

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Skrining Aktinomisetes Pendegradasi Nikotin Pada Daun Tembakau
(*Nicotiana tabacum* L.)

Screening Of Nicotine-Degrading Actinomycetes On Tobacco Leaves
(*Nicotiana tabacum* L.)

Esti Utarti^{1*}, Dina Amalia Syahidah², Sattya Arimurti³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember, Jl. Klimantan 37 Jember

*Email: esti.fmipa@unej.ac.id

INTISARI

Kabupaten Jember merupakan salah satu sentral penghasil tembakau tertinggi di Jawa Timur dan pada tahun 2018 produksinya mencapai 163,267,5 ton. Produksi tanaman tembakau menghasilkan limbah organik yang berbahaya yaitu nikotin. Nikotin merupakan alkaloid beracun aktif, berminyak, tersusun atas unsur karbon, hidrogen, nitrogen, dan sangat larut terhadap alkohol, eter, minyak tanah, dan air. Kelarutannya berisiko mengalami *leaching* (pencucian) selama masa penyimpanan limbah tembakau. Hal tersebut mengakibatkan nikotin yang tercuci dapat mengalir ke dalam badan air sehingga membahayakan makhluk hidup dan lingkungan. Beberapa mikroorganisme mampu mendegradasi nikotin dengan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya, salah satunya aktinomisetes. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan aktinomisetes asal rhizosfer tembakau yang memiliki aktivitas pendegradasi nikotin dan besar daya degradasinya. Penelitian dilakukan skrining 23 isolat aktinomisetes pendegradasi nikotin dengan indikator tumbuh aktinomisetes pada media hingga terdapat 3 isolat terpilih, uji degradasi nikotin pada media cair dengan metode titrasi dan daun tembakau dilakukan di Balai Pengujian dan Sertifikasi Mutu Barang (BPSMB) kota Surakarta, dan identifikasi morfologi secara mikroskopis isolat terpilih menggunakan *cover slide method*. Hasil skrining menunjukkan bahwa 5 isolat memiliki kemampuan tumbuh, 13 isolat mampu tumbuh baik, 3 isolat tumbuh lebih baik dan 2 isolat tidak tumbuh. Isolat yang terpilih yaitu ATG 60, ATG 68, dan ATG 69 tumbuh lebih baik pada media nikotin (NIM). Daya degradasi nikotin media cair dan daun tembakau pada ATG 60 (2,33% dan 30,56%); ATG 68 (2,53% dan 31,16%); dan ATG 69 (2,1% dan 25,82%). Identifikasi struktur spora menunjukkan masing-masing isolat adalah *Saccharopolyspora* sedangkan ATG 68 dan 69 genus *Streptomyces*.

Kata kunci: aktinomisetes, nikotin, tembakau

ABSTRACT

Jember Regency is one of the highest tobacco producing centers in East Java and in 2018 its production reached 163,267.5-tons. The production of tobacco plants yields dangerous organic waste, nicotine. Nicotine is an active, oily, toxic alkaloid composed of carbon, hydrogen, nitrogen, and highly soluble in alcohol, ether, kerosene, and water. It's solubility can cause a risk of leaching during the storage period of the tobacco waste. This causes leached nicotine to flow into water bodies, endangering living things and environment. Some microorganisms are able to degrade nicotine by using it as sources of carbon and nitrogen for growth, one of which is actinomycetes. This study aims to obtain actinomycetes

from tobacco rhizosphere which have nicotine-degrading activity and high degradation power. The study was conducted by screening 23 nicotine-degrading actinomycetes isolates with actinomycetes growing indicators on the media until 3 isolates selected, nicotine-degradation tests in liquid media using titration method and tobacco leaves were delivered at the Goods-Quality-Testing and Certification-Center, Surakarta, and morphological identification microscopically of the selected isolates using cover slide method. The results of screening showed that 5 isolates were able to grow, 13 isolates grew well, 3-isolates grew better and 2 isolates did not grow. The selected isolates, ATG-60, ATG-68, and ATG-69, grew better on nicotine media (NIM). The degradation power of nicotine in liquid media and tobacco leaves at ATG-60 (2.33% and 30.56%); ATG-68 (2.53%-and-31.16%); and ATG-69 (2.1%-and-25.82%). Identification of spore structure showed that each isolate was Saccharopolyspora while ATG-68 and-69 were Streptomyces genus.

Keywords: actinomycetes, nicotine, tobacco

PENDAHULUAN

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan komoditas yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia dengan luas 226,704 ha (Disperindag-Jatim, 2013). Produksi tembakau di Kabupaten Jember di tahun 2018 mencapai 163.267,5ton yang merupakan produksi tertinggi di Wilayah Jawa Timur (BPS,2019).

