

KEANEKARAGAMAN *STREPTOMYCES* YANG BERASOSIASI DENGAN RIZOSFER JAGUNG (*Zea mays*)

Ambarwati¹ dan Eni Purwani²

¹ Prodi Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surakarta Jl. A. Yani, Tromol Pos I, Pabelan Surakarta

² Prodi Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surakarta Jl. A. Yani, Tromol Pos I, Pabelan Surakarta
Email: ambarwati7@yahoo.com

ABSTRAK

Actinomycetes merupakan kelompok bakteri yang memiliki morfologi seperti fungi, hal ini dikarenakan struktur Actinomycetes berupa filament lembut yang sering disebut *hyfa* atau *mycelia*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi isolat Streptomyces berdasarkan hasil pewarnaan gram dan morfologi serta permukaan rantai spora isolat dengan mikroskop elektron (SEM) sehingga dapat diketahui keanekaragaman Streptomyces yang berasosiasi dengan rizosfer Jagung (*Zea mays*). Jenis penelitian ini adalah eksplorasi dengan pemeriksaan laboratorium. Untuk mencapai tujuan di atas maka dilakukan langkah-langkah sebagai berikut: 1). Peremajaan kembali isolat dari rizosfer Jagung yang telah didapatkan pada penelitian sebelumnya dengan media *Starch-Casein Agar* (SCA), 2). Pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi sel, 3). *Colour grouping* untuk melihat warna vegetatif dan aerial miselium dan 4). Identifikasi isolat dengan SEM. Berdasarkan hasil penelitian diketahui tujuh isolat yang diisolasi dari rizosfer dan non rizosfer tanaman jagung memiliki bentuk batang bercabang, berwarna ungu dan termasuk gram positif, yang mengindikasikan bahwa ketujuh isolat termasuk anggota Streptomyces. Berdasarkan hasil analisis dengan SEM didapatkan hasil bahwa ketujuh isolat memiliki morfologi bulat (J10, J16, NJ20, dan NJ25), batang (NJ6 dan NJ13) dan loop (J23 dan NJ20) dengan ornamen permukaan spora halus (J16, J23, NJ6 dan NJ13) serta berkulit (J10, NJ20 dan NJ25).

Kata kunci: *biodiversitas, streptomyces, rizosfer dan non rizosfer jagung*

PENDAHULUAN

Actinomycetes merupakan bakteri yang memiliki morfologi seperti fungi, hal ini dikarenakan struktur Actinomycetes berupa filament lembut yang sering disebut *hyfa* atau *mycelia* (Rao, 2001). Nurkanto (2007) berhasil mengidentifikasi anggota Actinomycetes yang meliputi: Actinoplanes, Micromonospora, Microbiospora, Microtetrastroma, Streptosporangium, Nocardia, dan Streptomyces. Pada saat ini banyak penelitian yang difokuskan pada Actinomycetes, terutama Streptomyces yang diindikasikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik terbanyak.

Habitat Actinomycetes, terutama Streptomyces adalah di tanah, sekitar 70% mikroba yang ada di tanah adalah Streptomyces (Rao, 2001). Keberadaan Actinomycetes dalam tanah telah banyak dikaji peneliti. Penelitian Sembiring, *et al* (2000) berhasil mengisolasi Streptomyces dari rizosfer tanaman Sengon (*Paraserianthes falcataria*). Penelitian Ambarwati, *et al* (2010) berhasil mengisolasi Streptomyces dari rizosfer Jagung (*Zea mays*) dan berhasil menemukan 23 isolat, 10 isolat diantaranya mampu menghambat bakteri gram positif dan satu isolat (RNJ14) mampu menghambat *S. aureus* dengan kuat (32,33 mm), isolat RNJ14 diduga menghasilkan antibiotik linkomisin berdasarkan analisa dengan TLC. Penelitian ini telah diteruskan oleh Helbert (2010) dengan mengujikan isolat sebagai penghasil antifungal. Pada penelitian Helbert telah berhasil dilakukan peremajaan terhadap isolat dari rizosfer jagung sebanyak 7 isolat, yaitu J9, J10, J16, J20, J23, NJ20 dan NJ25. Dengan penelitian ini penulis akan melanjutkan dengan mengidentifikasi isolat dengan mikroskop elektron (SEM) untuk mengetahui morfologi dan permukaan rantai spora isolat, yang merupakan salah satu cara untuk mengidentifikasi apakah isolat yang telah ditemukan pada penelitian sebelumnya adalah Streptomyces.

