

**KEMAMPUAN *Streptomyces* spp. DALAM MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN MIKROB PATOGEN TULAR TANAH:
PENGARUH MEDIA DAN WAKTU PERTUMBUHAN**
(Capability of *Streptomyces* Spp in Inhibiting Soil Borne Microbial Pathogens:
the Influence of Growth Media and Incubation Times)

Yulin Lestari¹⁾, Yundatul Ulya¹⁾, Rasti Saraswati²⁾

¹⁾ Dep. Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB

²⁾ Balai Penelitian Tanah, Litbang Pertanian Bogor

ABSTRAK

Streptomyces spp. berpotensi digunakan sebagai agen pengendali hayati melalui kemampuannya dalam menghasilkan beragam senyawa antimikrob. Produksi senyawa antimikrob dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti nutrisi media dan waktu inkubasi. Penelitian ini bertujuan mengkaji kemampuan *Streptomyces* spp. dalam menghambat mikrob patogen tular tanah yang dipengaruhi media pertumbuhan dan waktu inkubasi. Digunakan dua macam media: ISP 4 dan media modifikasi molase-kedelai, waktu inkubasi (5, 10, dan 15 hari). LSW05, LBR02, dan PS4-16 menghasilkan senyawa antimikrob dengan baik pada media molase-kedelai dibandingkan ISP4. Aktivitas senyawa antimikrob tertinggi diperoleh setelah inkubasi 15 hari pada suhu ruang. Ketiga isolat uji mampu menghambat bakteri patogen (*Xanthomonas oryzae*) dan cendawan patogen (*Fusarium oxysporum*). Kemampuan *Streptomyces* spp. menghasilkan senyawa antimikrob dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan.

Kata kunci : *Streptomyces* spp., senyawa antimikrob, mikrob patogen tular tanah, kondisi pertumbuhan.

ABSTRACT

Streptomyces spp. has the potency to be used as an agent of biological control through their capability to produce various anti microbial compounds. The production of anti microbial compounds can be influenced by nutrition of culture media and incubation times. This research aimed to study the capability of *Streptomyces* spp. in inhibiting soil borne microbial pathogen influenced by growth media and incubation times. Two tested media i.e: ISP4 and modified molasses-soy bean meal media; and 5, 10, and 15 days of incubation times. Three local isolates of *Streptomyces* namely LSW05, LBR02 and PS4-16 grew better and produced more anti microbial activity when they grown using modified molasses-soy bean meal media compared with that using ISP4. The highest anti microbial activity was obtained at 15 days incubation at room temperature. The three selected *Streptomyces* isolates was able to inhibit bacterial pathogen (*Xanthomonas oryzae*) and fungal pathogen (*Fusarium oxysporum*). Three local isolates of *Streptomyces* spp. produce antimicrobial compounds, and its production can be stimulated by giving suitable environmental growth conditions.

Keywords : *Streptomyces* spp., anti microbial compounds, soil borne microbial pathogen, growth conditions.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan agen biokontrol sebagai alternatif pengendalian terhadap mikroba patogen semakin berkembang. *Streptomyces* spp. dapat dikembangkan sebagai agen biokontrol penyakit akar yang disebabkan oleh mikroba tular tanah (*soil borne microbial pathogen*) karena kemampuannya menghasilkan antibiotik berspektrum luas (Crawford *et al.* 1993). Keberadaan *Streptomyces* spp. yang banyak ditemukan dalam tanah, membuatnya sangat efektif jika dimanfaatkan sebagai anti fungi maupun anti bakteri patogen tular tanah (Yusnizar 2001). Beberapa patogen penting yang menyerang tanaman pangan seperti *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas* sp. yang menyerang kubis, dan beberapa patogen tanah yang merugikan lainnya seperti *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Fusarium* sp. *Rhizoctonia* sp. dan *Phytophthora capsici* dapat dikendalikan dengan antibiotik yang di hasilkan oleh *Streptomyces* sp. (Hwang *et al.* 2001, Bordoloi *et al.* 2002, Strange 2003).

