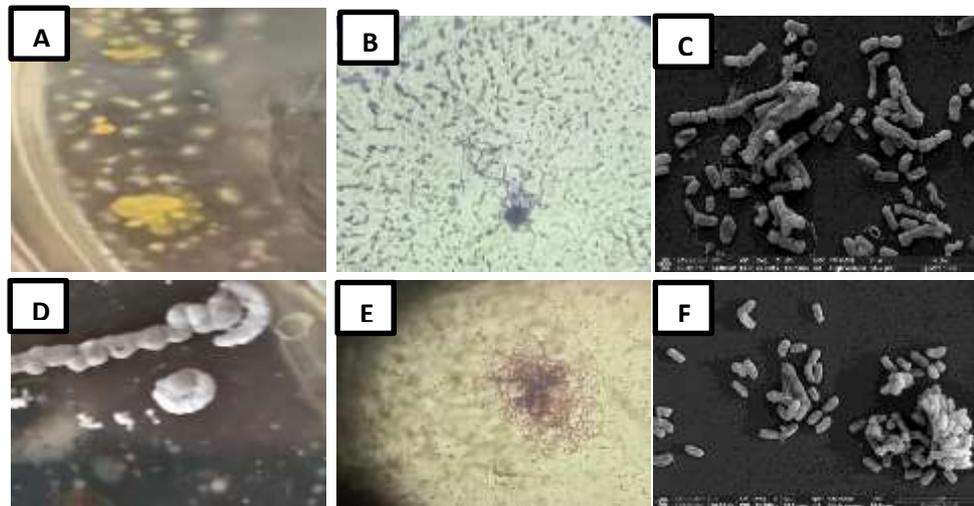
Isolat ini memiliki karakteristik morfologi, antara lain miselium udara putih dengan bentuk koloni bulat dan bentuk tepi utuh serta miselium substrat hitam, untuk pewarnaan gram *isolat Actinomycetes* dengan kode K.A.CR.HT menunjukkan gram positif yang ditandai dengan warna ungu dan bentuk spora rantai dan hasil SEM (*Scanning Electron Microscope*) menunjukkan bentuk morfologi ornamen spora batang dengan rantai spora pendek dan lurus

**Tabel 1.** Hasil uji aktivitas antibakteri isolat *Actinomycetes*

| Mengisolasi | Zona hambat    |                |                |
|-------------|----------------|----------------|----------------|
|             | E.coli         | S.aureus       | P.aeruginosa   |
| K.A.IC.K    | 5,35 milimeter | 2,04 milimeter | 1,43 milimeter |
| K.A.CR.HT   | 1,81 milimeter | 0,77 milimeter | 0,94 milimeter |



**Gambar 1.** Aktivitas antibakteri isolat *Actinomycetes* 1. Alang-alang (*Imperata cylindrica*) A. *Escherichia coli* B. *Staphylococcus aureus* C. *Pseudomonas aeruginosa* D. *Actinomycetes* E. Zona hamba



**Gambar 2.** A). morfologi isolat *Actinomycetes* kode K.A.IC.K B). Bentuk sel *Actinomycetes* isolat K.A.IC.K C). Hasil SEM spora *Actinomycetes* isolat K.A.IC.K D). morfologi isolat *Actinomycetes* kode K.A.CR.HT E).Bentuk sel *Actinomycetes* isolat K.A.CR.HT F).Hasil SEM spora *Actinomycetes* isolat K.A.CR.HT

Hasil temuan jenis tumbuhan pada tiap-tiap lokasi ditotalkan 37 jenis tumbuhan pada wilayah karst, hal ini menunjukkan bahwa terdapat aktivitas bakteri seperti *Actinomycetes* pada tanah yang bersimbiosis dengan akar tumbuhan. Dari hasil isolasi dan purifikasi selektif *Actinomycetes* didapatkan 2 jenis tumbuhan dari lokasi yang berbeda yaitu bukit karst Panipi dan bukit karst Olohuta yang menunjukkan adanya bakteri *Actinomycetes*.

Hasil uji aktivitas antibakteri Isolat *Actinomycetes* dan non *Actinomycetes* yang diperoleh dari sampel akar dari 2 jenis tumbuhan di tiga lokasi menunjukkan bahwa mampu menghambat bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* yang telah resisten terhadap beberapa antibiotik. isolat *Actinomycetes* K.A.IC.AP dan K.A.CR.HT kedua isolat ini mampu menghambat ketiga jenis bakteri patogen uji yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada isolat K.A.CR.HT zona bening yang didapatkan untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar 1,81mm, bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 0,77mm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0,94mm. Pada isolat K.A.IC.AP zona bening yang didapatkan untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar 5,35mm, bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 2,04mm, dan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 1,43mm. Kedua isolat ini menunjukkan bahwa terdapat aktivitas Antibiotik broad-spectrum (aktivitas luas) yang bekerja terhadap lebih banyak baik terhadap bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif (Ahmad Krisdianto and Walid 2023).

