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

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Streptomyces* sp. PADA RHIZOSFER TANAMAN
PISANG (*Musa paradisiaca*) DI DESA PENDEM JEMBRANA BALI**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Streptomyces* sp. ON RHIZOSPHERE PLANT
BANANA (*Musa paradisiaca*) IN PENDEM VILLAGE JEMBRANA REGENCY BALI**

Retno Kawuri

Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi F-MIPA Universitas Udayana
Email: microbiologylaboratory@yahoo.com

INTISARI

Desa Pendem Kecamatan Penden Kabupaten Jembrana adalah merupakan salah satu sentra perkebunan pisang di Bali. Saat ini penyakit layu bakteri meyerang tanaman pisang dengan gejala tanaman layu, terdapat bercak coklat pada pembuluh batang pisang dan buah menjadi busuk dan kering. Pengendalian menggunakan pupuk kimia selain berdampak lingkungan tidak baik juga tidak dapat mengendalikan penyakit layu bakteri. Bakteri *Streptomyces* adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim dan antibiotika yang dapat digunakan sebagai agen biokontrol beberapa penyakit pada tanaman. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *Streptomyces* dari rhizosfer tanaman pisang tanpa gejala di desa Pendem Kabupaten Jembrana. Metoda isolasi *Streptomyces* menggunakan *Plating method*, *Streptomyces* diisolasi dari tanah rhizosfer tanaman pisang tanpa gejala atau sehat., tanah diambil dengan cara digali didekat perakaran tanaman pisang kedalaman 15 cm dari permukaan tanah dan ditanaman pada media Humic Vitamin Agar (HVA) dan Yeast Ekstrak Malt Agar (ISP4) Identifikasi secara makroskopik dan mikroskopik serta uji biokimia menggunakan buku kunci determinasi *Guide to the Classification and Identification of the Actinomycetes and Their antibiotics* dari Lechevalier dan Waksman (1973). Hasil menunjukkan didapatkan 9 isolat *Streptomyces* yaitu *Streptomyces* sp.1, *Streptomyces* sp.2, *Streptomyces* sp.3, *Streptomyces* sp.4, *Streptomyces* sp.5 *Streptomyces* sp.6, *Streptomyces* sp.7, *Streptomyces* sp.8 dan *Streptomyces* sp.9. Sembilan isolat *Streptomyces* sp. tersebut nantinya akan diujikan terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* yaitu bakteri penyebab penyakit layu bakteri.

Kata Kunci: Streptomyces sp., rhizosfer, tanaman pisang, identifikasi

ABSTRACT

Pendem village in Jembrana regency is one of the banana plantation in Bali. Now a days banana plants were attack by bacterial wilt disease with the symptoms of wilting plants, brown spots on the vessel banana stems and fruit to rot and dry. Control of use of chemical fertilizers can cause bad impact on environment and also can not control the disease. Streptomyces bacteria are bacteria that are capable of producing enzymes and antibiotics that can be used as biocontrol agents of several diseases in plants. The purpose of this research is to isolate and identify the bacteria Streptomyces from rhizosphere of banana plants without symptoms in the village Pendem Jembrana regency. The method of isolation of Streptomyces using Plating method, Streptomyces isolated from soil rhizosphere of banana plants without symptoms or health plant. Soil was taken by digging near rooting bananas plant about 15 cm from the ground and the sample was growth on media Humic Vitamin Agar (HVA) and Yeast Extract Malt Agar (ISP4). Identification macroscopically and microscopically and biochemical test using determination key book guide to the Classification and Identification of the Actinomycetes and Their antibiotics of Lechevalier and Waksman (1973). Result showed it was found 9 Streptomyces isolate; *Streptomyces* sp.1, *Streptomyces* sp. 2, *Streptomyces* sp.3, sp.4 *Streptomyces*, *Streptomyces* sp.5 sp.6, *Streptomyces* sp 7, *Streptomyces* sp.8 and *Streptomyces* sp.9. Nine isolates of *Streptomyces* sp. will be tested against the bacteria *Ralstonia solanacearum*, the bacteria that causes bacterial wilt disease.

