

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

Ambarwati* dan Eni Purwanti**

* Prodi Kesehatan Masyarakat FIK UMS

**Prodi Gizi FIK UMS

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, *colour grouping* 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 mengelompokkan isolat berdasarkan warna aerial miselium dan vegetatif 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 Streptomycetes. Berdasarkan hasil *colour grouping* diketahui bahwa ketujuh isolat yang ditumbuhkan pada media Oatmeal Agar dapat menghasilkan warna yang berbeda. Dan 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*

ABSTRACT

Actinomycetes is the member of bacteria that has morphology like fungus, it is because of the structure of Actinomycetes have smoot filament that is usually called hyfa or mycelia. The aims of this research was : to identified the isolate of Streptomyces based on gram stain, *colour grouping* and the morphology of spores chain and the surface ornament of spores with electron microscopy analysis, therefore it can be known the biodiversity of Streptomyces that asosiation with rizosfer of Corn (*Zea mays*). This research was explorative with laboratory experiment. To reach this aims, it need several steps: 1). Reisolation the isolates

from rhizosphere of Corn that have gotten from the last research on *Starch-Casein Agar (SCA)*, 2). Gram stain procedure to know the cell morphology, 3). *Colour grouping* to make a group of isolate colour based on aerial mycelium and vegetative mycelium, and 4). To identified the isolates by electron microscopy. Based on this research, it is known that the morphology of seven isolates from rhizosphere and non rhizosphere of Corn were branch rod, purple or blue, and gram positive bacteria. It was indicated that the isolates were the member of streptomyces. Based on *colour grouping* result, it was known that the seven isolates can produce different colour on Oatmeal Agar. And based on SEM result, it can be concluded that the seven isolates have a characteristic as Streptomyces: the morphology of the spores chain are coccus (J10, J16, NJ20, dan NJ25), rod (NJ6 dan NJ13) and like loop (J23 dan NJ20), beside that the surface ornament of the spores are smooth (J16, J23, NJ6 dan NJ13) and warty (J10, NJ20 dan NJ25).

Key words : *Biodiversity, Streptomyces, Rhizosphere and Non rhizosphere of Corn*

A. 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, Microbispora, Microtetraspora, 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). Bahkan Nurkanto (2007) berhasil membuktikan bahwa genus yang paling dominan dalam tanah adalah Streptomyces, yaitu sebanyak 86%. Keberadaan Actinomycetes dalam tanah telah banyak dikaji peneliti. Penelitian Sembiring, *et al* (2000) berhasil mengisolasi Streptomyces dari rizosfer tanaman Sengon (*Paraserianthes falcataria*). Penelitian Lo, *et al* (2002) berhasil menemukan Streptomyces dari tanah Sabah, Oskay, *et al* (2004), dari ladang pertanian di daerah Manisa di Turki, Nedialkova dan Naidenova (2005), dari Antarctica, Nurkanto (2007) dari tanah hutan, dan Bharti, *et al* (2010) dari 69 lokasi tanah di wilayah Garhwal.

Penelitian Ambarwati, *et al* (2010) berhasil mengisolasi *Streptomyces* dari rhizosfer 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 program penelitian reguler kompetitif ini peneliti akan melanjutkan penelitian 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). Mengetahui morfologi sel *Streptomyces* berdasarkan pewarnaan gram, 2). Mengetahui warna isolat berdasarkan hasil *colour grouping* DAN 3). Mengetahui morfologi dan permukaan rantai spora isolat *Streptomyces* dengan mikroskop elektron (SEM).

Actinomycetes termasuk bakteri yang berbentuk batang, gram positif, bersifat anaerobik atau fakultatif. Struktur *Actinomycetes* berupa filament lembut yang sering disebut hyfa atau mycelia, sebagaimana yang terdapat pada fungi, dan memiliki konidia pada hifa yang menegak (Rao, 2001; Madigan *et al.*, 2003). Menurut Rao (2001), pada medium agar, koloni *Actinomycetes* menunjukkan konsistensi berbutuk dan melekat kuat pada medium serta tumbuh secara lambat. Hal ini yang membedakan dengan koloni bakteri lain yang umumnya berlendir dan dapat tumbuh dengan cepat. Bila satu koloni *Actinomycetes* diamati di bawah mikroskop stereo akan terlihat miselium ramping bersel satu yang bercabang dan membentuk spora aseksual.