Tanaman tembakau dimanfaatkan bagian daunnya untuk industri rokok dan menyumbang devisa negara sekitar 500 juta/tahun (Rachmat dan abdillah, 2010; BPS 2020). Industri rokok memanfaatkan daun tembakau sehingga batang tembakau menjadi limbah bagi industri tersebut disisi lain batang tembakau memiliki komponen selulosa 56,10% hemiselulosa 22,44%, dan lignin 15,11% (Liu *et al.*, 2015). Komponen lignoselulosa tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan industri biofuel, pemanis, dan prebiotik xilooligosakarida (Akpinar *et al.*, 2010). Namun, pada batang tembakau juga masih terdapat nikotin yaitu sebesar 0,82% meskipun tidak sebesar pada daun tembakau (3,43%). Limbah batang nikotin dapat membahayakan meskipun kadar nikotin rendah (Akehurst, 1981; Pesevski *et al.*, 2010).

Nikotin (β -pyridil- α -N-methyl pyrrolidine), $C_{10}H_{14}N_2$) merupakan alkaloid utama pada tanaman tembakau. Nikotin termasuk alkaloid beracun aktif, berminyak, tersusun dari unsur karbon, hidrogen, nitrogen, dan sangat larut terhadap alkohol, eter, minyak tanah, dan air (Heliawati, 2018). Kelarutannya membuat nikotin berisiko mengalami *leaching*

(pencucian) selama masa penyimpanan limbah tembakau. Hal tersebut mengakibatkan nikotin yang tercuci dari limbah tembakau dapat mengalir ke dalam badan air sehingga dapat membahayakan makhluk hidup dan lingkungan (Piotrowska *et al.*, 2009).

Beberapa mikroorganisme mampu mendegradasi nikotin dengan memanfaatkan nikotin sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya, salah satunya aktinomisetes. Aktinomisetes merupakan bakteri Gram-positif yang mampu membentuk filamen dan banyak hidup di tanah. Struktur filamen aktinomisetes dapat menembus jaringan tumbuhan sehingga dapat mempermudah dalam meningkatkan efisiensi biodegradasi (Gurusamy dan Natarajan, 2013; Barka *et al.*, 2016). Aktinomisetes pendegradasi nikotin diantaranya adalah *Arthrobacter Oxidans* α -2, *Arthrobacter Oxidans* pAO1, *A. nicotinae* K9, *Arthrobacter* sp. HF-2, *Arthrobacter* sp. K3, *Arthrobacter* sp. K7, *Arthrobacter* sp. 4-83, *Rhodococcus* sp. Y22, *Streptomyces griseus*, dan *Streptomyces plantensis* (Sindelar *et al.*, 1979; Khattab *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015). Sebanyak 71 aktinomisetes telah berhasil diisolasi dari perakaran tembakau (Utarti *et al.*, 2021). Aktinomisetes asal perakaran tembakau tersebut diduga memiliki aktivitas degradasi nikotin.

Penelitian ini ditujukan untuk mendapatkan aktinomiset asal perakaran tembakau yang memiliki kemampuan mendegradasi nikotin. Kemampuan ini diharapkan akan menunjang pemanfaatan batang tembakau sebagai sumber lignoselulosa.

Penggunaan daun tembakau sebagai bahan uji degradasi nikotin karena kandungan nikotin yang tinggi dibandingkan dengan batang tembakau, sehingga dapat mengoptimalkan aktinomiset dalam uji degradasi nikotin.

L : luas bidang hitung kotak sedang
(0,04 mm²)
h : kedalaman bidang hitung
(0,1 mm)
fp: faktor pengenceran

BAHAN DAN METODE

Skrining Aktinomisetes Pendegradasi Nikotin berdasarkan Kemampuan Tumbuh

Kultur aktinomisetes yang berjumlah 23 isolat hasil peremajaan masing-masing diinokulasi dengan metode gores menggunakan tusuk gigi pada media nikotin (NIM) dengan komposisi Na₂HPO₄ 6 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, NH₄Cl 0,5 g/L, MgSO₄ 0,12 g/L, CaCl₂ 0,1 g/L, nikotin 0,5 g/L, dan agar 15 g/L. karakter positif kemampuan mendegradasi nikotin ditunjukkan oleh kemampuan isolat tumbuh pada media (Wei *et al.*, 2008). Sebanyak tiga isolat aktinomisetes yang mampu tumbuh pada media nikotin dipilih untuk uji lanjut. Pada tahap ini hanya diamati kemampuan tumbuh pada media NIM yaitu tumbuh jarang (+), kemampuan tumbuh baik (++), kemampuan tumbuh sangat baik (+++), dan tidak tumbuh (-). Kriteria tumbuh ditentukan dengan mengamati kemampuan pertumbuhan aktinomisetes pada media NIM.