Streptomyces spp. isolat lokal diketahui berpotensi menghasilkan beragam senyawa antimikrob (Lestari, 2006). Beberapa penelitian dengan menggunakan *Streptomyces* spp. lokal sebagai biokontrol mikroba patogen tular tanah telah dilakukan. Andri (2004) memanfaatkan *Streptomyces* sp. PS1-4 dalam mengontrol *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* YR32 yang merupakan penyebab penyakit pustul bakteri pada kedelai dan *Bacillus subtilis* yang menyebabkan penyakit busuk benih. Munthahanas (2004) menyatakan bahwa *Streptomyces* sp. PD14-19 mampu menghambat perkembangan *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu pada tanaman cabe. Papuangan (2009) melakukan uji *in vitro* yang menunjukkan bahwa enam isolat *Streptomyces* spp. lokal (SSW02, LBR02, LSW1, LSW05, PD2-9, dan PS4-16) mampu menghambat mikroba patogen tular tanah dengan baik. Lima isolat diantaranya (SSW02, LBR02, LSW1, LSW05, dan PS4-16) mampu menghambat kuat terhadap *B. subtilis*, *B. cereus*, dan *X. axonopodis*, sedangkan *R. solanacearum* hanya mampu dihambat oleh dua isolat (PD2-9 dan PS4-16).

Penghambatan yang dilakukan *Streptomyces* spp. berasal dari kemampuan menghasilkan senyawa anti mikroba, dan produksi anti mikroba dipengaruhi oleh faktor internal seperti fisiologi dan genetika mikroba itu sendiri, tetapi dapat juga

dipengaruhi faktor eksternal (Kavitha & Vijayalaksmi, 2007). Faktor-faktor eksternal yang penting dalam mengontrol pertumbuhan dan aktivitas *Streptomyces* spp. adalah ketersediaan nutrisi dan bahan organik, serta kondisi fisik dan lingkungan seperti: kadar oksigen, salinitas, kelembaban, temperatur, dan pH (Goodfellow & Williams 1983; Mc Carthy & Williams 1990).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan *Streptomyces* spp. dalam menghambat mikroba patogen tular tanah pada media pertumbuhan dan waktu inkubasi yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan ialah isolat *Streptomyces* LSW05, LBR02, SSW02, dan PS4-16, serta mikroba target: *Xanthomonas oryzae* dan *Fusarium oxysporum*), koleksi Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA IPB.

Produksi Senyawa Anti Mikroba pada Media Pertumbuhan dan Waktu Inkubasi yang berbeda

Produksi senyawa anti mikroba dari isolat *Streptomyces* spp. dilakukan terhadap dua macam media tumbuh: media ISP4 dan media modifikasi molase-kedelai. Waktu inkubasi yang digunakan adalah 5 hari, 10 hari, dan 15 hari pertumbuhan. Isolat diinokulasikan dalam media produksi uji, kemudian ditempatkan pada *rotari shaker* selama 5 – 15 hari pada suhu ruang. Selanjutnya biakan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10000 rpm pada suhu 4°C untuk memisahkan antara pelet dan filtrat kultur. Filtrat kultur yang digunakan untuk uji lanjut.

Pengujian pengaruh faktor tumbuh eksternal dilakukan terhadap media, dan waktu produksi. *Streptomyces* spp. yang ditumbuhkan pada media peremajaan diambil dengan menggunakan sedotan plastik steril berdiameter 8 mm dan diinokulasikan ke dalam media tumbuh ISP4 dan modifikasi molase dan kedelai. Pada hari ke 5, 10, dan 15 dilakukan panen filtrat yang digunakan dalam uji antagonis terhadap mikroba patogen tular tanah.

Bioesei Filtrat Kultur *Streptomyces* spp. terhadap Pertumbuhan Mikrob Patogen Tular Tanah

Filtrat kultur isolat *Streptomyces* spp. terpilih digunakan untuk pengujian daya hambat terhadap bakteri patogen dengan metode difusi agar. Cara pengujian dilakukan dengan mengambil 100 µl (10^6 cfu/ml) masing-masing biakan bakteri patogen dimasukkan dalam NA semi padat (0.85%), kemudian disebar pada cawan petri yang telah berisi NA padat (1.5%), kemudian media berisi bakteri patogen target tersebut dicampur sampai rata, dan didiamkan 5-10 menit agar mengering. Selanjutnya cakram kertas berdiameter 8 mm diletakkan dengan sedikit ditekan, kemudian pada masing-masing cakram di tetesi 15 µl filtrat kultur *Streptomyces* spp. yang diujikan. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi 24 jam pada suhu ruang. Besarnya diameter zona bening yang terbentuk diamati berdasarkan diameter seluruh zona hambat dikurangi diameter cakram kertas.

