

Aktivitas Antifungi Isolat Streptomyces yang Diisolasi dari Rizosfer Rumput Belulang (*Eleusine indica*)

(Antifungal Activity of Streptomyces Isolate Associated with The Rhizosphere of Belulang Grass (*Eleusine indica*))

AMBARWATI^{1,2*}, TANTI AZIZAH SUJONO³, LANGKAH SEMBIRING⁴,
SUBAGUS WAHYUONO⁵

¹Prodi Kesehatan Masyarakat, FIK, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

²Program Doktor Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

³Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

⁴Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

⁵Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta.

Diterima 20 September 2014, Disetujui 16 Maret 2015

Abstrak: Munculnya penyakit-penyakit infeksi serta adanya sifat resistensi mikroba terhadap antibiotik yang telah ada, telah mendorong penelitian untuk menemukan antibiotik baru dari bakteri, fungi dan Actinomycetes. Saat ini, kelas Actinomycetes menjadi fokus para peneliti karena salah satu anggotanya, yaitu Streptomyces dipromosikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan zat antimikrob terbesar. Sebanyak 45,6% dari 8.000 antimikrob dihasilkan oleh Streptomyces. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi Streptomyces yang berasosiasi dengan rizosfer rumput belulang (*Eleusine indica*) yang berpotensi sebagai penghasil zat antifungi. Jenis penelitian ini adalah eksplorasi dengan pemeriksaan laboratorium. Berdasarkan hasil penelitian ditemukan sebanyak 33 isolat dari rizosfer rumput belulang dan 17 isolat di antaranya berpotensi sebagai penghasil zat antifungi. Delapan isolat hanya mampu menghambat pertumbuhan salah satu fungi uji, 7 isolat mampu menghambat 2 macam fungi uji dan satu isolat, yaitu RRR67 mampu menghambat pertumbuhan ketiga fungi uji, yaitu *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus* dan *Candida albicans*. Berdasarkan hasil pemeriksaan dengan mikroskop elektron (SEM) diketahui morfologi spora dan ornamen permukaan rantai spora isolat RRR67 termasuk anggota genus Streptomyces. Penelitian ini menyimpulkan bahwa 17 isolat dari rizosfer rumput belulang (*Eleusine indica*) berpotensi menghasilkan zat antifungi yang diperlukan untuk pengobatan penyakit-penyakit infeksi.

Kata Kunci : Streptomyces, zat antifungi, rizosfer, rumput belulang.

Abstract: The appearing of various new infection diseases and resistantly pathogenic microorganism to old antibiotic, have motivated another antibiotic discovery from bacteria, fungus and Actinomycetes. Nowadays, some researchers are being focused on Actinomycetes, that is indicated as the bacteria which produces the biggest number of antibiotics. About 45,6% of 8.000 antimicrobia were produced by Streptomyces. The aims of this research were to isolate and identify of Streptomyces from rhizosphere of belulang grass (*Eleusine indica*) that potentially as antibiotic producer. This research was exploration research. From this research, 33 isolates from rhizosphere of belulang grass (*Eleusine indica*) were found, 17 isolates potentially as antifungal producer. Eight isolates could inhibit only one of test fungal, seven isolates could impede the growth of two test fungal and one isolate (RRR67) could inhibit the growth of three test fungal, namely *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. Based on SEM result, it could be known that the spore morphology and the ornament of the spore chain surface, one isolate (RRR67) was identified as Streptomyces. From the research, it could be concluded that 17 isolates from the rhizosphere of belulang grass (*Eleusine indica*) potentially produce

* Penulis korespondensi, Hp. 08122596001
e-mail: ambarwati@ums.ac.id

antifungal which is need for infection medicine treatment.

Key words: Streptomyces, antifungal, rhizosphere, belulang grass (*Eleusine indica*).

PENDAHULUAN

INDONESIA menempati urutan tinggi dalam hal penyakit infeksi. Di sisi lain, banyak mikroorganisme penyebab infeksi yang telah resisten terhadap antibiotik yang ada. Hal ini mendorong peneliti untuk menemukan antibiotik baru dari bakteri⁽¹⁾, fungi^(2,3) dan Actinomycetes^(4,5,6). Saat ini, Actinomycetes, terutama Streptomyces menjadi kajian utama para peneliti, karena bakteri ini dipromosikan sebagai mikroorganisme penghasil antimikrob terbesar. Berdasarkan data dari ALD (*Antibiotic Literature Database*), Italia, diketahui bahwa di antara 8.000 antimikrob, 45,6% dihasilkan oleh anggota genus Streptomyces dan hanya 21,5% yang dihasilkan oleh jamur, 16,9% dari bakteri dan 16% dari anggota Actinomycetes lain⁽⁷⁾. Penelitian lain membuktikan bahwa 50% isolat Actinomycetes yang menghasilkan zat antifungi termasuk anggota genus Streptomyces⁽⁸⁾.