Tujuan dari penelitian ini adalah: 1). Peremajaan kembali isolat dari rizosfer Jagung yang telah didapatkan pada penelitian sebelumnya dengan media *Starch-Casein Agar* (SCA), 2). Pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi sel, 3). *Colour grouping* pada media oatmeal agar untuk mengetahui warna vegetatif dan aerial miselium dan 4). Identifikasi isolat dengan SEM.

Berdasarkan hasil penelitian Sembiring *et al.* (2000) diketahui bahwa densitas isolat Streptomyces yang ditemukan di daerah rizosfer tanaman Sengon (*Paraserianthes falcataria*) tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan isolat yang ditemukan di daerah non rizosfer. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi Actinomycetes dari rizosfer, diantaranya penelitian Gesheva (2002) yang telah menemukan isolat Actinomycetes dari rizosfer jeruk manis (*Citrus sinensis* Osb.) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan diketahui bahwa isolat terbanyak adalah Streptomyces. Berdasarkan hasil penelitian Basil *et al.* (2004) diketahui isolat terbesar dari rizosfer *sagebrush* (*Artemisia tridentata*) adalah Streptomyces.



Penelitian lain dilakukan oleh Djatmiko, *et al.* (2007) yang berhasil mendapatkan dua isolat *Streptomyces* dari rizosfer terung (*Solanum melongena*). Selain itu, sebanyak 43 isolat Actinomycetes telah ditemukan di rizosfer tanaman kapas (*Caravonica katoen*), empat isolat diidentifikasi sebagai *Streptomyces erumpens*, *S. purpureus*, *S. aurantiacus* dan *S. microflavus* (Hassanin, *et al.*, 2007). Shirokikh, *et al.* (2007) berhasil mengisolasi Actinomycetes dari rizosfer Gandum (*Avena sativa*. L).

BAHAN DAN CARA KERJA

Objek dalam penelitian ini adalah 7 isolat *Streptomyces* yang diisolasi dari rizosfer jagung (*Zea mays*), hasil dari penelitian sebelumnya. Jenis penelitian ini adalah survei eksploratif dengan pemeriksaan laboratorium.

Penelitian ini dilaksanakan selama 12 bulan. Tempat penelitian: 1). Peremajaan isolat dan pemeriksaan morfologi sel dengan pewarnaan gram dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2). Identifikasi isolat dengan mikroskop elektron (SEM) dilakukan di laboratorium Zoologi LIPI.

Tahapan penelitian meliputi:

1. Peremajaan Isolat

Isolat *Streptomyces* yang ditumbuhkan pada medium cair diisolasi pada media *Starch Casein Agar* (SCA) dengan metode streak. Diinkubasi pada suhu 25°C selama 4 hari.

2. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan sebagaimana prosedur dalam Prescott, *et al.*,(1999).

3. Colour Grouping

Dari hasil peremajaan dilakukan *colour grouping* pada media *Oatmeal Agar* (Sembiring *et al.*, 2000). Hal ini dilakukan untuk mengelompokkan isolat berdasarkan warna aerial miselium, vegetatif miselium dan mengetahui apakah warna pigmen yang dihasilkan terdifusikan atau tidak.

4. Pemeriksaan dengan Mikroskop Elektron

Untuk mengetahui morfologi dan ornamen permukaan rantai spora dari isolat yang representatif dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop elektron (SEM), pemeriksaan dengan SEM dilakukan di LIPI Bogor.

Data dikumpulkan dari hasil pewarnaan gram untuk menentukan morfologi sel dan ornamen permukaan rantai spora hasil SEM. Analisis data dilakukan secara deskriptif untuk menggambarkan morfologi sel *Streptomyces* hasil pewarnaan gram dan morfologi serta ornamen permukaan rantai spora hasil SEM.

HASIL

1. Hasil Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram dari tujuh isolat yang diisolasi dari rizosfer dan non rizosfer Jagung disajikan pada Gambar 1

2. Hasil Colour Grouping

Hasil *colour grouping* disajikan pada Tabel 2. dan Gambar 2 .

3. Hasil SEM

Hasil pemeriksaan morfologi rantai spora dan ornamen permukaan rantai spora dengan SEM disajikan pada Gambar 3.



PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi tujuh isolat yang telah ditemukan pada penelitian Ambarwati, *et al.*, (2010) dengan mengamati rantai dan permukaan rantai spora dengan mikroskop elektron (SEM). *Streptomyces* merupakan salah satu anggota dari Actinomycetes disamping Actinoplanes, Micromonospora, Microbiospora, Microtetrastora, Nocardia dan Streptosporangium (Nurkanto, 2007).

Beberapa cara dapat dilakukan untuk mengidentifikasi *Streptomyces*. 1). Berdasarkan koloninya, *Streptomyces* mempunyai koloni kering dan kecil dengan diameter 1-10 mm. 2). Selanjutnya dapat diidentifikasi dengan *color grouping*, pada medium khusus, misalnya Oatmeal Agar, *Streptomyces* dapat menghasilkan berbagai warna yang berbeda baik pada vegetatif miselium maupun aerial miselium (Holt, *et al.*, 1994). Aerial miselium bila dewasa akan membentuk rantai spora yang terdiri dari 3 sampai 50 spora atau lebih (Holt, *et al.*, 1994; Prescott, *et al.*, 1999). 3). Berdasarkan hasil pewarnaan gram, *Streptomyces* termasuk gram positif tetapi tidak tahan asam, tumbuh optimal pada suhu 25-35°C, serta pH optimal 6,5-8,0 (Holt *et al.*, 1994). Dan 4). pengamatan morfologi dan permukaan rantai spora, dapat dilakukan dengan mikroskop elektron (SEM), morfologi rantai spora bisa digolongkan lurus, lentur atau spiral, sedangkan permukaan spora bisa dibedakan menjadi halus, berkulit, berduri atau berbulu (Korn-Wendisch dan Kutzner, 1992). Banyak strain yang menghasilkan antibiotik (Holt, *et al.*, 1994; Madigan, *et al.*, 2003).

Berdasarkan gambar 1, diketahui bahwa ketujuh isolat yang diperiksa mempunyai ciri batang bercabang, berwarna ungu dan gram positif yang merupakan ciri dari *Streptomyces*. Berdasarkan Tabel 1, diketahui pula bahwa ketujuh isolat yang ditumbuhkan pada media Oatmeal Agar mampu menghasilkan warna pada media yang merupakan ciri dari *Streptomyces*

Berdasarkan gambar 2, diketahui bahwa ketujuh isolat memiliki morfologi dan permukaan rantai spora yang berbeda. Untuk isolat yang berasal dari rizosfer Jagung : Isolat J10, J16, J23, isolat ini mampu menghambat *Basilus subtilis* dengan diameter daerah hambatan masing-masing 11,67 mm, 12,67 mm dan 12,33 mm (Ambarwati, *et al.*, 2010). Isolat J10 memiliki morfologi spora bulat, lentur, panjang spora lebih dari 10, ornament permukaan spora berkulit. Isolat J16 memiliki morfologi spora bulat, lurus, panjang spora lebih dari 5, ornamen permukaan spora halus. Dan isolat J23, memiliki morfologi spora seperti loop dan ornamen permukaan spora halus.

Untuk isolat dari non rizosfer jagung: Isolat NJ6, mampu menghambat *B. subtilis* dengan daerah hambatan 12,33 mm. Isolat NJ13 mampu menghambat *S. aureus* dan *B. subtilis* dengan daerah hambatan masing-masing 13,33 mm dan 11,33 mm (Ambarwati, *et al.*, 2010). Isolat NJ6 memiliki morfologi spora batang panjang, lurus, panjang spora lebih dari 3, ornamen permukaan spora halus. Isolat NJ13, memiliki morfologi spora batang pendek, lurus, panjang spora lebih dari 5, ornamen permukaan spora halus. Isolate NJ20, memiliki morfologi spora bulat membentuk loop, lurus, panjang spora lebih dari 10, ornamen permukaan spora berkulit. Dan NJ25, memiliki morfologi spora bulat, lentur, panjang spora lebih dari 5, ornamen permukaan spora berkulit.