Keyword: *Streptomyces* sp., rhizosphere, banana plants, identification

PENDAHULUAN

Streptomyces selain hidup pada tanah juga hidup pada sebagian besar rhizozfer beberapa tanaman seperti tanaman cabai, tomat, bawang dan tanaman legume. Keberadaan *Streptomyces* pada rhizosfer tanaman dapat berfungsi untuk menjaga tanaman tersebut dari serangan patogen baik jamur maupun bakteri (Muthahanas, 2004). Tarkka dan Hampp (2008) menyatakan bahwa antibiotik yang dihasilkan oleh genus *Streptomyces* juga dapat memproteksi tanaman dari patogen yang menyerang tumbuhan

Genus *Streptomyces* termasuk ordo Actinomycetes dan famili Streptomycetaceae merupakan bakteri dengan struktur khas karena mampu membentuk hifa atau filamen, sehingga sekilas tampak seperti jamur. Akan tetapi, genus *Streptomyces* memiliki karakter seperti prokariota lainnya karena tidak mempunyai membran pada inti selnya (Prescott *et al.*, 1990).

Dinding selnya mengandung peptidoglikan seperti kebanyakan bakteri dan tidak memiliki mitokondria. Genus *Streptomyces* termasuk ke dalam bakteri Gram positif, bersifat aerobik dan tidak tahan asam, hifanya ramping bersifat coenositik dan tidak berseptum. Genus

Streptomyces termasuk organisme *chemohetero-organotroph* dengan suhu optimal untuk pertumbuhan 25°C serta pH 8-9. Bakteri ini banyak ditemukan pada tanah dan juga pada tanaman sehat diantara tanaman yang terinfeksi patogen (Rao, 1994; Volk dan Wheeler, 1998; Di Salvo, 2002). Beberapa species *Streptomyces* dapat mengkolonisasi rhizosfer perakaran tanaman dan juga jaringan tanaman (endofitik *Streptomyces*) (Conns *et al.*, 2008).

Streptomyces rizosfer dan endofitik *Streptomyces* dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit (Lehr *et al.*, 2008) dan antibiotik yang dihasilkan juga dapat melindungi tanaman dari patogen yang menyerang tumbuhan (Tarkka dan Hampp, 2008).

Pada penelitian sebelumnya (2014), telah ditemukan patogen layu bakteri yang teridentifikasi sebagai *Ralstonia solanacearum* yang menyerang tanaman pisang, Hasil wawancara dengan petani Bpk I Wayan Diandra (Maret 2014) di desa Pendem, penyakit layu bakteri menyerang seluruh tanaman pisang miliknya seluas 2 ha bahkan seluruh tanaman pisang yang dibudidayakan di desa Pendem (total luas 4 ha), kecamatan Jembrana di

kabupaten Jembrana. Gejala penyakit layu bakteri pada tanaman pisang yaitu daun layu, terdapat bercak coklat pada pembuluh batang pisang, buah menjadi busuk dan kering. Penggunaan pestisida kimia saat ini telah dilakukan oleh para petani tetapi penyakit tersebut tidak dapat diberantas. Penelitian ini mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *Streptomyces* sp dari rhizosfer tanaman pisang yang sehat di perkebunan pisang Desa Pendem. Bakteri *Streptomyces* yang ditemukan akan digunakan sebagai agen biokontrol terhadap pathogen *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman pisang.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Identifikasi bakteri *Streptomyces*

Streptomyces diisolasi dari tanah rhizosfer tanaman pisang tanpa gejala atau sehat., tanah diambil dengan cara digali didekat perakaran tanaman pisang kedalaman 15 cm dari permukaan tanah sebanyak 100 g dan dimasukkan kedalam kantong plastik steril. Tanah ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam botol yang telah berisi air steril 90 mL. Sampel dikocok dan dilakukan pengenceran berseri sampai 10^{-7} dan ditanam pada media *Humic Acid Vitamin Agar* (HVA) dan diinkubasi selama 2 minggu pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Koloni yang tumbuh dipindahkan pada media *Yeast Extract Malt Agar* (ISP4/ International Standart Project 4) sampai didapatkan kultur murni. Kultur yang telah murni selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram untuk menentukan apakah termasuk bakteri Gram positif atau negatif. Selanjutnya dilakukan pewarnaan tahan asam