Dari 287 isolat Actinomycetes yang diisolasi dari 79 sampel tanah yang diambil dari 5 tempat yang berbeda, diketahui bahwa sebanyak 166 isolat mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (*C. albicans*), 164 isolat menghambat *Aspergillus niger* (*A. niger*) dan 132 isolat menghambat *Trichophyton mentagrophytes* (*T. mentagrophytes*)⁽⁹⁾. Penelitian lain berhasil menemukan 122 isolat Actinomycetes dari rizosfer *Artemisia tridentata* dan diujikan pada 9 fungi uji, 4 isolat, yaitu *Streptomyces amakusaensis*, *S. coeruleorubidis*, *S. hawaiiensis* dan *S. scabies* dapat menghambat paling sedikit 3 fungi uji⁽¹⁰⁾.

Penelitian yang dilakukan di India berhasil mendapatkan 316 isolat Actinomycetes dari 69 sampel tanah di Garhwal. Sebanyak 98 isolat mampu menghasilkan zat antifungi, 19 isolat mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*, 25 isolat mampu menghambat *A. fumigatus* dan 7 isolat mampu menghambat keenam fungi uji⁽¹¹⁾. Penelitian lain telah membuktikan bahwa Actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer tanaman kacang-kacangan di Kalimantan Selatan dapat menghambat jamur *R. solani* dan *S. rolfisii* yang merupakan jamur tular tanah pada kedelai⁽¹²⁾.

Rumput belulang (*Eleusine indica*) termasuk tumbuhan liar yang sering tumbuh di pekarangan atau di lapangan. Tumbuhan ini tidak banyak diperhatikan bahkan sering dianggap gulma atau tumbuhan pengganggu. Penelitian yang telah penulis lakukan sebelumnya berhasil menemukan 12 isolat Streptomyces yang diisolasi dari rizosfer dan non

rizosfer rumput teki yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik. Diketahui pula ada dua isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* FNCC 0060 dengan kuat, yaitu isolat SNR19 dengan diameter daerah hambatan sebesar 31,33 mm dan isolat RNR25 sebesar 33,33 mm. Berdasarkan hasil pemeriksaan morfologi rantai spora dengan mikroskop elektron (SEM), isolat SNR19 diindikasikan sebagai *Streptomyces albovinaceus*⁽¹³⁾.

Sejauh ini, belum pernah dilakukan isolasi Actinomycetes dari rizosfer rumput belulang. Untuk mengetahui keanekaragaman Actinomycetes yang berasosiasi dengan perakaran rumput belulang perlu dilakukan penelitian, sedangkan untuk mengetahui kemampuannya sebagai penghasil zat antifungi dapat diujikan pada jamur uji. Pada penelitian ini digunakan *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* dan *Aspergillus fumigatus* sebagai fungi uji.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi Streptomyces dari rizosfer rumput belulang (*Eleusine indica*), mengidentifikasi isolat yang diperoleh dan menguji kemampuan isolat sebagai penghasil zat antifungi.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sampel tanah, media isolasi (*Starch-Casein Agar* (SCA) dan *Raffinosa-Histidin Agar* (RHA). Media untuk purifikasi SCA, media untuk *colour grouping*: *Oatmeal Agar* dan pewarna Gram A, B, C, D dan air suling steril.

Sampel Tanah. Sampel diambil dari 5 lokasi rizosfer rumput belulang. Dicatat tanggal pengambilan, lokasi pengambilan, pH dan kelembaban tanah. Sampel tanah diletakkan dalam cawan petri dan dibiarkan di udara terbuka selama 4 hari⁽¹⁴⁾. Pengukuran faktor fisika dan kimia meliputi berat kering, kelembaban dan pH sampel tanah.

Isolasi Selektif Anggota Genus Streptomyces. Diambil 1 g sampel tanah dan diencerkan dengan 9 mL air suling steril (pengenceran 10⁻¹). Dari pengenceran 10⁻¹ diambil 1 mL dan diencerkan dengan air suling sebanyak 9 mL (pengenceran 10⁻²), dan seterusnya dengan cara yang sama sampai diperoleh pengenceran 10⁻⁵. Dari tingkat pengenceran 10⁻³ sampai 10⁻⁵, diambil 1 ml sampel dan diinokulasikan secara *pour plate* pada media SCA dan media RHA. Tiap pengenceran dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. Media yang telah diinokulasi diinkubasikan pada suhu 25 °C selama 4 hari sampai 2 minggu⁽¹⁵⁾.

Purifikasi Isolat Anggota Genus *Streptomyces*.