Hal yang menarik dari penelitian ini adalah bahwa isolat yang ditemukan memiliki morfologi dan ornamen permukaan rantai spora yang berbeda, sehingga dimungkinkan merupakan spesies yang berbeda juga, meskipun beberapa diantaranya sama-sama memiliki morfologi bulat dan permukaan berkulit (J10, NJ20 dan NJ25), sehingga dimungkinkan memiliki tingkat kekerabatan yang dekat secara molekuler. Isolat NJ6 memiliki morfologi yang unik karena berbentuk batang panjang dan gepeng, hasil ini belum umum ditemukan sehingga dimungkinkan sebagai isolat baru. Penelitian Sembiring, *et al.*, (2000) berhasil menemukan 6 spesies *Streptomyces* baru yang diisolasi dari tanah di lapangan Golf Cangkringan Yogyakarta dan diberi nama *Streptomyces asiaticus*, *S. cangkringensis*, *S. indonesiensis*, *S. javensis*, *S. rhizosphaerius* dan *S. yogyakartaensis*. Otoguro, *et al.*, (2009) juga berhasil menemukan *Streptomyces baliensis* yang merupakan spesies baru yang diisolasi dari tanah Bali.

Beberapa penelitian yang telah mengidentifikasi *Streptomyces* dengan SEM adalah : Penelitian Kim, *et al.*, (2006) yang berhasil menemukan *Streptomyces cheonanensis* sp. Nov., yang diisolasi dari tanah di Cheonan, Korea. Spesies baru ini memiliki ciri : aerobik, gram positif, non motil, warna aerial miselium abu-abu keputihan sedangkan vegetatif miselium berwarna kuning cerah, bentuk spora batang panjang atau pendek dengan permukaan spora halus. Hozzein dan Goodfellow (2007) berhasil menemukan *Streptomyces synnematoformans* sp, nov. yang diisolasi dari tanah pasir di Mesir. Morfologi spora dari *Streptomyces* ini adalah batang, warna aerial miselium merah cerah keabu-abuan sampai merah kehitaman, vegetatif miselium berwarna bervariasi dari merah tua sampai hitam kemerahan, warna tidak terdifusi, rantai spora pendek dan lurus dengan permukaan spora halus.

Penelitian Zhao, *et al.*, (2009) berhasil menemukan *Streptomyces xinghaiensis* sp. Nov, *Streptomyces* spesies baru yang diisolasi dari sedimen air laut Xinghai Bay, Dalian, China. *Streptomyces* ini memiliki ciri: gram positif, aerobik, non motil, warna koloni kuning keputihan, rantai spora panjang lurus, permukaan spora halus. Zhu, *et al.*, (2011) berhasil menemukan *Streptomyces lacticiproducens* sp. Nov,



yang diisolasi dari rizosfer tanaman tomat. Bentuk spora dari *Streptomyces* ini batang silindris, lurus dengan permukaan rantai spora halus.