Persiapan Inokulum berdasarkan Kepadatan Spora

Persiapan inokulum dilakukan dengan menggunakan tiga isolat yang mempunyai kemampuan pertumbuhan terbaik kemudian dilakukan peremajaan pada media ISP-4 dan diinkubasi selama 5 hari. Persiapan kultur dilakukan melalui perhitungan kepadatan spora hingga diperoleh 10⁸ sel/mL. Sebanyak 10 mL larutan tween-80 0,05% (v/v) ditambahkan untuk menghomogenkan suspensi spora. Perhitungan kepadatan spora dilakukan menggunakan hemositometer masing-masing suspensi spora pada interval satu hari hingga mendapatkan 10⁸ sel/mL dengan menggunakan rumus sebagai berikut: (Madigan *et al.*, 2019).

$$S \text{ (spora/mL)} = \frac{n}{L (0,04 \text{ mm}^2) \times h (0,1 \text{ mm})} \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan: S : jumlah spora/mL
n : jumlah sel pada bidang hitung

Daya Degradasi Nikotin

Pengukuran daya degradasi nikotin dilakukan pada media cair nikotin terhadap tiga isolat dengan kemampuan tumbuh lebih baik. Inokulum yang digunakan adalah kultur aktinomiset yang mempunyai kepadatan spora 10⁸ pada media ISP-4 padat. Sebanyak satu *corkborer* masing-masing isolat diinokulasikan pada media nikotin (NIM) cair dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Setelah lima hari, media nikotin cair diuapkan sampai volume 1 mL, kemudian ditambahkan akuades 10 ml dan 3 tetes indikator Metil Merah (MM). Larutan tersebut ditetapkan kadar nikotinnya dengan cara dititrasi dengan larutan standar HCl 0,1 N (Tumbel. 2010).

$$\% \text{ nikotin} = \frac{\text{Kadar nikotin awal} - \text{kadar nikotin akhir}}{\text{Kadar nikotin awal}} \times 100\%$$

1 ml HCl 0,1 M = 1,62 mg nikotin

Keterangan: C : faktor pengenceran
V : volume HCl (mL)
W : berat (gram)
N.HCl : normalitas HCl

Perhitungan daya degradasi nikotin

$$\frac{\text{Kadar nikotin awal} - \text{kadar nikotin akhir}}{\text{Kadar nikotin awal}} \times 100\%$$

(Taylor *et al.*, 2020).

Aktivitas Degradasi Nikotin pada Serbuk Daun Tembakau

Isolat yang digunakan adalah tiga isolat yang mempunyai kepadatan spora 10⁸ sel/mL yang diinokulasikan pada serbuk daun tembakau. Daun tembakau awalnya dioven 60°C selama kurang lebih 3 hari hingga beratnya konstan. Daun yang telah kering diblender dan diayak 0,25 mm. Serbuk daun tembakau ditimbang 10 gr dan ditambahkan 25 mL suspensi spora kultur aktinomisetes kepadatan 10⁸ sel/ml dan diinkubasi lima hari dan sebagai kontrol digunakan serbuk daun tembakau tanpa

inokulum. Serbuk daun tembakau yang telah diberi perlakuan di oven dan diayak pada suhu 50°C selama 2 hari dan diayak dengan saringan lubang 0,25 mm (Wei *et al.*, 2008). Analisis kadar nikotin dilakukan di Balai Pengujian dan Sertifikasi Mutu Barang (BPSMB) kota Surakarta.

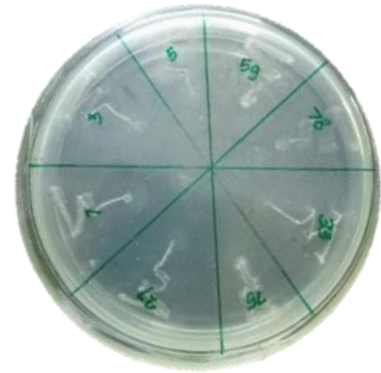
Identifikasi Morfologi secara Mikroskopis Isolat yang Terpilih

Identifikasi morfologi dilakukan secara mikroskopis dengan menggunakan metode *cover glass slide method*. Metode ini dilakukan dengan menggunakan *cover glass* steril yang ditusukkan pada media ISP-4 padat dengan sudut kemiringan 45° pada bagian tengah media. Persinggungan antara *cover glass* dengan media diinokulasikan sebanyak satu ose biakan isolat aktinomisetes yang terpilih dan diinkubasi selama tujuh hari pada suhu ruang. *cover glass* yang telah ditumbuhi aktinomisetes yang terpilih diambil dengan pinset dan diletakkan pada gelas objek untuk diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x (Salim *et al.*, 2017). Identifikasi isolat dilakukan dengan menggunakan buku *Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Pengamatan mikroskopis yang dilakukan adalah struktur rantai sporanya (Armaida dan Khotimah, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Aktinomisetes Pendegradasi Nikotin