Koloni yang tumbuh pada media isolasi, baik pada SCA maupun RHA diamati. Setiap koloni yang memiliki kenampakan berbeda diisolasi pada media SCA sampai diperoleh isolat murni. Isolat yang sudah murni diidentifikasi berdasarkan keadaan koloni dan pewarnaan Gram. *Colour grouping* dilakukan untuk mengidentifikasi isolat berdasarkan warna miselium udara, miselium vegetatif dan warna yang terdifusi ke media. *Colour grouping* dilakukan pada media *oatmeal agar*. Metode pengecatan Gram yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada prosedur⁽¹⁶⁾. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan morfologi sel yang khas yaitu, batang bercabang. Untuk mengetahui morfologi rantai spora dari isolat yang representatif, dilihat dengan mikroskop cahaya dan mikroskop elektron (SEM).

Pengujian Aktivitas Antifungi. Isolat-isolat yang telah dipurifikasi diuji cobakan pada fungi uji, yaitu *C. albicans* sebagai wakil khamir dan *Trichophyton mentagrophytes* serta *Aspergillus fumigatus* sebagai wakil kapang. Metode yang digunakan adalah agar blok dengan diameter agar blok 6 mm. Analisis hasil dilakukan secara deskriptif untuk menggambarkan jumlah *Streptomyces* yang berasosiasi dengan perakaran rumput belulang (*Eleusine indica*) serta potensinya sebagai penghasil zat antifungi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengukuran Faktor Fisika-Kimia Tanah.

Data berat kering, kelembaban dan pH sampel tanah dari rizosfer rumput belulang disajikan pada Tabel 1. Kelembaban maupun pH sampel tanah merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan anggota genus *Streptomyces*. Berat kering tanah menunjukkan tingkat kering atau basah tanah. Baik berat kering, kelembaban maupun pH mempengaruhi jumlah anggota genus *Streptomyces* yang dapat ditemukan, karena anggota genus *Streptomyces* lebih menyukai tempat yang kering daripada yang basah⁽²³⁾. Anggota genus *Streptomyces* lebih menyukai tempat yang kandungan airnya rendah (kelembaban

Tabel 1. Hasil pengukuran faktor fisika dan kimia sampel tanah yang digunakan untuk isolasi *Streptomyces*.

Rizosfer rumput belulang	Hasil pengukuran		
	Berat kering (g)	Kelembaban (%)	pH
Ulangan I	0,97	1,07	7,43
Ulangan II	0,97	1,05	7,97
Ulangan III	0,73	1,07	7,96
Rata-rata	0,89	1,063	7,79

rendah). Hal ini berbeda dengan kebanyakan bakteri lainnya yang menyukai tempat dengan kelembaban tinggi. *Streptomyces* lebih menyukai tempat dengan pH netral dan cenderung basa daripada tempat yang asam. Oleh karena itu, pada pembuatan media untuk menumbuhkan anggota genus *Streptomyces*, media dibuat dalam kondisi netral (pH 7).

Berdasarkan penelitian lain yang mengisolasi *Streptomyces* dari rizosfer rumput teki, didapatkan hasil berat kering sebesar 6,70 g, kelembaban 0,16% dan pH sebesar 6,93⁽²⁴⁾. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian ini maka dari segi berat keringnya, jauh lebih besar berat kering sampel tanah dari rizosfer rumput teki, namun dari segi kelembabannya, lebih lembab sampel tanah dari rizosfer rumput belulang. Dari segi pH, sampel dari rizosfer rumput teki cenderung asam dibandingkan sampel tanah dari rizosfer rumput belulang.

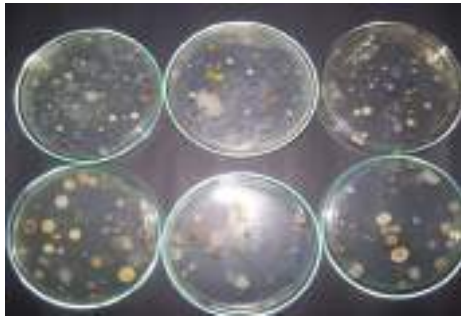
Hasil Isolasi. Dua media selektif, yaitu SCA dan RHA digunakan untuk menumbuhkan anggota genus *Streptomyces* pada penelitian ini. SCA dan RHA juga digunakan pada penelitian lain untuk mengisolasi anggota genus *Streptomyces* dari rizosfer tanaman jagung dan rumput teki^(13,17). Selain itu, SCA juga digunakan untuk mengisolasi *Actinomycetes* endofit dari akar dan daun jagung⁽¹⁸⁾.

Mikroorganisme, termasuk anggota genus *Streptomyces*, dapat menggunakan *raffinosa*, *starch* dan *casein* sebagai sumber karbon⁽¹⁹⁾. Selain penggunaan media selektif, juga ditambahkan antifungal *cyclohexamide* atau nistatin. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari terjadinya kerancuan karena meskipun *Streptomyces* merupakan bakteri, namun memiliki miselium sehingga secara morfologi mirip jamur^(14, 18, 20). Penambahan *cyclohexamine* dan paduan *cyclohexamide* dan nistatin, juga dilakukan pada penelitian lain yang sejenis^(10, 21, 22). Pada penelitian ini, antifungi yang ditambahkan adalah nistatin. Suspensi sampel tanah juga dipanaskan dulu pada suhu 50 °C selama 10 menit untuk mencegah pertumbuhan bakteri lain⁽¹⁴⁾. Purifikasi juga dilakukan pada media SCA.