Ketujuh isolat yang telah dianalisis dengan SEM juga menunjukkan morfologi yang berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan di atas. Oleh karena itu akan lebih baik jika penelitian ini dilanjutkan sampai analisis molekuler untuk menganalisis tingkat kekerabatan isolat tersebut dengan isolat *Streptomyces* yang sudah ditemukan sebelumnya. Sehingga dapat diketahui apakah isolat yang ditemukan merupakan spesies baru atau spesies yang pernah ditemukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada: 1). Prof. Dr. Harun Joko Prayitno, MHum, selaku ketua lembaga penelitian UMS yang telah membiayai pelaksanaan penelitian ini lewat skim Penelitian regular Kompetitif dengan SK No. 58/A.3-III/LPPM/II/2011. 2). Ibu Endang, Mbak Yuni dan Mbak Tika dari Laboratorium Zoologi LIPI yang telah membantu pelaksanaan analisis isolat *Streptomyces* dengan SEM. Dan 3). Ibu Dian Widyastuti, SE yang telah membantu pelaksanaan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi FIK UMS.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, C.J. Soegihardjo dan Sembiring L. (2010). Isolasi dan Identifikasi *Streptomyces* dari Rizosfer Jagung (*Zea mays* L.) yang berpotensi sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Biota* 15 (1) ISSN 0853-8670. Terakreditasi Dikti No. 43/DIKTI/Kep/2008
- Basil, A. J., Strap. J. L., Knotek-Smith, H. M., and Crawford, D. L. (2004). Studies on The Microbial Populations of The Rizosfer of Big Sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 31 (6): 278-288
- Djatmiko, H. A., Arwiyanto, T., Hadisutrisno, B., and Sunarminto, B. H. (2007). Potensi Tiga Genus Bakteri dari Rizosfer Tanaman sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Lincat. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 9 (1): 40-47.
- Gesheva, V. (2002). Rizosfer Microflora of Some Citrus as a Source of Antagonistic Actinomycetes. *European Journal of Soil Biology*, 38 (1): 85-88.
- Hassanin, S. M., El-Mehalawy, A. A., Hassanin, N. M., and Zaki, S. A. (2007). Induction of Resistance and Biocontrol of Rhizoctonia in Cotton Damping-off Disease by Rizosfer Bacteria and Actinomycetes. *The Internet Journal of Microbiology*, 3(2).
- Helbert, (2010). Potensi Isolat *Streptomyces* dari Rhizosfer Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) dan Jagung (*Zea mays*) sebagai Penghasil Antifungal. Skripsi, fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th). Lippincott Williams & Wilkins. USA.
- Hozzein, W.N and Goodfellow, M. (2007). *Streptomyces synnematoformans* sp. Nov., a novel actinomycete isolated from a sand dune soil in Egypt. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57 (9):2009-2013.
- Kim, H. J., Lee, S. C., and Hwang, B. K., (2006). *Streptomyces cheonanensis* sp. Nov., a novel streptomyces with antifungal activity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56 (8):471-475.
- Korn-Wendisch, F., and Kutzner, H. J. (1992). *The Family Streptomycetaceae*. In *The Prokaryotes*, Second Edition. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. (A. Balows, H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, & Karl-Heinz Schleifer. Eds). Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, and Budapest.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. (2003). *Brock Biology of Microorganisms* (10th ed). Prentice Hall, USA.
- Nurkanto A., (2007). Identifikasi Actinomycetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan Potensinya sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat. *Jurnal Biodiversitas*, 8(4): 314-319.
- Otoguro, M., Ratnakomala, S., Lestari, Y., Hastuti, R.D., Triana, E., Widyastuti, Y., and Ando, A., (2009). *Streptomyces baliensis* sp. Nov., Isolated from Balinese Soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59 : 2158-2161.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., and Klein, D. A. (1999). *Microbiology*. (4th ed). Boston: WCB McGraw-Hill.
- Rao, N. S. S. (2001). *Soil Microbiology. Soil Microorganism and Plant Growth*. (4th ed). Enfield (NH), USA: Science Publishers, Inc.
- Sembiring, L., Ward A. C. and 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 (3-4): 353-366.
- Shirokikh, I. G., Zenova, G. M., Merzaeva, O. V., Lapygina, E. V., Bataloval, G. A., and Lysak, L. V. (2007). Actinomycetes in the Prokaryotic Complex of Rizosfer of Oat in a Soddy-podzolic Soil. *Journal of Eurasian Soil Science*, 40 (2): 158-162.
- Zhao, X. Q, Li, W. J, Jiao, W. C, Li, Y., Yuan, W.J., Zhang, Y. Q, Klenk, H. P, Suh, J. W., Bai, F. W. (2009). *Streptomyces xinghaiensis* sp. nov., isolated from marine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 59, (11): 2870-2874.
- Zhu, HH, Yao, Q, Yang, SZ, Li, ZK and Guo, J., (2011). *Streptomyces lacticiproducens* sp, nov., a lactic acid-producing streptomycete isolated from rhizosphere of tomato plants. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 61, (1): 35-39.