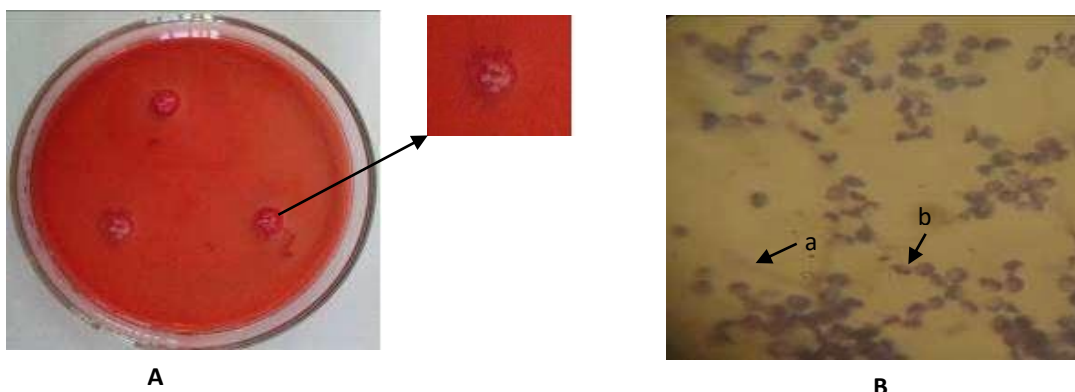
untuk membedakan apakah kultur tersebut termasuk genus *Streptomyces* atau *Nocardia*. Identifikasi secara makroskopik dan mikroskopik serta uji biokimia menggunakan buku kunci determinasi *Guide to the Classification and Identification of the Actinomycetes and Their antibiotics* dari Lechevalier dan Waksman (1973).

HASIL

Jumlah isolat yang berhasil diisolasi dari sampel tanah rhizosfer tanaman pisang sehat adalah sembilan isolat yaitu *Streptomyces* sp1, *Streptomyces* sp2, *Streptomyces* sp3, *Streptomyces* sp4, *Streptomyces* sp5, *Streptomyces* sp6, *Streptomyces* sp7, *Streptomyces* sp8 dan *Streptomyces* sp9. Hasil pewarnaan tahan asam, pewarnaan Gram dan uji katalase seluruh isolat *Streptomyces* adalah termasuk tidak tahan asam (pewarnaan tahan asam negative), Gram positive dan uji katalase positif. Berikut morfologi dan karakteristik baik secara makroskopis maupun mikroskopis 9 isolat *Streptomyces* sp yang berhasil diisolasi.

a. *Streptomyces* sp.1

Koloni berbentuk bulat dengan permukaan tidak rata dan berwarna putih dengan pinggiran berwarna merah dan bergerigi dengan diameter koloni sebesar 1,45 cm pada media YEMA usia 5 hari. Struktur mikroskopis konidia berbentuk oval berantai konidia oval, diameter konidia $0,4-0,9 \mu\text{m}$. Hifa lurus, diameter hifa $10,75 \mu\text{m}$, konidia oval, diameter $0,4-0,9 \mu\text{m}$. Hifa bergelombang dan bercabang dengan diameter $1,0-1,9 \mu\text{m}$ (Gambar 1).

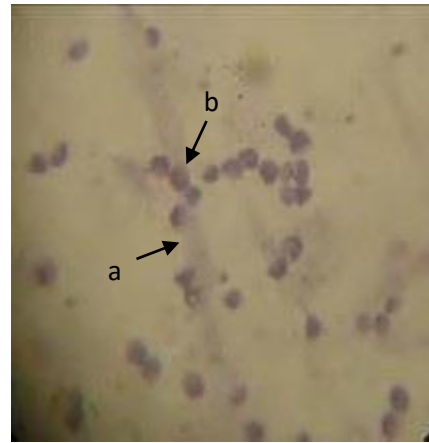
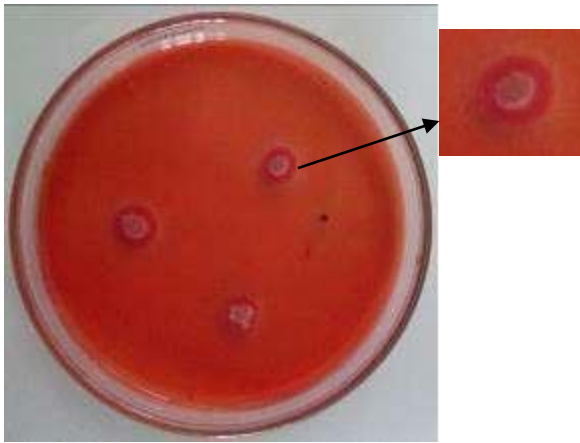


Gambar 1. (A) Koloni *Streptomyces* sp.1. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

b. *Streptomyces* sp.