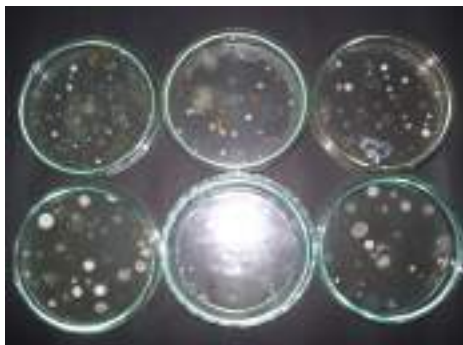
Hasil isolasi *Streptomyces* dari sampel tanah rizosfer rumput belulang disajikan pada Tabel 2. Foto hasil isolasi pada media SCA disajikan pada Gambar 1, sedangkan pada media RHA disajikan pada Gambar 2.

Tabel 2. Densitas *Streptomyces* pada sampel tanah rizosfer rumput belulang.

Lokasi sampel	Densitas <i>Streptomyces</i> (koloni/g)	
	SCA	RHA
Rizosfer rumput belulang	4,99 x 10 ⁶	4,74 x 10 ⁶



Gambar 1. Hasil isolasi Streptomyces pada media Starch Casein Agar (SCA).



Gambar 2. Hasil isolasi Streptomyces pada media Raffinose Histidin Agar (RHA).

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa densitas anggota genus *Streptomyces* per gram sampel tanah rizosfer rumput belulang pada media SCA lebih banyak daripada densitas anggota genus *Streptomyces* pada medium RHA. Hal ini disebabkan media RHA

lebih selektif daripada media SCA. Pada media RHA, *Streptomyces albidoflavus* yang banyak terdapat di tanah dapat ditekan pertumbuhannya.

Bila dilihat dari densitasnya jumlah koloni pada rizosfer rumput belulang lebih banyak daripada densitas pada rizosfer rumput teki, baik pada media SCA ($4,99 \times 10^6 > 1,58 \times 10^5$) maupun media RHA ($4,74 \times 10^6 > 1,07 \times 10^5$).

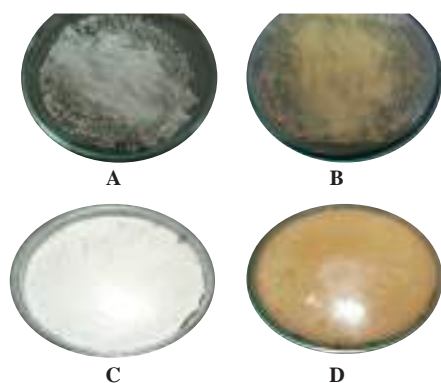
Hasil Purifikasi. Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi didapatkan sebanyak 33 isolat yang memenuhi ciri-ciri sebagai anggota genus *Streptomyces*, yaitu keadaan koloninya yang kering, kecil dengan diameter 1-10 mm, terpisah-pisah seperti liken, seperti kulit atau butiran, mula-mula permukaannya halus tetapi kemudian membentuk tenunan aerial miselium yang tampak seperti butiran, bubuk, atau beludru.

Hasil Colour Grouping. Berdasarkan hasil *colour grouping* (Tabel 3 dan Gambar 3), diketahui bahwa dari 33 isolat dapat digolongkan menjadi 22 grup, dengan perincian 4 grup terdiri dari banyak anggota (*multi membered*) dan 18 grup hanya terdiri dari satu anggota (*single membered*). Berdasarkan hasil *colour grouping*, dapat diketahui bahwa 33 isolat yang diperoleh termasuk anggota genus *Streptomyces* karena bisa menghasilkan warna, baik pada miselium udara maupun miselium vegetatif pada media *oatmeal agar*.

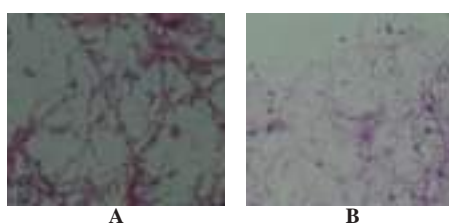
Hasil Pewarnaan Gram. Foto hasil pewarnaan Gram *Streptomyces* dari sampel tanah rizosfer rumput belulang disajikan pada Gambar 4.

Tabel 3. Hasil *colour grouping* *Streptomyces* dari rizosfer rumput belulang.