Skrining aktinomisetes pendegradasi nikotin dilakukan terhadap 23 isolat aktinomisetes hasil isolasi dari rhizosfer tembakau. Skrining aktinomisetes pendegradasi nikotin dilakukan dengan menggunakan media selektif yaitu media nikotin. Nikotin dalam media berfungsi sebagai satu-satunya sumber karbon dan sumber nitrogen untuk pertumbuhan aktinomisetes (Liu *et al.*, 2015). Karakter positif isolat aktinomisetes yang mampu mendegradasi nikotin ditunjukkan adanya pertumbuhan dalam media pada waktu inkubasi 5 hari (Gambar 1) (Wei *et al.*, 2008).



Gambar 1. Skrining isolat aktinomisetes pada media NIM (Dokumentasi pribadi)

Sebanyak 23 isolat aktinomisetes menunjukkan bahwa terdapat 5 isolat yang memiliki kemampuan tumbuh, 13 isolat mampu tumbuh baik, 3 isolat tumbuh lebih baik dan 2 isolat tidak tumbuh (Tabel 1). Isolat diambil 3 berdasarkan kemampuan tumbuh terbaiknya pada media NIM.

Tabel 1. Skrining aktinomisetes pendegradasi nikotin

No	Kode isolat	Kemampuan tumbuh
1.	ATG 1	++
2.	ATG 2	++
3.	ATG 49	++
4.	ATG 51	++
5.	ATG 52	++
6.	ATG 57	++
7.	ATG 58B	++
8.	ATG 59	++
9.	ATG 60	+++
10.	ATG 61	++
11.	ATG 62	++
12.	ATG 65	++
13.	ATG 68	+++
14.	ATG 69	+++
15.	ATG 70	++
16.	ATG 77	++
17.	ATG 3	+
18.	ATG 4	+
19.	ATG 55	+
20.	ATG 57P	+
21.	ATG 58	+
22.	ATG 26	-
23.	ATG 27	-

Ket: tumbuh sangat baik (+++), tumbuh baik (++) , tumbuh jarang (+), dan tidak tumbuh (-)

Aktinomisetes yang memiliki kemampuan mendegradasi nikotin digolongkan sebagai

nicotine-degrading microorganisms (NDMs) yang dapat mendegradasi nikotin sebagai sumber pertumbuhannya (Mihasan *et al.*, 2021). Berdasarkan skrining 23 isolat menunjukkan bahwa isolat ATG 60, ATG 68 dan ATG 69 memiliki kemampuan tumbuh lebih baik dari 21 isolat lainnya. Ketiga isolat tersebut selanjutnya akan digunakan sebagai isolat kandidat untuk mengetahui daya degradasi aktinomisetes pada daun tembakau.

Daya Degradasi Nikotin pada Media Cair Nikotin

Daya degradasi nikotin pada media cair nikotin dilakukan dengan menggunakan metode fermentasi cair. Fermentasi cair merupakan proses inokulasi mikroorganisme dalam larutan yang mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan (Carnevali *et al.*, 2007). Tabel 2 menunjukkan bahwa daya degradasi nikotin tertinggi hingga terkecil adalah ATG 68, ATG 60, dan ATG 69.

Tabel 2. Daya degradasi nikotin pada media cair nikotin

No	Kode isolat	Nikotin nikotin awal (%)	Kadar nikotin akhir (%)	Penurunan kadar nikotin (%)	Daya degradasi nikotin (%)
1	ATG 60	3	2	1	2,33
2	ATG 68	3	1,4	1,6	2,53
3	ATG 69	3	2,7	0,3	2,1

Daya Degradasi Nikotin pada Serbuk Daun Tembakau

Daya degradasi nikotin pada serbuk daun tembakau dilakukan dengan menambahkan kultur aktinomisetes ATG 60, ATG 68 dan ATG 69 masing-masing pada daun tembakau dengan waktu inkubasi lima hari dengan menggunakan metode fermentasi padat. Fermentasi padat merupakan proses yang dilakukan tidak adanya atau hampir tidak ada air bebas namun, substrat harus memiliki kelembaban yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme (Chen, 2013).

Persiapan inokulum dilakukan dengan menambahkan larutan tween 80 0,05% pada media padat ISP-4. Larutan tween digunakan sebagai surfaktan non ionik yang dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga kelarutan inokulum dapat meningkat. Sifatnya

yang surfaktan non ionik mengakibatkan pH dalam media fermentasi tidak terpengaruh, selain itu larutan tween dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel mikroorganisme yang akan mempermudah proses keluarnya enzim (Safaria *et al.*, 2013; Reitermayer *et al.*, 2018).