Koloni berbentuk bulat dengan pinggir bergerigi, permukaan bergurat dan terdapat garis radial serta bertepung dengan diameter koloni sebesar 1,95 cm. Struktur mikroskopis

konidia bulat berantai dengan diameter 1,6-2,3 μm . Hifa lurus dengan diameter 2,0-2,3 μm (Gambar 2).

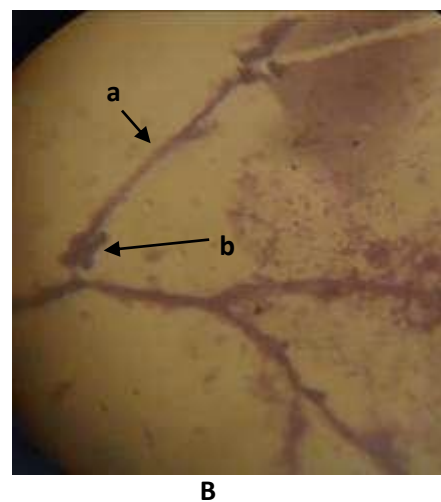
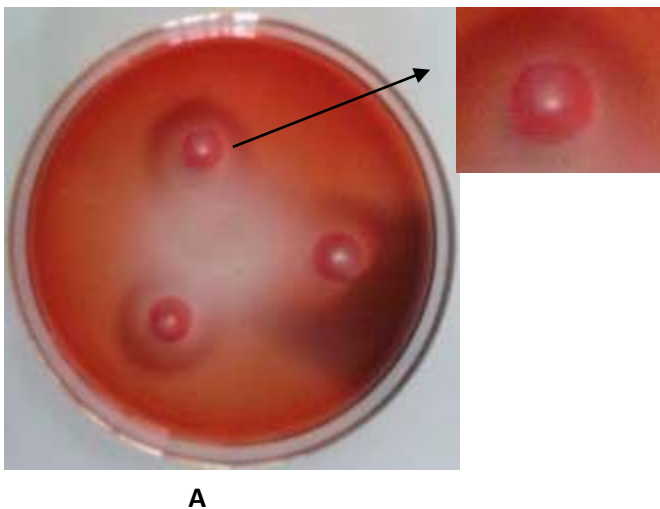


Gambar 2. (A) Koloni *Streptomyces* sp.2. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

c. *Streptomyces* sp.3

Koloni berbentuk bulat bergelombang dengan pinggiran berwarna merah muda, permukaan rata berwarna putih dan bertepung. Dengan diameter koloni sebesar 2 cm. Mampu

merubah warna media disekelilingnya menjadi hitam. Struktur mikroskopis kodia oval bergelombol dengan diameter 0,8-1,1 μm . Hifa bergelombang dan bercabang dengan diameter 2,3-3,0 μm (Gambar 3).

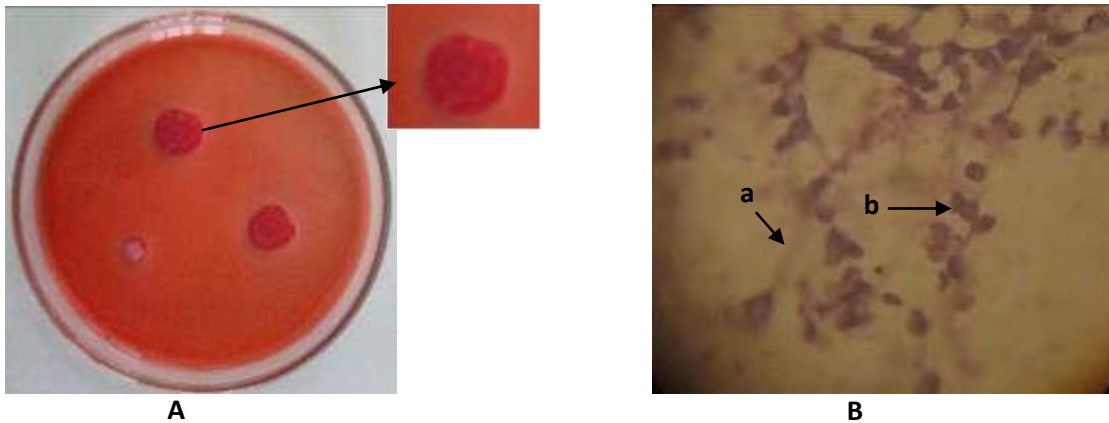


Gambar 3. (A) Koloni *Streptomyces* sp.3. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

d. *Streptomyces* sp.4

Koloni berwarna merah dengan permukaan tidak rata, bertepung dan terdapat garis radial dengan diameter 2.1 cm. Mikroskopis:

konidia bulat, diameter 1,9-2,1 μm , hifa bergelombang, diameter 1,9-2,0 μm (Gambar 4).