Grup	Warna miselium udara	Warna miselium vegetatif	Warna pigmen yang terdifusi	Jumlah isolat	Anggota representatif
1	Putih	Krem	Kuning	1	RRR 2
2	Abu-abu	Putih	Putih	1	RRR 4
3	Abu-abu	Kuning-muda	-	1	RRR 5
4	Kuning	Kuning-muda	-	1	RRR 6
5	Putih	Krem	-	2	RRR7, RRR28
6	Abu-abu	Hijau -keabuan	-	1	RRR 8
7	Putih	Kuning kecoklatan	Kuning	8	RRR 9, RRR 22, RRR 32, RRR 57, RRR 64, RRR 66, RRR 67, RRR68,
8	Putih	Putih	Putih	1	RRR12
9	Putih	Krem	Kuning-muda	3	RRR14, RRR20, RRR34
10	Putih	Kuning-muda	Kuning-hijau	1	RRR17
11	Putih	Putih	Kuning-muda	1	RRR 18
12	Putih	Kuning- muda	Kuning	1	RRR19
13	Coklat muda	Coklat muda	Coklat-kemerahan	1	RRR 24
14	Putih	Kuning-muda	Kuning-muda	1	RRR 26
15	Abu-abu	Abu-abu tua	-	1	RRR55
16	Abu-abu	Hijau -keabuan	Hijau	1	RRR 56
17	Putih	Kuning- muda	-	1	RRR 58
18	Putih	Abu-abu tua	Abu-abu	1	RRR60
19	Putih	Hijau-kekuningan	-	2	RRR 62, RRR 63,
20	Putih	Putih-kekuningan	Kuning	1	RRS 69
21	Abu-abu	Abu-abu	-	1	RRS 70
22	Abu-abu	Ungu- muda	-	1	RRS 71



Gambar 3. Foto hasil colour grouping *Streptomyces*. A: miselium udara isolat RRR57; B: miselium vegetatif isolat RRR57; C: miselium udara isolat RRR67; D: miselium vegetatif isolat RRR67.



Gambar 4. Foto hasil pewarnaan gram isolat *Streptomyces* dengan ciri khas morfologi batang bercabang, Gram positif dan berwarna ungu. A: isolat RRR57; B: isolat RRR67.

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat yang ditemukan termasuk anggota genus *Streptomyces*, dengan morfologi sel berbentuk batang bercabang, berwarna ungu dan termasuk Gram positif.

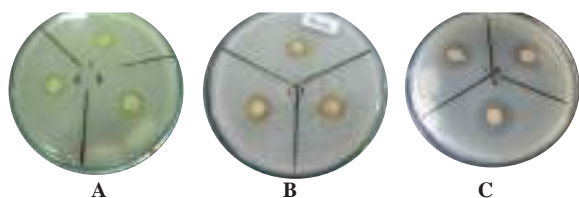
Hasil Uji Antibiotik. Pada penelitian ini digunakan fungi uji yaitu *C. albicans* sebagai wakil khamir dan *Trichophyton mentagrophytes* serta *Aspergillus fumigatus* sebagai wakil kapang. *C. albicans* merupakan salah satu contoh fungi dari kelas Ascomycetes. *Candida* sesungguhnya merupakan mikrobiota normal tubuh, namun demikian anggota khamir ini dapat menyebabkan penyakit oportunistik, artinya jika sistem imun inang menurun maka *Candida* dapat menyebabkan candidiasis⁽²⁵⁾. *Candidiasis* merupakan penyakit pada selaput lendir mulut, vagina dan saluran pencernaan. Infeksi yang lebih gawat dapat menyerang jantung, darah dan otak. *Candida* dapat hidup sebagai saprofit pada selaput lendir dan pada kebanyakan orang tanpa menyebabkan penyakit. Tetapi apabila inangnya lemah karena suatu penyakit atau karena bakteri saingannya tertekan karena adanya pengobatan dengan antibiotik, maka *Candida* dapat menimbulkan penyakit⁽²⁶⁾.

Tabel 4. Hasil uji antifungi isolat *Streptomyces* dari rizosfer rumput belulang.

Grup ke-	Kode isolat	Diameter daerah hambatan (mm) yang dihasilkan oleh isolat terhadap fungi uji		
		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>
1	RRR 2	-	12	-
2	RRR 4	-	-	-
3	RRR 5	-	-	-
4	RRR 6	-	-	-
5	RRR 7	-	-	-
6	RRR 8	-	22	-
7	RRR 9	-	15	11
8	RRR 12	-	-	-
9	RRR 14	-	-	-
10	RRR 17	-	-	-
11	RRR 18	-	-	-
12	RRR 19	-	-	-
13	RRR 20	-	10	13
14	RRR 22	-	13	12
15	RRR 24	17	19	-
16	RRR 26	-	-	11
17	RRR 28	-	-	-
18	RRR 32	-	15	19
19	RRR 34	-	-	14
20	RRR 55	-	20	25
21	RRR 56	-	-	-
22	RRR 57	25	-	-
23	RRR 58	-	-	-
24	RRR 60	-	-	-
25	RRR 62	-	-	-
26	RRR 63	21	15	-
27	RRR 64	-	12	-
28	RRR 66	-	18	-
29	RRR 67	21	14	13
30	RRR 68	22	-	-
31	RRR 69	-	-	-
32	RRR 70	-	-	-
33	RRR 71	-	-	-