Kepadatan spora inokulum yang diinokulasikan pada serbuk daun tembakau dari masing-masing aktinomisetes isolat ATG 60, ATG 68, dan ATG 69 sebanyak $3,6 \times 10^8$ spora/mL, $4,9 \times 10^8$ spora/mL, dan $2,31 \times 10^8$ spora/mL. Hal tersebut sesuai dengan beberapa laporan penelitian yang menyatakan bahwa, rata-rata jumlah kepadatan yang digunakan sebagai inokulum yaitu sebanyak 10^5 - 10^7 atau 10^8 spora/mL (Wei *et al.*, 2008; Reitermayer *et al.*, 2018). Hal yang perlu diperhatikan pada tahap ini yaitu, inokulum terbebas dari kontaminan dan tersedia dalam jumlah yang sesuai dengan proporsi media fermentasi (Chen, 2013).

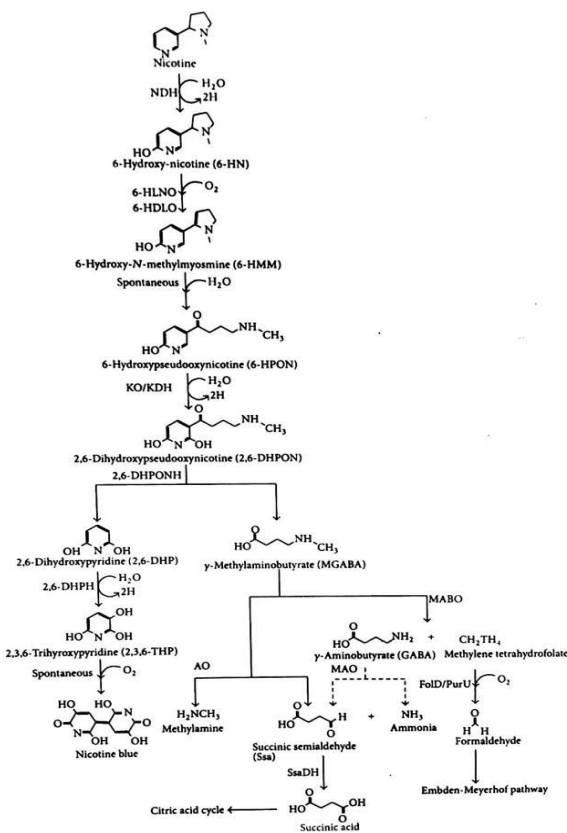
Kebutuhan karbon, nitrogen, dan energi untuk pertumbuhan akan memicu aktinomisetes mendegradasi nikotin yang terdapat di lingkungan tumbuhnya. Serbuk daun tembakau memiliki nikotin yang mampu memicu kerja aktinomisetes yang mampu mendegradasi nikotin (Gurusamny dan Natarajan, 2013). Daya degradasi nikotin oleh aktinomisetes dilakukan melalui pengukuran kadar nikotin pada serbuk daun tembakau yang telah diberi inokulum aktinomisetes 10^8 dan diinkubasi selama 5 hari (Wei *et al.*, 2008). Hasil pengukuran kadar nikotin dengan waktu inkubasi 5 hari menunjukkan adanya aktivitas degradasi nikotin yang dilakukan oleh aktinomisetes isolat ATG 60, ATG 68 dan ATG 69 (Tabel 3).

Tabel 3. Analisis kadar nikotin

No	Kode isolat	Nikotin nikotin awal (%)	Kadar nikotin akhir (%)	Penurunan kadar nikotin (%)	Daya degradasi nikotin (%)
1	ATG 60	3,37	2,34	1,03	30.56
2	ATG 68	3,37	2,32	1,05	31.16
3	ATG 69	3,37	2,50	0,87	25.82

Hasil analisis daya degradasi nikotin menunjukkan aktivitas degradasi nikotin tertinggi hingga terendah adalah ATG 68, ATG 60, dan ATG 69. Tabel 4.3 menunjukkan bahwa aktinomisetes isolat ATG 68, ATG 60, dan ATG

69 dalam waktu inkubasi 5 hari masing-masing memiliki daya degradasi nikotin sebesar 31.16%, 30.56%, dan 25.82%. Aktinomisetes merupakan bakteri Gram positif sehingga dalam mendegradasi nikotin menempuh jalur piridin (Gambar 2.2 dan Gambar 4.3) (Tasia, 2015). Menurut (Gurusamy dan Natarajan, 2013) mikroorganisme yang mampu mendegradasi nikotin melalui jalur piridin menghasilkan metabolisme yang tidak toksik yang dapat berakhir di siklus asam sitrat maupun Embden-Meyerhof (Gambar 2).