DISKUSI

Penanya: Utami Sri Hastuti - Universitas Negeri Malang

1. Dasar bakteri yang diuji?
2. Yang dimaksud dengan rizosfer?
3. Bagaimana dengan panjang spora?

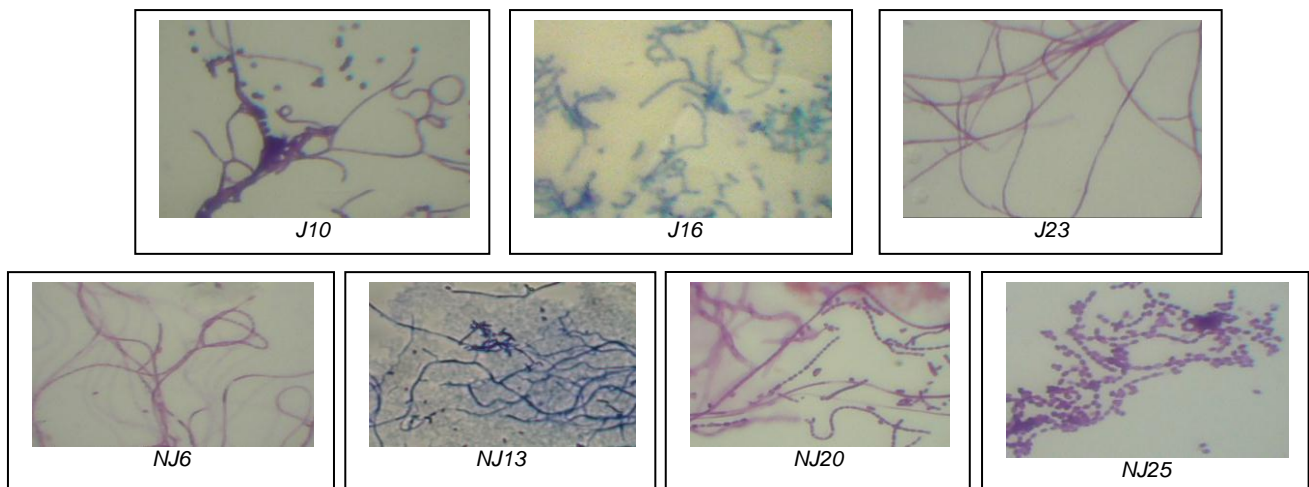
Jawab:

1. Menggunakan isolat mikroba yang telah digunakan untuk penelitian sebelumnya
2. Rizosfer adalah tanah yang menempel pada akar tanaman, yang nantinya diambil untuk diuji
3. Panjang spora terlihat pada zona yang terlihat untuk menyusun koloni

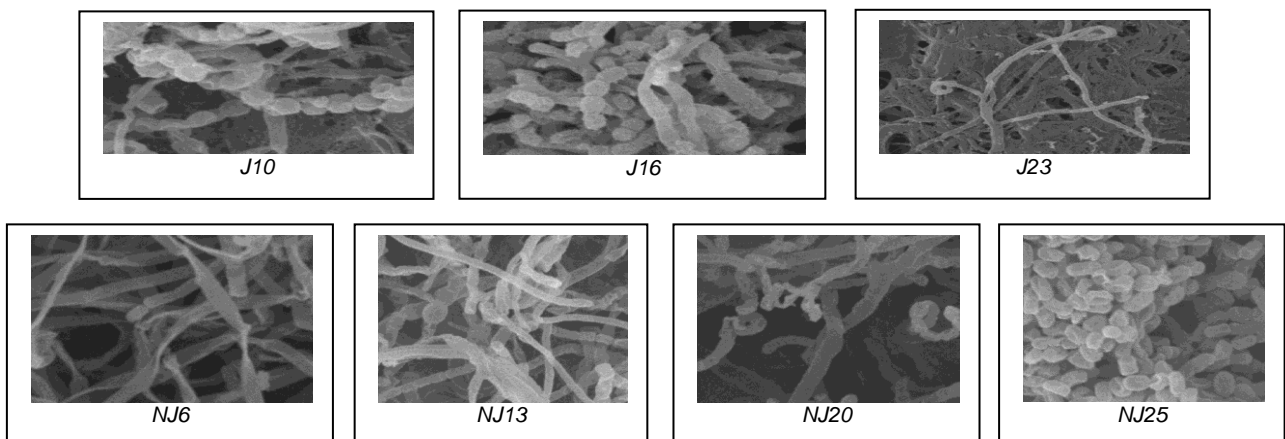
LAMPIRAN

Tabel 1. *Colour Grouping* Tujuh Isolat Anggota Genus *Streptomyces* dari Sampel Tanah Rizosfer dan Non Rizosfer Jagung (*Zea mays* L.)

No.	Kode Isolat	Warna miselium udara	Warna miselium vegetatif	Warna pigmen yang berdifusi
1	J10	Coklat Kemerahan	Coklat	-
2	J16	Coklat Muda	Coklat Kekuningan	Coklat
3	J23	Putih	Kuning Kecoklatan	Coklat
4	NJ6	Putih	Coklat Muda	-
5	NJ13	Putih	Coklat	-
6	NJ20	Putih	Kuning	-
7	NJ25	Abu-Abu	Kuning kecoklatan	Kuning



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram Isolat



Gambar 2. Hasil SEM Isolat