Trichophyton mentagrophytes merupakan salah satu fungi anggota kelas Deuteromycetes. *Trichophyton* merupakan anggota kapang yang sering menimbulkan penyakit *tinea capitis* atau kurap di kulit kepala dan *tinea pedis* atau infeksi pada jaringan antara jari-jari⁽²⁵⁾. *T. mentagrophytes* juga merupakan parasit pada rambut yang menyebabkan kadas di berbagai bagian tubuh, menginfeksi rambut dan kulit kepala⁽²⁶⁾. *Aspergillus fumigatus* merupakan kapang anggota dari kelas Deuteromycetes. Kapang jenis ini patogen terhadap manusia dan dapat menyebabkan aspergilosis. Salah satu bentuk aspergilosis adalah aspergiloma atau mycetoma, yang merupakan manifestasi dari pertumbuhan jamur pada daerah yang kekurangan aliran darah di paru-paru⁽²⁵⁾.

Hasil uji antibiotik *Streptomyces* dari sampel tanah rizosfer rumput belulang disajikan pada Tabel 4. Foto hasil uji antibiotik terhadap fungi uji disajikan pada Gambar 5 dan 6.



Gambar 5. Foto hasil uji antifungi isolat *Streptomyces* (metode agar blok, diameter agar blok 6 mm). A: penghambatan isolat RRR76 terhadap *Candida albicans*; B: penghambatan isolat RRR76 terhadap *Aspergillus fumigatus*; C: penghambatan isolat RRR76 terhadap *Trichophyton mentagrophytes*.



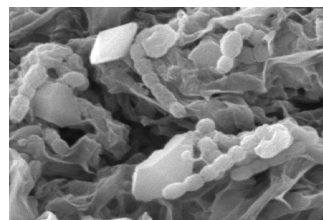
Gambar 6. Foto hasil uji antifungi isolat *Streptomyces* (penghambatan isolat RRR57 terhadap *Trichophyton mentagrophytes*, metode agar blok, diameter agar blok 6 mm).

Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa di antara 33 isolat yang diperoleh dari rizosfer rumput belulang, 17 isolat mampu menghasilkan zat antifungi. Delapan isolat hanya mampu menghambat pertumbuhan salah satu fungi uji dengan diameter daerah hambatan berkisar antara 11-25 mm, 7 isolat mampu menghambat 2 macam fungi uji (10-25 mm) dan satu isolat, yaitu RRR67 mampu menghambat pertumbuhan ketiga fungi uji, yaitu *Trichophyton mentagrophytes* (diameter daerah hambatan 21 mm), *Aspergillus fumigatus* (14 mm) dan *Candida albicans* (13 mm). Selain itu didapatkan satu isolat yang mampu menghambat *T. mentagrophytes* dengan diameter daerah hambatan 25 mm, yaitu

RRR57. Tingkat penghambatan dapat ditentukan berdasarkan luasnya daerah hambatan. Jika diameter daerah hambatan sebesar 7-15 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, 16-25 mm dikategorikan sedang dan lebih besar dari 25 mm dikategorikan kuat⁽⁵⁾. Jika dikategorikan, maka dari 17 isolat dari rizosfer rumput belulang yang mampu menghasilkan zat antifungi, sebanyak 5 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *T. mentagrophytes* termasuk kategori sedang. Sebanyak 12 isolat yang mampu menghambat *A. fumigatus*, dikategorikan penghambatan lemah sebanyak 8 isolat dan 4 isolat kategori sedang. Sementara dari 8 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*, sebanyak 6 isolat dikategorikan penghambatan lemah dan 2 isolat mempunyai penghambatan sedang.

Telah banyak penelitian-penelitian yang dilakukan untuk mengisolasi *Streptomyces* dari rizosfer yang berhasil menghasilkan zat antifungi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Streptomyces albidoflavus* PU 23 mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* dengan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) 20 µg/mL dan menghambat *Candida albicans* dengan MIC 40 µg/ml⁽²⁷⁾. Penelitian ini menunjukkan hal yang berbeda dengan penelitian tersebut, karena pada penelitian ini *A. fumigatus* lebih resisten dari pada *C. albicans* yang ditunjukkan dengan MIC yang lebih rendah. Isolat *Streptomyces* yang didapat dapat menghambat *C. albicans*, *T. Mentagrophytes* maupun *A. fumigatus*. Penelitian lain yang pernah dilakukan, menggunakan metode sumuran sehingga dapat diketahui nilai MIC⁽²⁷⁾, sementara pada penelitian ini menggunakan metode agar blok sehingga tidak bisa diketahui nilai MICnya.