Pengujian terhadap cendawan target dilakukan dengan uji *dual culture*. Cendawan patogen diambil dengan menggunakan sedotan plastik steril dan ditumbuhkan pada media PDA. Kertas cakram diletakkan pada jarak 3 cm dari cendawan tersebut, kemudian pada kertas cakram tersebut ditetesi 15 µl filtrat kultur *Streptomyces* spp. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 3 – 5 hari. Hambatan pertumbuhan diukur dengan mengurangi diameter pertumbuhan koloni cendawan yang dihambat filtrat *Streptomyces* spp. uji dengan pertumbuhan koloni cendawan kontrol.

Pengukuran Berat Kering Sel dan Kadar Gula dalam Media

Berat kering sel diukur berdasarkan berat pelet hasil panen. Pemanenan dilakukan pada hari ke-5, ke-10, dan ke-15 hari pertumbuhan. Pelet hasil panen disentrifugasi 10000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C, kemudian disaring dengan kertas saring Whatman dan dikeringkan pada suhu 70°C selama 24 jam, kemudian ditimbang. Berat kering sel diukur setelah dikurangi dengan berat kertas. Pengukuran dilakukan dengan dua kali ulangan.

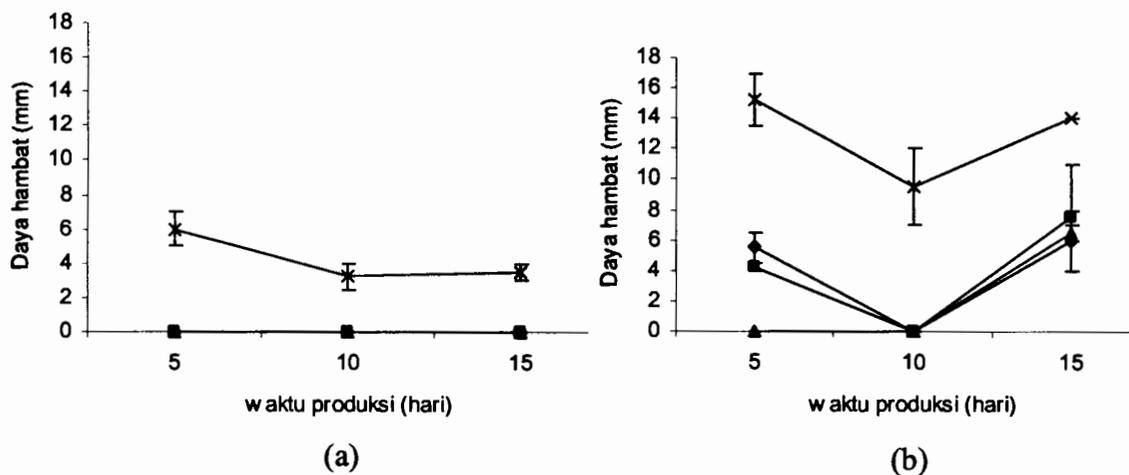
Pengukuran kadar gula dalam media produksi terpilih diukur berdasarkan metode DNS (Dinitrosalisilat-Miller 1959). Pengukuran dilakukan dengan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 550 nm. Larutan glukosa digunakan sebagai standar, dan pengukuran dilakukan dengan dua kali ulangan. Kadar gula

yang terpakai dihitung dengan menghitung kadar gula dalam media awal dikurangi dengan kadar gula terukur pada waktu pengamatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