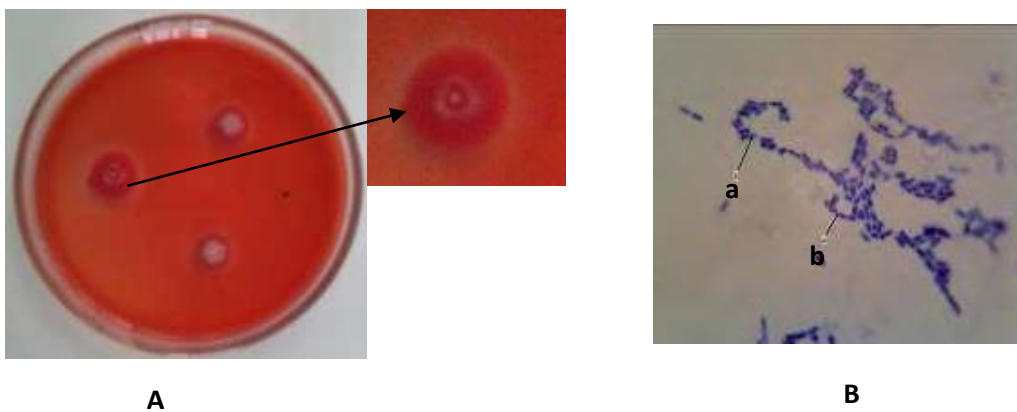


Gambar 4. (A) Koloni *Streptomyces* sp.4. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

e. *Streptomyces* sp.5

Makroskopis : koloni berbentuk kelopak, terdapat garis radial pada permukaan, halus bertepung. Warna koloni merah muda, diameter 2,1.

Mikroskopis: konidia bulat, diameter 1,4-1,7 μm . Hifa bergelombang, diameter 0,4-1,7 μm (Gambar 5).

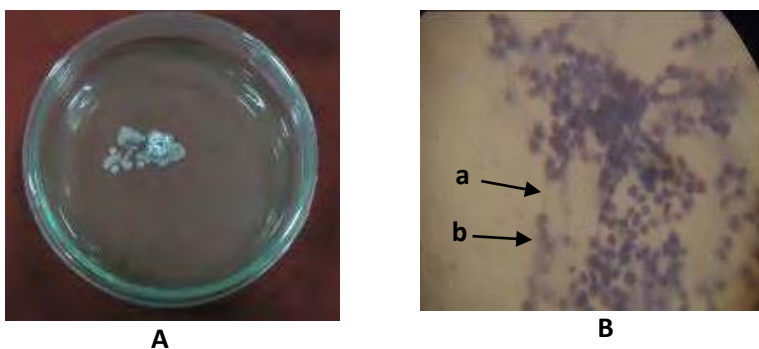


Gambar 5 (A) Koloni *Streptomyces* sp.5. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

f. *Streptomyces* sp.6

Koloni berwarna ungu muda dengan bentuk tidak teratur, permukaan bergelombang dengan diameter 2,3 cm. Mikroskopis: konidia

bulat, membentuk rantai dengan diameter 1,4-1,7 μm . Hifa bergelombang, diameter 1,7-1,9 μm (Gambar 6).