Gambar 2 Degradasi nikotin oleh bakteri melalui jalur piridin (Gurusamy dan Natarajan, 2013)

Proses metabolisme piridin dilakukan dengan hidroksilasi melalui cincin C piridin dan menghasilkan 6 hidrosinikotin (6-HN). Aktivitas hidroksilasi dikatalisis oleh nikotin dehidrogenase (NDH) yang merupakan enzim molibdenum heterotrimerik. Senyawa 6-HN dioksidasi menjadi 6 hidroksi metilmiosmin (6-HMM) melalui oksidasi cincin pirolidin pada atom C nomer 2. Langkah ini dikatalisis oleh 2 enzim yaitu 6-hidroksi-L-nikotin oksidase (6-HDNO) dan 6-hidroksi-D-nikotin oksidase (6-HLNO). Langkah selanjutnya adalah proses

hidrasi 6 HMM yang berlangsung secara spontan untuk membuka cincin pirolidin dan proses tautomerisasi gugus keton menghasilkan 6-hidroksipseudoooksinikotin (6-HPON). Atom C nomer 2 dari cincin piridin metabolit ini dihidroksilasi oleh keton oksidase atau keton dehidrogenase yang merupakan nikotin dehidrogenase untuk menghasilkan 2,6-dihidroksi pseudoooksinikotin (2,6-DHPON) (Gurusamy dan Natarajan, 2013).

Pemotongan rantai samping 2,6-DHPON membentuk γ -N-metilaminobutirat (MGABA) dan 2,6-dihidroksi piridin (2,6-DHP) melalui aktivitas 2,6-Dihidroksi pseudoooksinikotin hidrolase (2,6-DHPONH). Jalur pertama diawali dengan aktivitas enzim γ -N metilenmalinbutirat oksidase (MABO) yang mengatalisis γ -metilaminobutirat (MGABA) membentuk γ -aminobutirat (GABA) dan metilentetradhidrofolat. Metilentetradhidrofolat dioksidasi lanjut oleh 2 enzim yaitu metilentetrafolat dehidrogenase/siklo hidrolase (FolD) dan formiltetradhidrofolat deformilase (PurU) menghasilkan formaldehid. Formaldehid akan diasimilasi di dalam jalur Embden-Mayerhof. Selanjutnya, GABA akan dimetabolis ke dalam suksinat semialdehid (Ssa) dan amonia oleh monoamin oksidase (MAO). Suksinat semialdehid akan dioksidasi lanjut menjadi asam suksinat oleh suksinat semialdehid dehidrogenase (SsaDH) yang aktvitasnya tergantung pada keberadaan $NADP^+$. Asam suksinat selanjutnya akan masuk ke dalam siklus asam sitrat (Gurusamy dan Natarajan, 2013).

Kemampuan aktinomisetes dalam mendegradasi nikotin dapat diaplikasikan dalam penanganan limbah nikotin dari industri rokok. Selain itu juga bisa diaplikasikan dalam pemanfaatan batang tembakau dalam produksi xilooligosakarida (prebiotik) (Racmat dan Abdillah, 2010; Liu *et al.*, 2015).





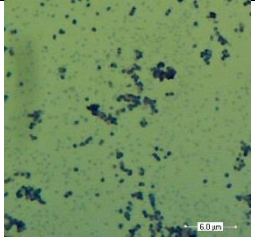



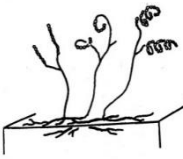
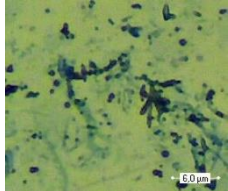

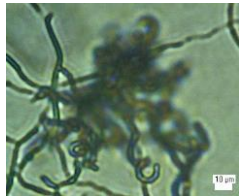
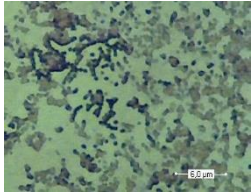
Identifikasi Morfologi secara Mikroskopis Isolat yang Terpilih

Karakteristik spora yang didapatkan berdasarkan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x yaitu ATG 60 memiliki konidia berupa *short chains of*

conidia dan memiliki bentuk filamen yang stabil dengan rantai spora yang pendek, dan disertai pembentukan miselium udara. Isolat aktinomisetes ATG 68 dan ATG 69 memiliki konidia berupa *long chains of conidia* dan memiliki bentuk filamen yang stabil dengan rantai spora spiral yang panjang, dan disertai pembentukan miselium udara. Berdasarkan

karakteristik struktur spora dan mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determinative 9th*. dapat dianalisis bahwa isolat aktinomisetes ATG 60 tergolong ke dalam genus *Saccharopolyspora*, sedangkan aktinomisetes isolat ATG 68 dan ATG 69 tergolong ke dalam genus *Streptomyces* (Tabel 4) (Holt *et al.*, 1994).