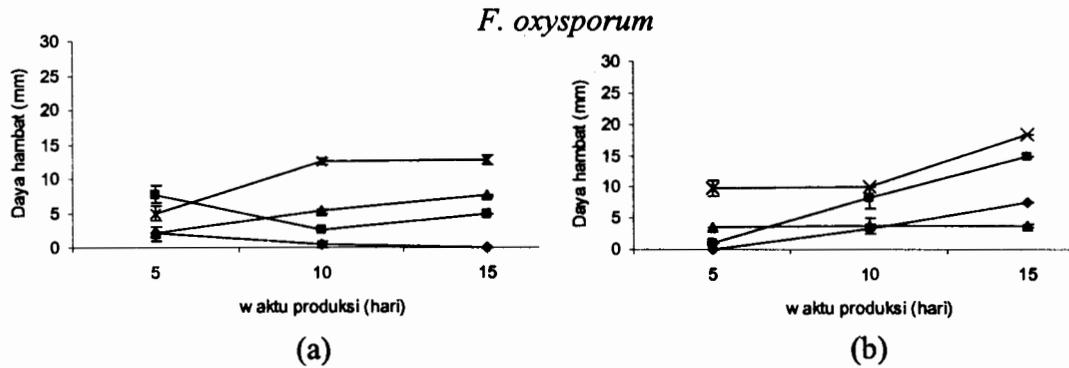
Kemampuan *Streptomyces* spp. dalam Menghasilkan Senyawa Anti Mikrob pada Media ISP4 dan Media Modifikasi Molase-Kedelai Selama 15 Hari Waktu Produksi.

Hasil uji kemampuan penghambatan *Streptomyces* spp. terhadap *Xanthomonas oryzae* pada media ISP4 dan media modifikasi molase-kedelai menunjukkan pola penghambatan yang sama. Isolat PS4-16 mempunyai penghambatan yang tinggi pada kedua media tersebut. Isolat PS4-16 mampu menghambat kuat *X. oryzae* dan *F oxysporum* pada hari ke-5, 10, dan ke-15 waktu produksi (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Aktivitas penghambatan *Streptomyces* spp. terhadap *X. oryzae* pada media ISP4 (a) dan modifikasi molase-kedelai (b)

—◆— LSW —■— LBR —▲— SSW —×— PS



Gambar 2. Aktivitas penghambatan *Streptomyces* spp. terhadap *F. oxysporum* Pada media ISP4 (a) dan modifikasi molase-kedelai (b)

—◆— LSW —■— LBR —▲— SSW —×— PS

Penghambatan tertinggi pada PS4-16 diperoleh pada hari ke-5 sebesar 15.25 mm pada media modifikasi molase-kedelai dan mengalami penurunan pada hari ke-15, tetapi pada hari ke-15 ketiga isolat lainnya (LSW05, LBR02, dan SSW02) mengalami peningkatan kemampuan penghambatan pada media modifikasi molase-kedelai. Untuk penghambatan *F. oxysporum*, PS4-16 merupakan isolat yang tertinggi dalam menghambat *F. oxysporum*, kemudian LBR02, LSW05 dengan urutan penghambatan sebagai berikut 18.5 mm, 15 mm, dan 7.5 mm.

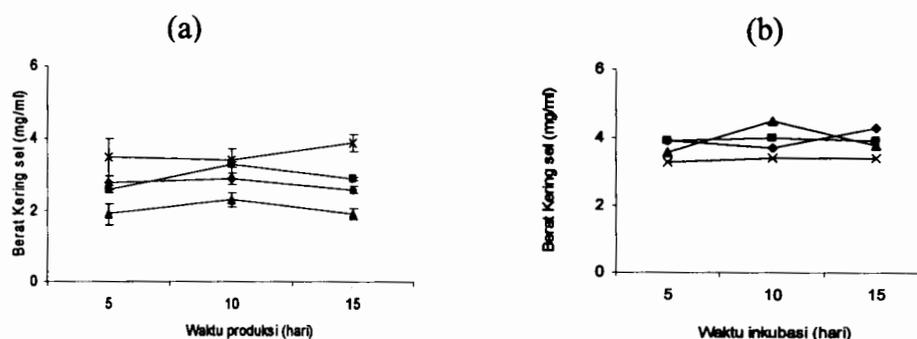
Peningkatan penghambatan pada waktu produksi hari ke-15 yang diduga memasuki awal fase stasioner tersebut, menguatkan hasil penelitian Prapagdee *et al.* (2008) yang menunjukkan bahwa pada fase stasioner *Streptomyces* SRA14 mempunyai persen penghambatan terhadap cendawan *C. gloeosporoides* yang lebih tinggi dari pada fase eksponensial. Hal tersebut mengindikasikan bahwa produksi anti mikroba kemungkinan lebih banyak diproduksi pada fase stasioner pada saat nutrisi sudah menjadi terbatas.