Identifikasi *Streptomyces* dapat dilakukan dengan cara :

1. Identifikasi koloni

Ciri koloni *Streptomyces* adalah kering dan kecil dengan diameter 1-10 mm, koloninya tunggal seperti liken, kulit atau butiran, pada

awalnya permukaan koloni halus namun kemudian membentuk tenunan miselium udara yang tampak seperti butiran, bubuk, atau beludru (Rao, 2001)

2. Identifikasi morfologi sel

Streptomyces merupakan bakteri yang berbentuk batang bercabang dan termasuk Gram positif (Madigan *et al.*, 2003).

3. Hasil *colour grouping*

Colour grouping dilakukan untuk menggolongkan isolat berdasarkan warna miselium udara, miselium vegetatif dan warna pigmen yang terdifusi. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa pada medium khusus *Streptomyces* dapat menghasilkan berbagai warna yang berbeda, baik pada miselium vegetatif maupun miselium udara, warna yang terbentuk dapat tersebar (terdifusi) atau tidak tersebar ke medium (Korn-Wendisch and Kutzner, 1992, Rao, 2001). Miselium vegetatif mempunyai diameter antara 0,5-2,0 μm dan bercabang banyak dengan fragmen yang jarang. Miselium udara dapat dibedakan berdasarkan (i) panjang hifa, yaitu pendek (koloni seperti debu), medium atau panjang (koloni seperti kapas), (ii) macam percabangan, yaitu monopodial atau simpodial, (iii) susunan spora pada hifa, serta (iv) morfologi spora (Korn-Wendisch and Kutzner, 1992).

4. Identifikasi dengan SEM

Miselium udara bila dewasa akan membentuk rantai spora yang terdiri dari 3 sampai 50 spora atau lebih (Prescott *et al.*, 1999). Morfologi rantai spora dapat digolongkan lurus, lentur atau spiral, sedangkan permukaan spora bisa dibedakan menjadi halus, berkulit, berduri atau berbulu (Korn-Wendisch and Kutzner, 1992).

Actinomycetes selalu ditemukan pada substrat alam, seperti tanah dan kompos, air kolam, bahan makanan, dan di atmosfer. Laut dalam, bukan merupakan habitat yang baik bagi *Actinomycetes*. *Actinomycetes* hidup dan memperbanyak diri dalam tanah dan kompos pada kedalaman yang

bervariasi, serta pada daerah yang dingin dan tropik. Tanah yang basa dan netral lebih disukai dari pada tanah yang asam. Pada tanah yang kering dan panas (hangat), banyak ditemukan Actinomycetes, seperti : Nocardia, Streptomyces dan Mikromonospora. Kelompok mikroorganisme ini menyebabkan bau musty, yaitu bau seperti tanah yang baru dibajak (Budiyanto, 2004).

Populasi Actinomycetes pada tanah yang subur mencapai 700.000 (Budiyatno, 2004). Selain di tanah, mikroorganisme juga ditemukan di wilayah rizosfer. Rizosfer dapat diartikan sebagai bagian tanah yang berbatasan dan dipengaruhi oleh akar tanaman (Rao, 2001; Budiyanto, 2004). Pada umumnya mikroorganisme yang hidup di wilayah rhizosfer lebih banyak dari pada di tanah yang bukan rhizosfer (Rao, 2001). Banyaknya mikroorganisme termasuk Actinomycetes pada rhizosfer ini disebabkan karena akar tanaman mempunyai kemampuan mengeluarkan eksudat. Eksudat mengandung berbagai macam asam amino (Widayati, 2005), vitamin dan zat organik lainnya (Budiyatno, 2004) yang berguna sebagai sumber energi bagi mikroorganisme yang hidup di sekitar perakaran tersebut.