Tabel 4. Identifikasi mikroskopis tiga isolat terpilih

No	Kode isolat	Gambar Koloni	Morfologi koloni	Bentuk spora	Pewarnaan gram dan uji katalase
1.	ATG 60	 (Tampak depan)  (Tampak belakang)	Bentuk: <i>Circular</i> Tepian: <i>Entire</i> Elevasi: <i>Raised</i> Warna miselium udara: <i>Day break</i> (Rodriguez <i>et al</i> , 2018) Warna miselium substrat: <i>Crimson/Cherry</i> (Rodriguez <i>et al</i> , 2018)	  Saccharopolyspora Gambar refrensi [31].	 Perbesaran: 400x Katalase: +
2.	ATG 68	 (Tampak depan)  (Tampak belakang)	Bentuk: <i>Irregular</i> Tepian: <i>Undulate</i> Elevasi: <i>Convex</i> Warna miselium udara: <i>Zephyr</i> (Rodriguez <i>et al</i> , 2018) Warna miselium substrat: <i>Shell pink</i> (Rodriguez <i>et al</i> , 2018)	  Streptomyces Gambar refrensi [31]	 Perbesaran: 400x Katalase: +
3.	ATG 69	 (Tampak depan)	Bentuk: <i>Irregular</i> Tepian: <i>Undulate</i> Elevasi: Rata Warna miselium udara: <i>Ivory</i> (Rodriguez <i>et al</i> , 2018) Warna miselium substrat: <i>Maize yellow</i>		 Perbesaran: 400x Katalase: +

(Tampak depan) (Rodriguez *et al*, 2018)

(Tampak belakang)



Streptomyces

Gambar referensi [31].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan beberapa kesimpulan:

1. Aktinomisetes isolat ATG 60, ATG 68, dan ATG 69 asal rhizosfer tembakau memiliki aktivitas degradasi nikotin yang lebih baik dibanding 62 isolat yang mampu mendegradasi nikotin lainnya.
2. Aktinomisetes isolat ATG 68 memiliki daya degradasi nikotin sebesar 31.16% yang lebih baik daripada isolat ATG 60 (30.56%) dan ATG 69 (25.82%).
3. Pengamatan morfologi mikroskopis terhadap isolat ATG 60, ATG 68, dan ATG 69 menunjukkan bahwa aktinomisetes isolate ATG 60 termasuk dalam genus *Saccharopolyspora* dan ATG 68 maupun 69 termasuk dalam genus *Streptomyces*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Universitas Jember melalui Program Hibah Reworking Skripsi/Tesis Sesuai SPK No. 23572/UN25/KP/2022 Tanggal: 11 Oktober 2022 a.n. Dr. Esti Utarti, S.P., M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Akehurst BC. 1981. Tobacco (1981) 2nd ed., New York: Longman Inc.
- Akpinar, O., K. Erdogan, U. Bakir, L. Yilmaz. 2010. Comparison of Acid and Enzymatic Hydrolysis of Tobacco Stalk Xylan for Preparation of Xylooligosaccharides. *Food Sci. & Tech.* 43 119-125.
- Badan Pusat Statistik. 2020. *Statistik Indonesia*. Jakarta Badan Pusat Statistik.
- Badan Pusat Statistik. 2019. *Statistik Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Barka, E. A., P. Vatsa, L. Sanchez, N. Gaveau-Vaillant, C. Jacquard, H. P. Klenk, C. Clément, Y. Ouhdouch dan G. P. Van Wezel. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microb. & Mol. Bio. Rev.* 80(1): 1-43.
- Carnevali, P., R. Ciati, M. Loporati, dan M. Paese. 2007. Liquid sourdough fermentation: Industrial application perspectives. *Food Microb.* 24: 150-154.
- Chen, H. 2013. Modern Solid-State Fermentation. Beijing: Springer.
- Das, P., P. Kumar, M. Kumar, R. Solanki, dan M. K. Kapur. 2017. Purification and molecular characterization of chitinases from soil actinomycetes. *African J. of Microb. R.*, 11(27): 1086-1102.
- Disperindag-Jatim. 2013. Mengapa Impor Tembakau? Tobacco Information Center. Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Jawa Timur UPT. Pengujian Sertifikasi Mutu Barang - Lembaga Tembakau Jember. Jember.
- Fangohoi, L., A. Agustina, dan L. Navitasari. 2014. Penggunaan *mixed culture* jamur dan penambahan sumber N pada biodegradasi tandan kosong kelapa sawit dalam pengkomposan. *Buana S.* 14(2): 105-111.