Media modifikasi molase-kedelai dapat digunakan untuk menggantikan media ISP4 yang merupakan media umum dalam memproduksi anti mikroba pada *Streptomyces*. ISP4 merupakan media miskin nutrisi dan banyak mineral dengan pati sebagai sumber karbonnya, sedangkan molase merupakan hasil samping dari proses pembuatan gula tebu yang mengandung gula sekitar 48 – 58% yang tersusun atas sukrosa, glukosa, fruktosa dan komponen lainnya (Novita 2001). Kandungan gula yang tinggi pada molase merupakan sumber karbon bagi

Streptomyces yang dipergunakan untuk metabolisme dan pertumbuhannya. Glukosa dalam molase akan langsung digunakan sebagai sumber karbon, sedangkan pati pada ISP4 harus terlebih dulu didegradasi menjadi senyawa yang lebih pendek rantainya melalui aktivitas enzim amilase. Menurut Singh *et al.* (2008) bahwa *Streptomyces capoamus* MTCC8123 mempunyai aktivitas penghambatan yang tinggi terhadap beberapa mikroba ketika glukosa, fruktosa, galaktosa, xilosa, dan sellobiosa digunakan sebagai sumber karbon, sedangkan sorbitol dan pati mempunyai aktivitas yang rendah.

Penambahan kedelai dalam media modifikasi molase-kedelai sebagai sumber nitrogen juga memacu produksi senyawa anti mikroba *Streptomyces*. Narayana dan Vijayalaksmi (2008) menyatakan bahwa nitrogen organik merupakan sumber nitrogen yang terbaik dibandingkan dengan inorganik. Gesheva *et al.* (2005) menyatakan bahwa pertumbuhan dan produksi anti mikroba pada media sintetik tidak memperoleh hasil yang maksimal, tetapi media yang mengandung kedelai sekitar 0.5% dapat mendukung pertumbuhan dan produksi anti mikroba pada *Streptomyces higroscopicus*. Hasil pengujian produksi senyawa anti mikroba pada beragam media menunjukkan bahwa media modifikasi molase-kedelai mampu meningkatkan produksi senyawa anti mikroba dan berat kering sel.