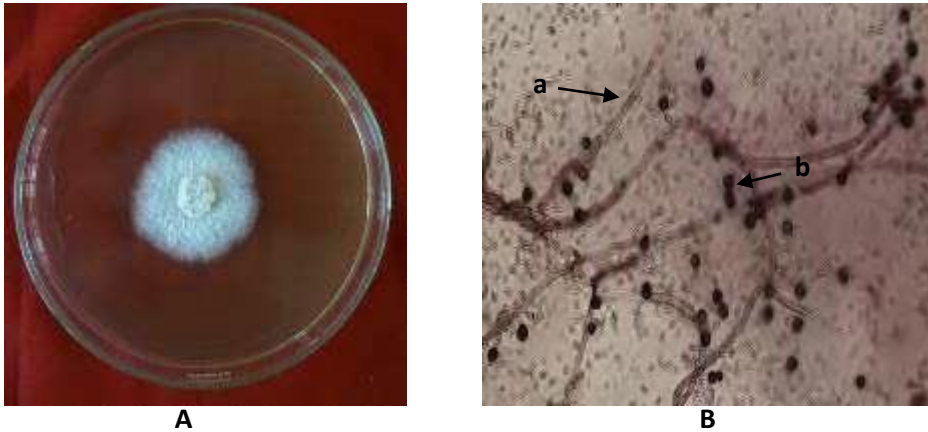


Gambar 6. (A) Koloni *Streptomyces* sp.6, (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

g. *Streptomyces* sp.7

Koloni berwarna putih, permukaan halus rata dan bertepung dengan pinggiran koloni bergerigi, diameter koloni 3 cm. Struktur

mikroskopis konidia oval berantai diameter 1,4-1,9 μm . Hifa bercabang dan bergelombang dengan diameter 2,4-2,7 μm (Gambar 7).

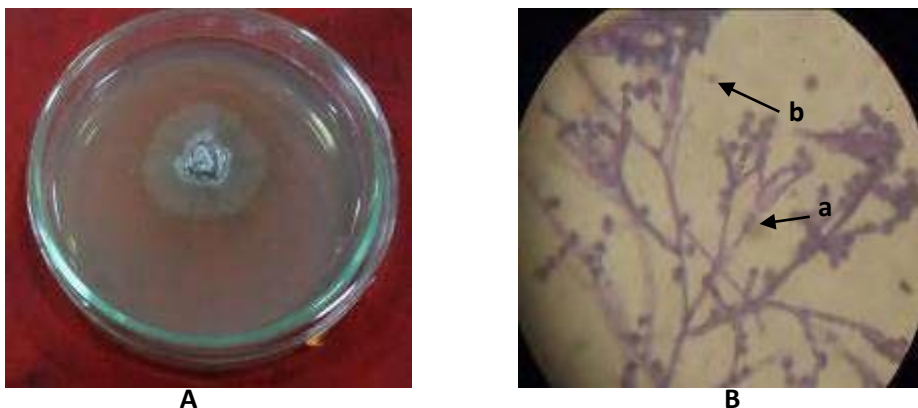


Gambar 7. (A) Koloni *Streptomyces* sp.7. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

h. *Streptomyces* sp.8

Koloni berwarna abu-abu dengan tepi tidak rata, hifa sangat tipis dengan pigmentasi kecoklatan pada media, diameter koloni 2,5 cm. Struktur mikroskopis hifa bercabang dan pada

ujung hifa terdapat konidia berbentuk rantai atau bergerombol. Diameter hifa dan konidia masing-masing sebesar 2,4 -3.0 μm dan 1,5-1,9 μm (Gambar 8).

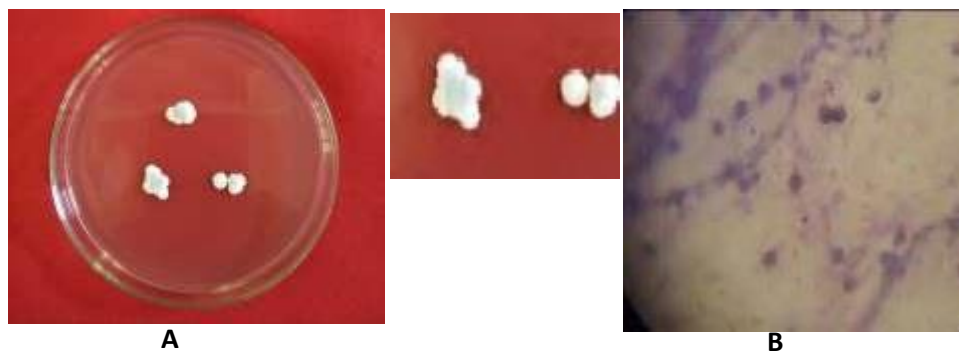


Gambar 8 (A) Koloni *Streptomyces* sp.8. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

i. *Streptomyces* sp.9

Koloni oval dengan pinggiran bergelombang berwarna putih dengan di permukaan bagian tengah berwarna biru muda. Permukaan

bertepung dengan diameter 2 cm. Mikroskopis: konidia oval berbentuk rantai, diameter 1,8-2,1 μm dengan hifa bergelombang diameter 2.0-2,7 μm (Gambar 9).