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. Menurut Rao (2001) beberapa hal yang mempengaruhi jumlah dan komposisi eksudat yang dikeluarkan oleh tanaman adalah (i) jenis tanaman, tanaman yang berbeda akan mengeluarkan eksudat dengan jumlah yang berbeda pula, (ii) umur tanaman, (iii) kondisi lingkungan yang mempengaruhi eksudat akar meliputi suhu, irradiasi, kelembaban tanah, jenis tanah dan nutrisi tanaman, serta tekanan pada tanaman, (iv) kondisi lingkungan tempat tumbuh tanaman, dan (v) kehadiran mikroorganisme.

Komposisi eksudat yang dikeluarkan akar akan mempengaruhi komposisi dan aktivitas mikroorganisme yang hidup dalam rizosfer. Pengaruh eksudat terhadap kehidupan mikroorganisme di sekitar perakaran dipengaruhi

oleh panjangnya jarak tempuh yang dicapai oleh eksudat tersebut dalam tanah (Rao, 2001). Efek rizosfer merupakan istilah yang digunakan untuk menyatakan adanya suatu rangsangan atau dorongan terhadap pertumbuhan mikroorganisme di sekitar perakaran karena dilepaskannya zat organik oleh tanaman (Rao, 2001; Bais *et al.*, 2006). Efek rizosfer bersifat sentrifugal dan cenderung akan berkurang dalam tanah yang sistem percabangan perakarannya sedikit. Beberapa faktor yang mempengaruhi efek rizosfer adalah (i) tipe tanah, (ii) kelembaban tanah, (iii) pH tanah, (iv) temperatur tanah, (v) umur tanaman, dan (vi) kondisi tanaman (Rao, 2001).

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). Serta penelitian Rahayu *et al.* (2007) telah berhasil mengisolasi *Streptomyces* dari rizosfer orok-orok (*Crotalaria striata*), rumput king (*Zoysia matrella* (L.) Merr) dan jukut domdoman (*Chrysopogon aciculatus* (Retz) Trin).

B. METODE PENELITIAN

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

Pada isolat yang telah dipurifikasi dilakukan pewarnaan gram. Caranya : diambil *objek glass* dan difiksasi dengan melidah apikan di atas bunsen sebanyak 2-3 kali secara cepat. Selanjutnya diambil 1 ose biakan *Streptomyces* dan letakkan di atas *objek glass*. Kemudian biakan *Streptomyces* diratakan dengan jarum ose. Setelah itu dilakukan fiksasi dengan melidah apikan bagian yang tidak ada *Streptomyces*nya di atas bunsen 2-3 kali dengan cepat. Langkah selanjutnya dituangkan pewarna Carbol gentian violet, dibiarkan selama 1 menit, setelah 1 menit preparat dicuci dengan air mengalir. Setelah itu preparat dikeringkan dengan membiarkan di udara terbuka. Selanjutnya dituangkan pewarna Iodium, dibiarkan selama 2 menit. Setelah 2 menit preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara terbuka. Berikutnya preparat dipucatkan dengan alkohol 95% (sampai warna ungu hilang), lalu dibilas dengan air mengalir. Langkah terakhir dituangkan pewarna Safranin sebagai warna penutup / pembanding, dan dibiarkan selama 30 detik. Setelah 30 detik preparat dicuci dengan air mengalir. Setelah itu preparat dikeringkan dengan meletakkan diantara 2 buah kertas tissue. Kemudian preparat dilihat di bawah mikroskop, digunakan pembesaran lemah dulu baru pembesaran kuat dengan terlebih dahulu menambahkan minyak imersi (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 cahaya dan mikroskop elektron (SEM), kultur yang diperiksa ditumbuhkan pada medium *Starch Casein agar* pada suhu 25°C sampai berumur 14 hari. Morfologi rantai spora dapat ditentukan dengan menggunakan mikroskop optik binokuler. Ornamen permukaan spora ditentukan menggunakan prosedur berikut. Agar blok yang mengandung spora *Streptomyces* difiksasi dengan direndam dalam 2% glutaraldehyde pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian didehidrasi dengan seri etanol bertingkat (air, etanol 5%, etanol 14,5%, etanol 27,5%, etanol 42%, etanol 56,5%, etanol 69,5%, etanol 80%, etanol 89%, etanol 95,6%, dan etanol 100%). Setelah itu, dilakukan pengeringan dengan alat *critical point drying* (pengering dengan karbon dioksida cair). Selanjutnya, spesimen ditempatkan pada *stub* (holder) menggunakan lem khusus (*mounting drying*). Langkah selanjutnya dilakukan *coating*, yaitu pelapisan sampel dengan emas murni dengan alat *gold sputter*. Selanjutnya, dilakukan pengamatan dengan SEM.