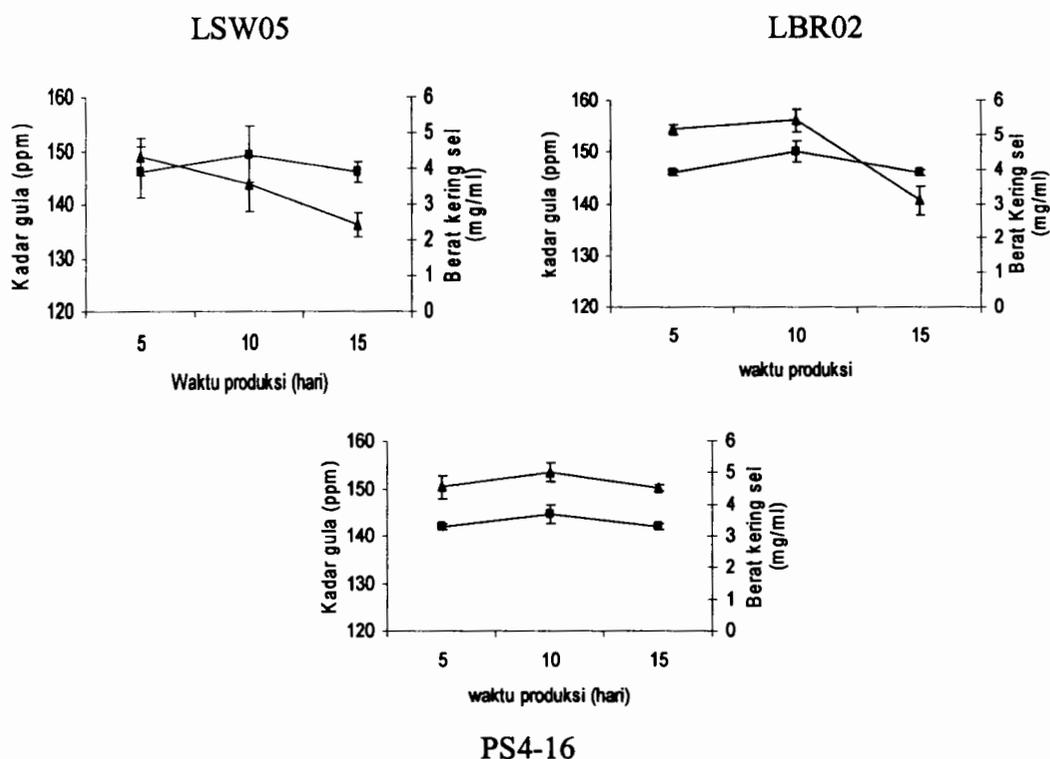
Kemampuan penghambatan isolat *Streptomyces* spp. terhadap bakteri dan cendawan target pada media dan waktu produksi ditunjang oleh pertumbuhan isolat tersebut pada media ISP4 maupun modifikasi molase-kedelai. Hal tersebut terlihat bahwa kemampuan isolat pada media ISP4 mempunyai berat kering yang lebih rendah daripada media modifikasi molase-kedelai (Gambar 3).



Gambar 3. Berat kering sel *Streptomyces* spp. pada media ISP4 (a) dan media modifikasi molase- kedelai (b) —◆— LSW —■— LBR —▲— SSW —×— PS

Mikroba dalam kehidupannya membutuhkan makronutrien dan mikro nutrien. Salah satu makro nutrien yang dibutuhkan adalah karbon yang berguna untuk tumbuh, berkembang biak, sumber energi dan sebagai cadangan makanan. Jenis dan jumlah sumber karbon sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yang secara tidak langsung mempengaruhi sintesa metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesa oleh suatu organisme, tidak untuk memenuhi kebutuhan primernya seperti tumbuh dan berkembang melainkan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungannya.

Hasil pengamatan kadar glukosa diketahui bahwa semua isolat mampu memanfaatkan sumber karbon yang terdapat dalam media molase-kedelai. Hal itu terlihat adanya aktivitas peningkatan kadar glukosa dan pertumbuhan pada semua isolat (Gambar 4).



Gambar 4. Kadar glukosa dalam media selama produksi

Isolat LSW05 mengalami penurunan kadar glukosa seiring dengan peningkatan berat kering sel. Hal tersebut dapat diduga bahwa isolat LSW05 membutuhkan karbon yang tinggi dalam pertumbuhannya. Berat kering sel yang

terus meningkat menyebabkan keterbatasan sumber karbon sehingga persaingan sumber nutrisi dan ruang menyebabkan penurunan berat kering sel. Pada saat kondisi yang terbatas inilah terbentuknya antibiotik untuk pertahanan dirinya. Akan tetapi kadar glukosa yang rendah menyebabkan aktivitas produksi senyawa metabolitnya juga terbatas. Hal tersebut nampak dengan aktivitas penghambatan LSW05 yang lebih rendah dibandingkan kedua isolat lainnya. El Banna (2006) menyatakan bahwa glukosa merupakan sumber karbon utama dalam pertumbuhan, selain itu dapat mempengaruhi biosintesis senyawa anti mikroba.

KESIMPULAN

Streptomyces LSW05, LBR02, dan PS4-16 mampu menghasilkan senyawa anti mikroba yang menghambat pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* dan *Fusarium oxisporum* dan penghambatan paling baik diperoleh pada media modifikasi molase-kedelai dan waktu inkubasi 15 hari pada suhu ruang.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Departemen Biologi, FMIPA IPB atas fasilitas yang diberikan, dan Badan Litbang Pertanian DEPTAN atas dukungan dana yang diberikan untuk kegiatan penelitian KKP3T melalui surat perjanjian pelaksanaan kegiatan no. 593/LB.620/I.1/2/2009 a.n. Dr. Ir. Yulin Lestari dkk.