- Gurusamy, R. dan S. Natarajan. 2013. Current Status on Biochemistry and Molecular Biology of Microbial Degradation of Nicotine. *The Sci. World J.* 2013: 1-13.
- Heliawati, L. 2018. *Kimia Organik Bahan Alam*. Bogor
- Holt, J. G. N. R., Krieg, P.A.H, Sneath, J. T. Staley, dan S. T. William. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Khattab, A.R., A.R.S. Ibrahim, S.M. Ibrahim, K.A.H A. El-seoud. F.K. El-Fiky, dan W.E. El-Arab. 2015. Bio-Simulation of (S)-Nicotine Mammalian Metabolism: *Cunninghamella elegans* and *Streptomyces plantensis*-Based Microbial Metabolic Models. *J. Biomed* 46: 22-29.
- Liu, Y., J. Dong, G. Liu, H. Yang, W. Liu, L. Wang, C. Kong, D. Zheng, J. Yang, L. Deng, S. Wang. 2015. Codigestion of Tobacco Waste with Different Agricultural Biomass Feedstocks and the Inhibition of Tobacco Viruses by Anaerobic Digestion. *Bioresource Tech.* 89: 210-216.
- Liu, J., G. Ma, T. Chen, Y. Hou, S. Yang, K. Zhang, dan J. Yang. 2015. Nicotine-degrading Microorganisms and their Potential Applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 99: 3775-3785.
- Madigan, M.T, J.M Martinko and J. Parker. 2019. *Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall.
- Mihasan, M., R. S. Boiangiu, D. Guzun, C. Babii, R. Aslebagh, D. Channaveerappa, E. Dupree, dan C. C. Darie. 2021. Time-Dependent Analysis of *Paenarthrobacter nicotinovorans* pAO1 Nicotine-Related Proteome. *ACS Omega* 6: 14242-14251.
- Pesevski, M.D., B.M. Iliev, D. Lj, Z.V.T.J. Popovska, M. A. Srbinska, dan B. K. Filiposki. 2010. Possibilities for Utilisation of Tobacco Stems for Production of Energetic Briquettes. *J. of Agri. Sci.* 55 (1): 45-54.
- Piotrowska-Cyplik, A. A. Olejnik, P. Cyplik, J. Dach, dan Z. Czarnecki. 2009. The Kinetics of Nicotine Degradation, Enzyme Activities and Genotoxic Potential in the Characterization of Tobacco Waste Composting. *Bio. Tech.* 100: 5037-5044.
- Rachmat, M. dan R. abdilah. 2010. Agribisnis Tembakau di Indonesia: Kontroversi dan Prospek. *Forum Penelitian Agroekonomi.* 28 (1): 69-80.
- Reitermayer, D., T. A. Kafka, C. A. Lenz, dan R. F. Vogel. 2018. Interralation between Tween and the Membrane Properties and HighPressure Tolerance of *Lactobacillus plantarum*. *BMC Microb.* 18 (1): 1-14.
- Rodriguez, C. A., T. C. Gavilánez, J. P. Chamorro, A. G. Vinueza, D. M. Salazar, dan M. Y. Arancibia. 2018. Selective isolation and phenotypic characterization of bacteria and actinomycetes from oil-contaminated soils, *9th International Conference on Environmental Science and Development IOP Publishing*, 151.
- Safaria, S., N. Idiawati, dan T. A. Zaharah. 2013. Efektivitas campuran enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam menghidrolisis substrat sabut kelapa. *J. Kim. Khatul.* 2(1): 46-51.
- Sindelar, R.D., P. Rosazza, dan C.F. Barfknecht. 1979. N-demethylation of nicotine and reduction of nicotine-1'-N-Oxide by *Microsporium gypseum*. *Appl. & Environment Microb.* 38 (5): 836-839.
- Tasia, W. 2015. Bakteri dan jamur pendegradasi nikotin dalam tembakau. *Biotrends.* 1 (1) : 1-5.

- Taylor, A., K. Dunn, dan S. Turfus. 2020. A Review of nicotine-containing electronic cigarettes-trends in use, effect, contents, labelling accuracy and detection methods. *J. Wiley*. 13: 242-260.
- Tumbel, M. 2010. Analisis kadar nikotin dalam tembakau tongka Kabupaten Bantaeng. *Bionature*. 11 (2): 89-94.
- Utarti, E., S. F. Alim, dan D. Setyati, dan Sutoyo. 2021. Isolasi aktinomiset pelarut fosfat pada perakaran tembakau (*nicotiana tabacum* l.) asal Jember. *J Metamorfosa*. 8 (2): 260-267.
- Wei, H., L. Lei, Z. Xia, S. Liu, P. Liu., dan X. Liu. 2008. Characterisation of a novel aerobic nicotine-biodegrading strain of *Pseudomonas putida*. *An. of Microb*. 58 (1): 41-45.