Gambar 9. (A) Koloni *Streptomyces* sp.9. (B) Struktur mikroskopik a Hifa b. konidia perbesaran 1000x

PEMBAHASAN

Seluruh isolat termasuk Gram positif pada pewarnaan Gram dan pada uji katalase menggunakan zat kimia hydrogen peroksida 3% menunjukkan seluruh isolat positif membentuk gelembung udara. Pada pewarnaan tahan asam seluruh isolat *Streptomyces* tidak tahan asam, Menurut Pelczar *et al.*(2003), menyatakan bahwa apabila dinding sel *Streptomyces* tersusun atas L-ADP maka hasilnya negatif. Holt *et al.* (1994) menambahkan kelompok bakteri Actinomycetes termasuk *Streptomyces* dinding selnya tersusun atas L-ADP dan Glycine. Semua hasil tersebut menandakan bahwa seluruh isolat adalah termasuk genus *Streptomyces* sp. berdasarkan buku identifikasi dari Waksman and Lechavie (1973).

Secara makroskopis, sebagian besar isolat *Streptomyces* memiliki bentuk koloni bulat, tidak teratur dengan warna yang bervariasi. Hal ini menunjukkan adanya keanekaragaman dari genus *Streptomyces*. Menurut Paustian (1999), *Streptomyces* memiliki bentuk dan warna yang bervariasi sehingga sering digunakan untuk keperluan identifikasi. Adanya pola seperti bintang atau pola guratan pada koloni beberapa isolat, menurut Pelczar Jr. *et al.* (2003), merupakan salah satu karakteristik koloni dari genus *Streptomyces*. Berdasarkan deskripsi masing-masing isolat, *Streptomyces* yang tumbuh dapat menyebabkan pigmentasi merah muda, kuning hingga kecoklatan pada media YEME (ISP2).

Minas *et al.* (2001) menyatakan adanya pigmentasi pada media agar oleh *Streptomyces* disebabkan oleh produksi pigmen oleh hifa

aerial vegetatif yang larut dan berdifusi ke dalam media yang digunakan, serta produksi pigmen juga berasal dari spora aerial. Sutedjo dkk. (1991) mengatakan kultur *Streptomyces* akan menghasilkan zat warna yang berbeda-beda dan intensitas yang berbeda juga dimana berkaitan dengan pengaruh kandungan nutrisi pada media.

Adanya serat atau serabut halus yang ditemukan pada sebagian besar isolat di sekitar tepi ataupun yang menjulang ke atas, diperkirakan sebagai hifa yang merupakan struktur khusus *Streptomyces*. Hifa isolat *Streptomyces* dalam hasil penelitian memiliki warna yang beranekaragam dan berbeda satu sama lain yang menunjukkan bahwa isolat tersebut berasal dari spesies yang berbeda.

Menurut Pelczar Jr. *et al.* (2003), serat atau serabut halus ini merupakan tenunan dari miselium aerial yang dibentuk oleh *Streptomyces*. Sutedjo dkk. (1991) menyatakan, pada medium agar *Streptomyces* memiliki koloni dengan miselium yang memanjang ke atas dengan pewarnaan putih, kelabu, merah, kuning, coklat, dan hijau serta miselium yang pendek dengan warna pucat.

Beberapa isolat yang diamati memiliki permukaan koloni seperti bertepung. Menurut Ensign and Barnard (2002), adanya struktur seperti tepung sebenarnya merupakan spora aerial dari *Streptomyces* yang dihasilkan oleh miselium aerial pada saat koloni sudah dewasa..

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, *Streptomyces* membentuk hifa aerial aseptat dengan percabangannya yang kompleks, rantai spora (sporofor) serta hifa dan

spora yang berbentuk kelompok atau merantai. Brock dan Madigan (1988) menyatakan bahwa *Streptomyces* mempunyai karakter yang khas sehingga membedakannya dengan genus *Actinomycetes* lainnya, yaitu membentuk percabangan hifa yang kompleks, hifa tidak memiliki sekat (aseptat), dan hifa aerialnya membentuk sporofor atau rantai spora aerial yang menghasilkan spora untuk reproduksi aseksual. Hasil pengamatan berupa spora berbentuk rantai, juga sesuai dengan Sutedjo dkk. (1991) yang menyebutkan bahwa, salah satu ciri dari genus *Streptomyces*, adalah spora aerial yang berkumpul membentuk suatu rantai spora yang panjang yang tersusun bergelung.