DAFTAR PUSTAKA

- Andri C. 2004. Kajian Potensi *Streptomyces* sp. PS1-4 sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif Pengendali Bakteri Patogen Tanaman Kedelai [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Bogor Institut Pertanian Bogor.
- Bordoloi GN *et al.* 2002. Potensial of Novel Antibiotik, 2-metil heptil isonicotinate, as Biocontrol Agent Againts Fusanal Wilt of Crosifeis. *Pest. Mgmt Sci.* 58:297-302.
- Crawford DL, Lynch J, Whipps J, Ousley M. 1993. Isolation and Characterization of Actinomycete Antagonist of Fugal Root Pathogen. *Appl Environ Microbiol* 59:3899-3905.

- El Banna NM. 2006. Effect of Carbon Source on the Antimicrobial Activity of *Corynebacterium kutscheri* and *Corynebacterium xerosis* [Short Communication]. *Afr J Biotechnol* 5(10):833-835.
- Goodfellow M, William ST. 1983. Ecology of Actinomycetes. *Ann Rev Microbiol* 37:189-216.
- Gesheva V, Inovora V, Gesheva R. 2005. Effect of Nutrients on the Production of AK-111-81 Macrolide Antibiotic by *Streptomyces hygroscopicus*. *Microbiol Res* 160:243-248.
- Hwang BK, Lee JY, Kim BS, Moon SS. 2001. Isolation and in Vitro and in Vivo Antifungal Activity of Phenilacetic Acid and Sodium Phenilacetate from *Sterptomyces humidus*. *Appl Environ Microbiol* 67: 3739-3745.
- Kavitha, Vijayalaxmi M. 2007. Studies on Cultural, Physiological and Antimicobial Activities of *Streptomyces rochei*. *J Appl Sci Res* 3(12): 2026-2029.
- Lestari Y. 2006. Identification of Indigenous *Streptomyces* spp. Producing Antibacterial Compounds [Short Communication]. *J Microbial Indones* vol II (92):99-101.
- Miller GL. 1959. Dinitrosalisilic assay. *Anal Chem* 31:426-428.
- Mc Carthy AJ, William ST. 1990. Methode for Studying the Ecology of Actinomycetes. *Meth of Microbiol* 22:533-563.
- Munthahanas I. 2004. Potensi *Streptomyces* sp. sebagai Agen Pengendali Biologi *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Cabai. [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Novita E. 2001. Optimasi Proses Koagulasi Flokulasi pada Limbah Cair yang Mengandung Melonoidin. *J. Ilmu Dasar* 2(1):61-67.
- Narayana KJP, Vijayalakshmi M. 2008. Optimization of Antimicrobial Metabolites Production by *Streptomyces albidoflavus*. *Res J Pharm* 2(1):4-7.
- Prapagdee B, Kuekulvong C, Mongkolsuc S. 2008. Antifungal Potential of Extraceluler Metabolites Produced by *Streptomyces hygroscopicus* Againts Phytophatogenic Fungi. *Int J Biol Sci* 4(5):330-337.
- Papuangan N. 2009. Aktivitas Antimikrob *Streptomyces* spp. Penghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen Tular Tanah secara *in Vitro* dan *in Planta*. [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Strange RN. 2003. *Introduction to Plant Pathology*. England: John Wiley and Son's Ltd.

- Singh V, Tripati CKM, Vinod B. 2008. Production, Optimization, and Purification of Antifungal Compound from *Streptomyces capoamus* MTCC 8123. *Med Chem Res* 17:94-102.
- Yusnizar. 2001. Skrining Aktinomisetes dari Ekosistem Air Hitam yang Menghambat Pertumbuhan *Rhizoctonia solani* dan *Helmintosporium orizae* serta Spektrum Aktivitas terhadap Mikroba Lain. [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.