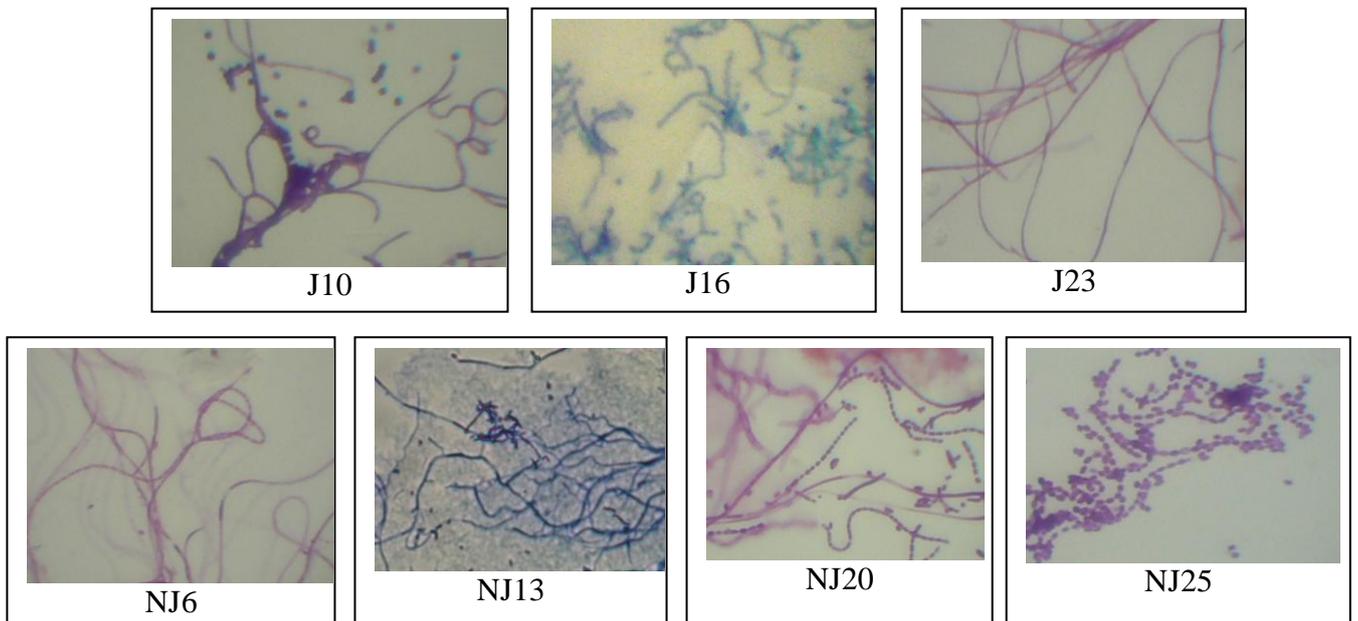
Data dikumpulkan dari hasil pewarnaan gram untuk menentukan morfologi sel dan ornamen permukaan rantai spora hasil SEM.. Analisis data dilakukan secara deskriptif untuk menggambarkan morfologi sel *Streptomyces* hasil pewarnaan gram dan morfologi serta ornamen permukaan rantai spora hasil SEM.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