Identifikasi karakter morfologi menunjukkan bahwa isolat K.A.IC.K dan K.A.CR.HT memiliki karakter morfologi bermiselium, berbentuk oval dan bulat serta memiliki bermacam-macam warna. Isolat K.A.IC.K memiliki miselium aerial berwarna kuning dan bentuk tepi yang utuh serta memiliki miselium substratnya

berwarna putih, isolat K.A.CR.HT memiliki misellium aerial berwarna putih dan bentuk tepi yang utuh serta miselium substratnya berwarna hitam, Pada *Actinomycetes* Perbedaan warna pada masing-masing isolat terjadi karena adanya pigmen rantai spora yang dimiliki oleh bakteri *Actinomycetes* hal ini menyebabkan keanekaragaman warna pada isolat (Buedenbender *et al.*, 2017)

## KESIMPULAN

Pada akar tumbuhan di ekosistem karst Gorontalo didapatkan *Actinomycetes* yang berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri yaitu isolat K.A.IC.K dan K.A.CR.HT.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, Alfiana Laili Dwi, and Novarina Sulsia Ista'In Ningtyas. 2022. "Resistensi Escherichia Coli Terhadap Berbagai Macam Antibiotik Pada Pasien Kucing Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Pendidikan Mandalika." *Media Kedokteran Hewan* 33 (2): 63–71. <https://doi.org/10.20473/mkh.v33i2.2022.63-71>.
- Ahmad Krisdianto, Nofiyah, and Muhammad Walid. 2023. "Gambaran Tingkat Pengetahuan Obat Antibiotik Secara Rasional Pasien Di Apotek Kimia Farma Pemalang." *Jurnal Ilmiah Multidisiplin* 2 (3).
- Ambarwati, C J Soegihardjo, and Langkah Sembiring. 2010. "Isolasi Dan Identifikasi Streptomycetes Dari Rizosfer Jagung (*Zea Mays L.*) Yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antibiotika Isolation and Identification of Streptomycetes from Rhizosphere of Corn (*Zea Mays L.*) That Is Potential to Be Antibiotic Producer" 15 (1): 1–7.
- Buedenbender, I., Carroll, A. R., Ekins, M., & Kurtböke, D. I. (2017). Keanekaragaman taksonomi dan metabolit *Actinomycetes* yang terkait dengan tiga ascidian Australia. *Keragaman*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/d9040053>
- Jastrzębska, Ewa. 2010. "Pengaruh Bahan Kimia Perlindungan Tanaman pada Mikroorganisme yang Tinggal di Tanah." *Masalah Kontemporer Manajemen dan Perlindungan Lingkungan*. Jilid 5.
- Matsumoto, Atsuko, dan Yoko Takahashi. 2017. "Actinomycetes Endofit: Sumber Senyawa Bioaktif Baru yang Menjanjikan." *Jurnal Antibiotik*. Grup Penerbitan Alam. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.20>.
- Nurmujahidin, Giyanto Giyanto, dan Dadang. 2023. "Pengendalian Biologis Penyakit Pembusukan Biji-bijian Bakteri yang Disebabkan oleh *Burkholderia glumae* Menggunakan *Actinomycetes*." *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 19 (2): 63–73. <https://doi.org/10.14692/jfi.19.2.63-73>.
- Retnowati, Yuliana, Novri Youla Kandowanko, Abubakar Sidik Katili, dan Wawan Pembengo. 2024. "Keanekaragaman *Actinomycetes* pada Rhizosfer Tumbuhan Ekosistem Karst Gorontalo, Indonesia." *Biodiversitas* 25 (3): 907–15. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d250301>.
- Sanz-García, Fernando, Sara Hernando-Amado, dan José L. Martínez. 2018. "Evolusi mutasi resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik penargetan ribosom." *Perbatasan dalam Genetika* 9 (OCT). <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00451>.
- Schulte, Rebecca H., dan Erik Munson. 2019. "Pola Resistensi *Staphylococcus aureus* di Wisconsin: Pengawasan Organisme Wisconsin 2018 untuk Tren Resistensi Antimikroba dan Laporan Program Epidemiologi (Swotare)." *Kedokteran dan Penelitian Klinis* 17 (3–4): 72–81. <https://doi.org/10.3121/cmr.2019.1503>.
- Simeis, Davide De, dan Stefano Serra. 2021. "Actinomycetes: Sumber Senyawa Bioaktif yang Tidak Pernah Berakhir—Tinjauan Tentang Produksi Antibiotik." *Antibiotik*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050483>.
- TUFEKCI, Enis Fuat, Ümit UZUN, Nagihan SAĞLAM ERTUNGA, Ayşenur BİBER, İnanç Alptuğ HİDİROĞLU, İlayda TEKKILIÇ, Birhan ALTAY, dan Ali Osman KILIÇ. 2023. "Investigasi Aktivitas Antimikroba dan Urutan 16S rRNA dari *Actinomycetes* yang Diisolasi dari Gua Karst di Wilayah Laut Hitam Timur Türkiye." *Jurnal Pertanian dan Alam Universitas Kahramanmaraş Sütçü İmam*, Mei. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.1226184>.
- Zainal Abidin, Zaima Azira, Nurfathiah Abdul Malek, Zarina Zainuddin, dan Ahmed Jalal Khan Chowdhury. 2016. "Isolasi Selektif dan Aktivitas Antagonistik *Actinomycetes* dari Hutan Mangrove Pahang, Malaysia." *Perbatasan dalam Ilmu Hayati* 9 (1): 24–31. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051244>.