Hasil SEM. Berdasarkan hasil pemeriksaan dengan mikroskop elektron (SEM) diketahui morfologi spora dan ornamen permukaan rantai spora isolat RRR67 (Gambar 7) termasuk anggota genus *Streptomyces*.



Gambar 7. Foto hasil SEM isolat RRR67.

Penelitian⁽²⁸⁾ berhasil menguji aktivitas 10 isolat *Streptomyces* dari rizosfer rumput teki dan tanaman jagung sebagai penghasil antifungi. Fungi uji yang digunakan adalah *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *A. niger* dan *A. terreus*. Hasilnya menunjukkan 4 isolat mampu

menghambat *C. albicans* dengan kategori lemah. Enam isolat mampu menghambat *S. cerevisiae* dengan kategori lemah dan sedang serta 4 isolat mampu menghambat *A. niger* dengan kategori lemah. Bila dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut daya hambat isolat *Streptomyces* pada *C. albicans* dari penelitian ini lebih baik tingkat penghambatannya karena tergolong penghambatan sedang.

Secara umum, antifungi yang dihasilkan *Streptomyces* dapat digolongkan menjadi dua, yaitu golongan polyene dan non polyene. Ada 3 macam mekanisme kerja zat antifungi yang dihasilkan oleh *Streptomyces* yaitu, merusak dinding sel dengan menghambat sintesis *chitin* dan menghambat sintesis protein⁽²⁹⁾ serta merusak membran sel dengan cara berinteraksi dengan ergosterol atau bereaksi dengan mannoprotein⁽³⁰⁾.

Penelitian⁽³¹⁾ menyimpulkan bahwa ekstrak jamur endofit *Kabatiella caulivora* var. B yang diisolasi dari *Alyxia reinwardtii* BL dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Pada konsentrasi ekstrak metanol jamur sebesar 5 mg tidak menunjukkan adanya penghambatan pada *C. albicans* sedangkan pada konsentrasi 10 mg terdapat penghambatan dengan diameter daerah hambatan sebesar 7,88±0,62 mm. Sementara itu, penghambatan oleh ekstrak etil asetat pada konsentrasi 5 mg sebesar 9,51±0,09 mm dan pada konsentrasi 10 mg sebesar 10,97±0,53 mm. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian ini, maka diketahui bahwa hambatan yang ditimbulkan oleh isolat *Streptomyces* RRR55 terhadap *C. albicans* lebih kuat dibandingkan ekstrak jamur endofit *Kabatiella caulivora* var. B. Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah agar blok, sedangkan pada penelitian aktivitas jamur endofit menggunakan difusi cakram.

SIMPULAN

Densitas anggota genus *Streptomyces* yang berasosiasi dengan rizosfer rumput belulang sebanyak 4,99x10⁶ kol/g pada media SCA dan 4,74x10⁶ kol/g pada media RHA. Berdasarkan keadaan koloni, hasil *colour grouping* dan pewarnaan Gram isolat yang dihasilkan diindikasikan sebagai anggota genus *Streptomyces*. Sebanyak 17 isolat dari rizosfer rumput belulang mampu menghasilkan zat antifungi. Sebanyak 8 isolat hanya mampu menghambat pertumbuhan salah satu fungi uji, 7 isolat mampu menghambat 2 macam fungi uji dan satu isolat mampu menghambat ketiga fungi uji, yaitu *Trichophyton mentagrophytes* (diameter daerah hambatan 21 mm), *Aspergillus fumigatus* (14 mm) dan *Candida albicans* (13 mm). Dari hasil pemeriksaan dengan mikroskop elektron (SEM) diketahui morfologi spora dan ornamen permukaan