1. Hasil Pewarnaan Gram

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



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram Isolat

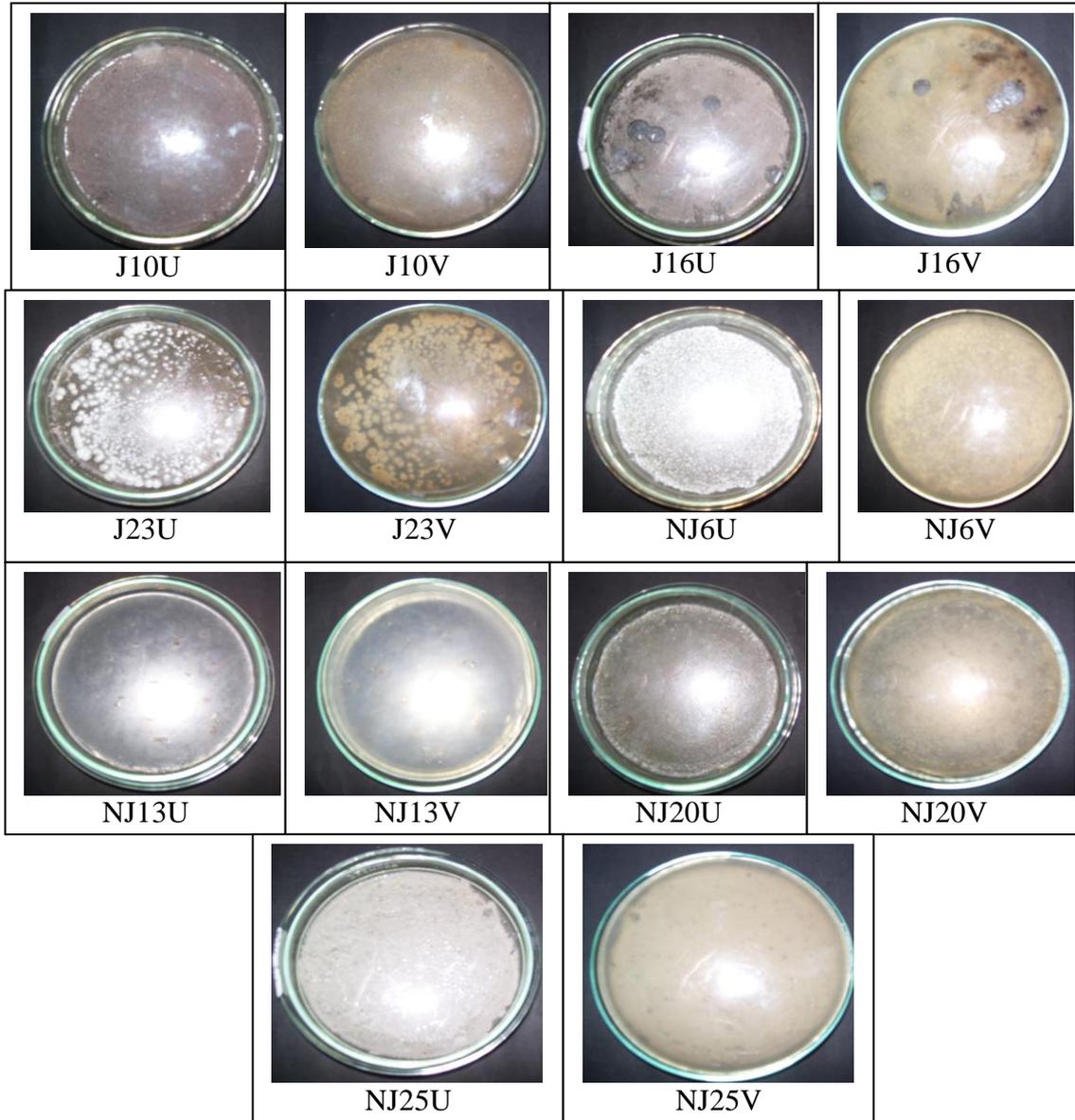
2. Hasil *Colour Grouping*

Hasil *colour grouping* disajikan pada Tabel 1. dan Gambar 2 berikut.