Keanekaragaman *Streptomyces* yang ditemukan berkaitan dengan kondisi lingkungan. Rizosfer merupakan daerah pertemuan antara akar dan tanah. Populasi bakteri, jamur, virus dan *Actinomycetes* lebih banyak terdapat dalam tanah yang termasuk rizosfer daripada tanah non rizosfer. Pertumbuhannya diaktivasi oleh bahan nutrisi yang dilepaskan jaringan tanaman, misalnya asam amino, vitamin dan zat hara lainnya. Populasi mikroorganisme dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu jumlah dan macam hara, kelembaban, tingkat aerasi, suhu, pH dan pemupukan. Pertumbuhan mikroorganisme pada pH optimal antara 6,5-8,0 dan pada suhu optimal antara 25-30°C (Rao, 1994).

Seluruh isolat *Streptomyces* yang ditemukan pada rizosfer tanaman pisang yang sehat nantinya akan dipergunakan sebagai bakteri antagonis melawan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri di perkebunan pisang Desa Pendem Kabupaten Jembrana Bali.

KESIMPULAN

Ditemukan sembilan *Streptomyces* yaitu *Streptomyces* sp.1, *Streptomyces* sp.2, *Streptomyces* sp.3, *Streptomyces* sp.4, *Streptomyces* sp.5, *Streptomyces* sp.6, *Streptomyces* sp.7, *Streptomyces* sp.8 dan *Streptomyces* sp.9 pada Rizosfer tanaman pisang yang sehat di Desa Pendem Kabupaten Jembrana

DAFTAR PUSTAKA

- Conn, V.M., A.R. Walker and C.M. Franco. 2008. Endophytic actinobacteria induce defence pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant- Microbe Interactions* 21:208-218.
- Di Salvo. A. 2002. *Actinomycetes*. [Cited on 10 Des.2010]. Available from: <http://www.mirror.internux.co.id/med.sc.edu.85/mycology/micology-2.htm>.
- Ensign, J. and B. Barnard. 2002. Isolation of Antibiotic-Producing Organism From Soil. Available at: http://www.access Excellence.org/AE/AEC/AEF/1995/goudie_isolation.html.
- Holt, J.G., N.P. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. New York.
- Lechevalier, H.A. and S.A. Waksman. 1973. *Guide to the Classification and Identification of the Actinomycetes and their Antibiotics*. Waverly Press Inc. USA
- Lehr, N. A., S.D. Schrey, R. Hamp and M.T. Tarkka. 2008. Root inoculation with a forest Soil *Streptomyces* leads to locally and systemically increase resistance Against phytopathogen in Norway spruce. *New Phytology* 177:965-976.
- Minas, W., J.E. Bailey and W. Duetz. 2001. *Streptomyces* in micro-cultures: Growth, production of secondary metabolites, and storage and retrieval in the 96-well format. Kluwer Academic Publishers. Zurich.
- Muthahanas, I. 2004. Potensi *Streptomyces* sp. sebagai agen pengendali biologi *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu pada tanaman cabai. (tesis) Institut Pertanian Bogor
- Paustian, T. 1999. Microbiology and Bacteriology. The World of Microbes *Streptomyces*. <http://www.bact.wisc.edu/Microtextbook/index.php>.
- Pelczar, J. R., M.J. Chan and N.R. Krieg. 2003. *Microbiology Concepts and Applications*. McGraw-Hill Higher Education. New York.

- Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein. 1990. *Microbiology*. WMC Brown Publisher. New York. P.466-478
- Prescott, L.M., J.P. Harley, and D.A. Klein. 1990. *Microbiology*. WMC Brown Publisher. New York. P.466-478.
- Rao, N.S.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. UI-Press. Jakarta
- Sutedjo, M., A.G.Kartasapoetra, dan S. Sastroatmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta.
- Tarkka, M.T. and R. Hampp. 2008. Secondary metabolites of soil *Streptomyces* in biotic interactions. Editor Karlovski, P. *Secondary Metabolites in Soil Ecology*. Soil Biology Series. Springer Berlin. p.107-118.
- Volk, W.A. and M.F. Wheeler. 1998. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid I. Edisi Kelima. Editor : Soenartono, A. Erlangga. Jakarta.