rantai spora dari satu isolat, yaitu RRR67 termasuk anggota genus *Streptomyces*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan sebagian dari hasil penelitian Skim Hibah Pekerti. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada DIKTI lewat Kopertis wilayah VI Jateng yang telah mendanai penelitian ini dengan SK No. 007/O06.2/PP/SP/2012.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suarsana IN, Utama IH, Suartini NGAA. Aktivitas *in vitro* senyawa antimikroba dari *Streptococcus lactis* (abstrak). J Vet. 2001. 2(1).
2. Worang RL. Fungi endofit sebagai penghasil antibiotika [thesis]. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. 2003.
3. Prihatiningtias W, Widyastuti SM, Wahyuono S. Senyawa antibakteri dari *Thievalia polygonoperda* fungi endofit tumbuhan akar kuning (*Fibraurea chloroleuca*. Miers). Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon. 2005. 6(1):19-22.
4. Oskay M, Tamer AU, Azeri C. antibacterial activity of some Actinomycetes isolated from farming soil of Turkey. African Journal of Biotechnology. 2004. 3(9):441-6.
5. Nedialkova D, Naidenova M. Screening the antimicrobial activity of Actinomycetes strains isolated from Antarctica. Journal of Culture Collections. 2005. 4(1):29-35.
6. Lestari Y. Identification of indigenous *Streptomyces* spp. producing antibacterial compounds. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. 2006. 11(2):99-101.
7. Lazzarini A, Cavaletti L, Toppo G, Marinelli F. rare genera of Actinomycetes as potential producer of new antibiotics. Antonie van Leeuwenhoek. 2000. 78(3-4):399-405.
8. Lee JY, Hwang BK. Diversity of antifungal Actinomycetes in various soil of Korea (abstract). Can J Microbiol. 2002. 48(5):407-17.
9. Jain PK, Jain PC. Isolation, characterization and antifungal activity of *Streptomyces samponii* GS 1322. Indian Journal of Experimental Biology. 2007. 45: 203-6.
10. Jimenez-Esquilin AE, Roane TM. Antifungal activities of Actinomycetes strain associated with high-altitude Sagebrush rhizosphere. J Ind Microbiol Biotechnol. 2005. 32(8):378-81.
11. Bharti A, Kumar V, Gusain O, Bisht GS. Antifungal activity of Actinomycetes isolated from Garhwal region. Journal of Sci Engg & Tech Mgt. 2010. 2:3-9.
12. Rahayu M. Aktinomisetes, agens hayati potensial untuk pengendalian penyakit tular tanah pada kedelai. Deptan RI: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian; 2010.

13. Ambarwati, Sembiring L, Soegihardjo CJ. antibiotic produced by Streptomyces associated with rhizosphere of purple nut sedge (*Cyperus rotundus* L.). African Journal of Microbiology Research. 2012. 6(1):54-7.
14. Sembiring L. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi untuk Mahasiswa S2. Yogyakarta: Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada; 2002.
15. Sembiring L, Ward AC, Goodfellow M. Selective isolation and characterisation of members of the *Streptomyces violaceusniger* Clade associated with the roots of *Paraserianthes falcataria*. Antonie van Leeuwenhoek. 2000. 78(3-4):353-66.
16. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiology. Fourth Edition. Boston: WCB McGraw-Hill; 1999.
17. Ambarwati CJ, Soegihardjo, Sembiring L. Isolasi dan identifikasi Streptomyces dari rizosfer jagung (*Zea mays* L.) yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik. Jurnal Biota. 2010.15(1):1-7.
18. de Araújo JM, Silva AC, Azevedo JL. Isolation of endophytic Actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.) Brazilian Archives of Biology and Technology. 2000. 43(4):52-8.
19. Antonova-Nikolova S, Tzekova N, Yocheva L. Taxonomy of *Streptomyces* sp. Strain 3B. Journal of Culture Collection. 2005. 4:36-42.
20. Lo CW, Lai NS, Cheah H-Y, Wong NKI, Ho CC. Actinomycetes isolated from soil samples from The Crocker Range Sabah. ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC). 2002.
21. Taechowisan T, Lu C, Shen Y, Lumyong S. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc 130 and their antifungal activity. Microbiology. 2005. 151:1691-5.
22. Khamma S, Yokota A, Lumyong S. Actinomycetes Isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. World J Microbiol Biotechnol. 2009. 25:649-55.
23. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock Biology of Microorganisms. Tenth Edition. USA: Prentice Hall; 2003.
24. Ambarwati. Streptomyces penghasil antibiotika yang berasosiasi dengan rizosfer rumput teki (*Cyperus rotundus*) dan tanaman jagung (*Zea mays*) [thesis]. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada; 2008.
25. Budiyanto MAK. Mikrobiologi Terapan. Malang: UMM Press; 2004.
26. Pelczar MJ, Chan ECS. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Alih Bahasa: Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: UI Press. 2007.
27. Augustine SK, Bhavsar SP, Kapadnis BP. Non-polyene antifungal antibiotic from *Streptomyces albidoflavus* PU 23. J Biosci. 2005. 30(20):201-11.
28. Helbert. Potensi isolat Streptomyces dari rhizosfer rumput teki (*Cyperus rotundus*) dan Jagung (*Zea mays*) sebagai penghasil antifungal [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. 2010.
29. Franklin TJ, Snow GA. Biochemistry and molecular biology of antimicrobial drug action. 5th Edition. England: Kluwer Academic Pub; 1998.
30. Srivastava OP, Khan ZK, Wahap S. Medically Important antifungal drug. In: Arora DK, editor. Handbook of applied mycology; human, animals and insects. Vol. 2. New York: Marcel Dekker Inc.; 1991.
31. Sugijanto NE, Anggraeny D, Zaini NC. Aktivitas antimikroba ekstrak jamur endofit *Kabatiella caulivora* var:B yang diisolasi dari *Alyxia reinwardtii* BL. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2011.9(1):31-34.