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



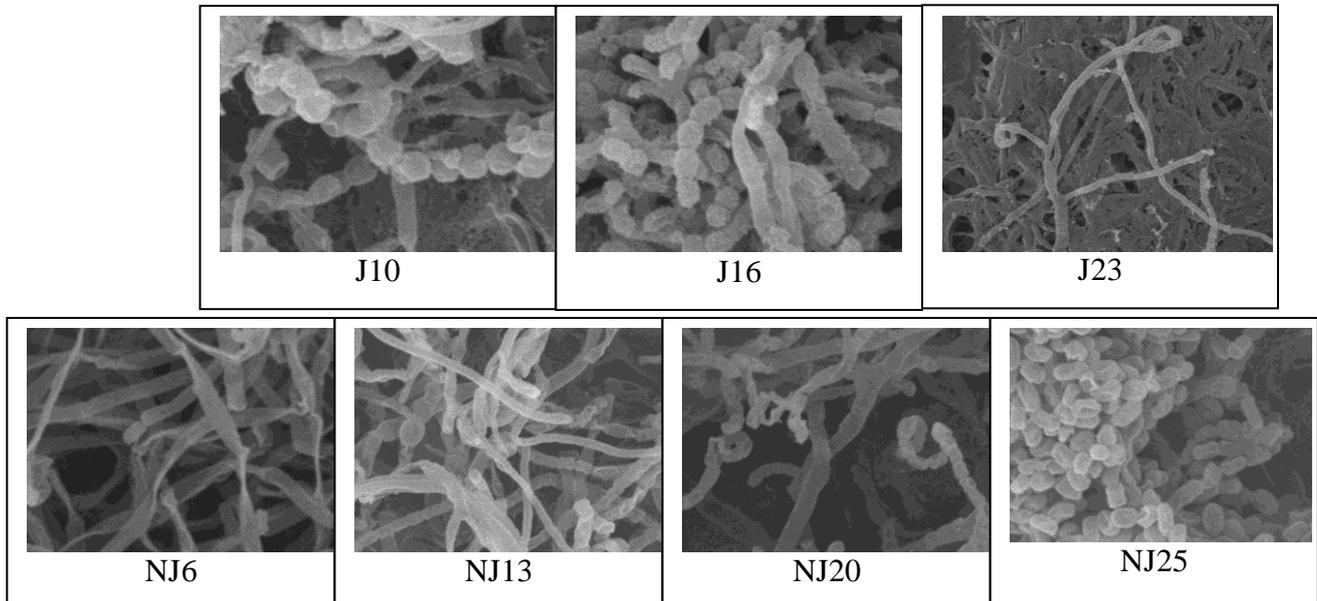
Gambar 2. Hasil *Colour Grouping* Isolat

Keterangan :

- J : dari Rizosfer Jagung
- NJ : dari Non Rizosfer Jagung
- U : Miselium Udara
- V : Miselium Vegetatif

3. Hasil SEM

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



Gambar 3. Hasil SEM Isolat

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya yang mengisolasi dan mengidentifikasi *Streptomyces* dari rizosfer dan non rizosfer jagung. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi tujuh isolat yang telah ditemukan dengan mengamati rantai dan permukaan rantai spora dengan mikroskop elektron (SEM). *Streptomyces* merupakan salah satu anggota dari Actinomycetes disamping Actinoplanes, Micromonospora, Microbispora, Microtetraspora, Nocardia dan Streptosporangium (Nurkanto, 2007).

Actinomycetes sesungguhnya merupakan anggota bakteri, namun morfologinya mirip dengan fungi karena strukturnya yang berupa filament lembut yang disebut hyfa atau mycelia (Rao, 2001). Actinomycetes, terutama *Streptomyces* banyak menarik minat para peneliti karena diindikasikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik terbanyak. Sekitar 70% di antara antibiotik yang

telah ditemukan dihasilkan oleh anggota genus *Streptomyces* (Suwandi, 1993). Sebanyak lebih dari 500 jenis antibiotik telah dihasilkan oleh anggota genus *Streptomyces* dan 60 jenis antibiotik telah diaplikasikan di bidang pengobatan, pertanian dan industri (Madigan *et al.*, 2003). Bahkan saat ini penelitian telah membuktikan bahwa Actinomycetes mampu menghasilkan zat anti kanker. Penelitian Sunaryanto *et al.*, (2010) berhasil menemukan sembilan isolat Actinomycetes yang mampu menghasilkan senyawa aktif citropeptin yang memiliki efek toksik terhadap sel kanker paru-paru A549, isolate tersebut diambil dari sedimen laut dari pelabuhan kamaishi-shi Iwate Jepang

Langkah pertama pada penelitian ini adalah dengan meremajakan kembali tujuh isolat *Streptomyces* yang telah dihasilkan dari penelitian sebelumnya. Ketujuh isolat ditumbuhkan pada media SCA cair, baru dipindahkan ke media SCA agar cawan. Setelah itu dilakukan pewarnaan gram, *colour grouping* dengan media Oatmeal Agar, selanjutnya isolat dikirim ke LIPI untuk diperiksa dengan mikroskop elektron (SEM).

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 gran, *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 2, diketahui bahwa ketujuh isolat yang diperiksa mempunyai ciri batang bercabang, berwarna ungu dan gram positif yang merupakan ciri dari *Streptomyces*. Berdasarkan Tabel 1 dan gambar 3, diketahui pula bahwa ketujuh isolat yang ditumbuhkan pada media Oatmeal Agar mampu menghasilkan warna pada media yang merupakan ciri dari *Streptomyces*.

Berdasarkan gambar 4, diketahui bahwa ketujuh isolat memiliki morfologi dan permukaan rantai spora yang berbeda. Untuk isolat yang berasal dari rizosfer Jagung : 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, 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.

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 : aerobic, 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 isolate yang ditemukan merupakan spesies baru atau spesies yang pernah ditemukan.

D. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa : 1). Berdasarkan hasil pewarnaan gram, ketujuh isolat yang diisolasi dari rizosfer dan non rizosfer Jagung memiliki ciri batang bercabang, warna ungu/biru dan gram positif yang merupakan ciri dari *Streptomyces*. 2). Berdasarkan hasil *Colour Grouping* ketujuh isolat yang diisolasi dari rizosfer dan non rizosfer Jagung mampu menghasilkan warna pada media Oatmeal Agar baik pada miselium udara maupun miselium vegetatif yang merupakan ciri dari *Streptomyces*. Dan 3). Berdasarkan hasil

pemeriksaan dengan mikroskop electron (SEM), ketujuh isolat yang diisolasi dari rizosfer dan non rizosfer Jagung memiliki ciri morfologi spora batang dan bulat, dengan ornament permukaan spora halus dan berkulit yang merupakan ciri dari *Streptomyces*.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan agar penelitian ini dilanjutkan dengan menganalisis isolat secara molekuler sehingga dapat diketahui isolat yang dihasilkan sampai tingkat spesies dan memungkinkan diketemukan spesies baru.

E. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada : 1). Dr. Harun Joko Prayitno, MHum, selaku ketua lembaga penelitian UMS yang telah membiayai pelaksanaan penelitian ini. 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, 2007. Kajian Actinomycetes yang Berpotensi Menghasilkan Antibiotika dari Rhizosfer Putri Malu (*Mimosa pudica* L) dan Kucing Kucingan (*Acalypha Indica* L). *Jurnal Sains & Teknologi*, ISSN : 1411-5174, vol.8.No.1.
- Ambarwati dan Trisnawati, A., G, 2009. Isolasi Actinomycetes dari Tanah Sawah sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Sains & Teknologi*, ISSN 1411-5174, Vol. 10, NO. 2.
- Ambarwati, Retno S., dan Darnoto S., 2009. Uji Aktivitas Isolat Actinomycetes dari Tanah Pekarangan terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Motorik*, ISSN 1907-218X, Vol. 4, No. 8.
- Ambarwati, C.J. Soegihardjo dan Sembiring L., 2010. Isolasi dan Identifikasi Streptomycetes dari Rizosfer Jagung (*Zea mays* L.) yang berpotensi sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Biota* Vo. 15, No. 1,. ISSN 0853-8670. *Terakreditasi Dikti No. 43/DIKTI/Kep/2008*
- Ambarwati, A., Sembiring L., dan C.J. Soegihardjo, 2012. Antibiotic Produced by Streptomycetes Associated with Rhizosphere of Purple Nut Sedge (*Cyperus*

- rotundus* L.) in Surakarta, Indonesia. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6 No. 1, 52-57
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., and Vivanco, J. M. 2006. The Role of Exudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms. *The Annual Review of Plant Biology*, 57 : 233-266.
- Basil, A. J., Strap, J. L., Knotek-Smith, H. M., and Crawford, D. L. 2004. Studies on The Microbial Populations of The Rhizosphere of Big Sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 31 (6) : 278-288
- Bharti A., Kumar V., Gusain O., and Bisht G., S., 2010. Antifungal Activity of Actinomycetes Isolated From Garhwal Region. *Journal of Sci. Engg. & Tech. Mgt.* Vol 2 (2): 3-9.
- Budiyanto, M. A. K. 2004. *Mikrobiologi Terapan*. UMM Press, Malang.
- Djatmiko, H. A., Arwiyanto, T., Hadisutrisno, B., and Sunarminto, B. H. 2007. Potensi Tiga Genus Bakteri dari Rhizosphere Tanaman sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Lincat. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 9 (1) : 40-47.
- Gesheva, V. 2002. Rhizosphere Microflora of Some Citrus as a Source of Antagonistic Actinomycetes. *European Journal of Soil Biology*, 38 (1) : 85-88.
- Hall, V., Collins, M. D., Hutson, R., Inganas, E., Falsen, E. and Duerden, B. I. 2003. *Actinomycetes vaccimaxillae* sp. nov., from the Jaw of a Cow. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53 : 603-606.
- 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 Rhizosphere Bacteria and Actinomycetes. *The Internet Journal of Microbiology*, 3 (2).
- 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* Vo. 57, No. 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* Vo. 56, No. 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.
- Lestari, Y. 2006. Identification of Indigenous *Streptomyces* spp. Producing Antibacterial Compounds. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 11 (2) : 99-101.
- Lo, C. W., Lai, N. S., Cheah, H-Y., Wong, N. K. I. and Ho, C. C. 2002. Actinomycetes Isolated From Soil Samples From The Crocker Range Sabah. *ASEAN review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC)*.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. Tenth Edition. Prentice Hall, USA.
- Nedialkova, D. and Naidenova, M. 2005. Screening the Antimicrobial Activity of *Actinomycetes* Strains Isolated from Antarctica. *Journal of Culture Collections*, 4 : 29-35.
- Nurkanto A., 2007. Identifikasi Actinomycetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan Potensinya sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat. *Jurnal Biodiversitas Vol. 8, No. 4: 314-319*.
- Oskay, M., Tamer, A. U. and Azeri, C. 2004. Antibacterial Activity of some Actinomycetes Isolated from Farming Soil of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 3(9) : 441-446.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., and Klein, D. A. 1999. *Microbiology*. Fourth Edition. WCB McGraw-Hill, Boston.
- Rahayu, T., Maryati, Sembiring, L., dan Soegihardjo, C. J. 2007. Isolasi dan Karakterisasi *Streptomyces* yang Berpotensi Antimikrobia dari Rizosfer Tumbuhan Tingkat Tinggi. *Kumpulan Ringkasan Hasil Penelitian Workshop Pemaparan Hasil Penelitian yang Dibiayai DP2M Dikti Tahun 2007*. UMS, Surakarta.
- Rao, N. S. S. 2001. *Soil Microbiology. Soil Microorganism and Plant Growth*. Fourth Edition. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA
- 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 Soddypodzolic Soil. *Journal of Eurasian Soil Science*, 40 (2) : 158-162
- Sunaryanto, R., Marwoto, B., dan Matsuo, Y., 2010. Isolasi Actinomycetes Laut Penghasil Metabolit Sekunder yang Aktif terhadap Sel kanker A549. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 5 No. 2*,
- Widayati, W. E. 2005. *Bakteri Endofit pada Tanaman Tebu (Solanum officinarum L.) Identifikasi dan Mekanisme Asosiasi*. Disertasi Program Pascasarjana Bioteknologi. UGM, Yogyakarta.
- Yusnizar. 2006. *Screening of Streptomyces sp. Isolated From Black Water Ecosystem and Antagonism Assay to Rhizoctonia solani and Helminthosporium oryza*. Diakses : 21 Desember 2001 <http://www.icbb.org/english/research/research12.htm>
- 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, No. 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, No. 1 : 35-39.