

Isolasi dan Karakterisasi *Yeast* dari Rhizosphere *Avicennia Marina* Wonorejo

Sitaton Zunaidah dan Nur Hidayatul Alami

Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

e-mail: hidayatulalami@bio.its.ac.id

Abstrak— Salah satu mikroba yang berperan penting dalam proses biodegradasi bahan organik adalah *yeast*. *Yeast* berpartisipasi dalam berbagai proses ekologis signifikan dalam laut, terutama di muara dan dekat pantai. Diantara peran tersebut adalah sebagai pendekomposisi substrat tumbuhan, daur ulang nutrisi, dan biodegradasi senyawa minyak. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi *yeast* dari rhizosphere *Avicennia marina* Wonorejo. Karakterisasi *yeast* dilakukan hingga tingkat genus melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji fisiologis. Hasil penelitian ini didapatkan 12 isolat *yeast* dari rhizosphere *Avicennia marina* Wonorejo yang diduga masuk ke dalam genus *Rhodotorula*, *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, dan *Geotrichum*.

Kata Kunci— *yeast*, *Avicennia marina*, rhizosphere

I. PENDAHULUAN

YEAST adalah salah satu mikroorganisme yang termasuk dalam golongan fungi uniseluler. Reproduksi vegetatif pada *yeast* terutama dengan cara pertunasan. Sebagai sel tunggal, *yeast* tumbuh dan berkembang biak lebih cepat dibandingkan dengan *mold* yang tumbuh dengan membentuk filamen [1]. *Yeast* adalah kelompok polifiletik dari *Basidiomycetes* dan *Ascomycetes* [2]. Pertumbuhan *yeast* pada media tumbuh sangat tergantung pada sifat fisiologisnya. Umumnya *yeast* tumbuh pada kondisi dengan persediaan cukup air.

Berdasarkan sifat metabolismenya *yeast* dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu: bersifat fermentatif dan oksidatif. Jenis fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol, yaitu memecah gula (glukosa) menjadi alkohol dan gas contohnya pada produk roti. Sedangkan oksidatif (respirasi) dapat menghasilkan carbon dioksida dan air [1]. *Yeast* lebih berlimpah di substrat berlumpur dibandingkan dalam sedimen berpasir. Genera yang paling sering terisolasi pada sedimen di wilayah perairan adalah *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Cryptococcus* dan *Candida* [2].

Mangrove Wonorejo merupakan salah satu muara sungai Pantai Timur Surabaya yang memiliki substrat dengan kandungan bahan organik tinggi [3]. Wilayah ini didominasi oleh mangrove *Avicennia marina*. Bagian perakaran mangrove atau rhizosphere mangrove memiliki populasi mikroorganisme yang umumnya lebih melimpah dan beragam bila dibandingkan pada tanah yang bukan rhizosphere [4].

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi *yeast* dari rhizosphere *Avicennia marina* Wonorejo. Isolat yang didapatkan dikarakterisasi hingga

tingkat genus melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji fisiologis yang terdiri dari: uji urease, uji fermentasi glukosa, uji askospora, dan uji pertumbuhan pada media cair.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2013 sampai Juli 2013 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (ITS).

A. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil pada bagian tanah Rhizosfer Mangrove *Avicennia marina* Wonorejo Surabaya yang terletak dekat dengan muara. Metode pengambilan sampel tanah dilakukan secara komposit. Sampel tanah diambil mulai dari top soil hingga kedalaman 20 cm dengan menggunakan cetok. Sampel yang telah diambil dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan dalam *ice box*. Dilakukan pengukuran faktor fisik dan kimia tanah meliputi: temperatur tanah dengan menggunakan thermometer, kelembaban tanah (soil tester), pH tanah (pH meter), dan salinitas menggunakan hand salino refractometer.

B. Preparasi Sampel dan Pengayaan

Sampel tanah ditimbang seberat 10 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 mL air fisiologis steril (NaCl). Sebanyak 10 mL supernatan dimasukkan ke dalam 40 ml *Yeast Malt Broth* (YMB) dan ditambah dengan kloramfenikol 200 mg/l. Kultur diinkubasi melalui pengocokan dengan menggunakan *shaker* selama 3 - 4 hari pada suhu 28-30°C.

C. Purifikasi Mikroorganisme

1mL suspensi dari erlenmeyer, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 mL dan didapatkan seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Masing-masing seri pengenceran, diambil sebanyak 0,1 mL suspensi dan dimasukkan ke dalam cawan Petri yang berisi medium *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) yang telah ditambahkan larutan kloramfenikol 1% melalui metode sebar. Setelah itu diinkubasi pada suhu 28-30°C selama 3 - 4 hari.

D. Karakterisasi *Yeast*

Metode dalam mengkarakterisasi *yeast* ini didasarkan pada buku panduan *The Yeast a Taxonomic Study* [5,6], meliputi:

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Pengamatan karakter makroskopis dilihat berdasarkan kenampakan koloni yang tumbuh pada media padat (*Yeast Malt Ekstrakt Agar*), meliputi: tekstur koloni, warna koloni, tepi/margin koloni, elevasi, dan permukaan koloni.

Pengamatan karakter mikroskopis dilakukan dengan melihat karakteristik reproduksi vegetatif, seperti pembentukan *budding*, bentuk sel (bulat, oval, silinder, ovoid, dan spheroid), ukuran sel, dan ada tidaknya pseudohifa/hifa sejati (miselium). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan aktopenol dan diamati dengan mikroskop perbesaran 400x.

Uji Fermentasi Gula

Uji fermentasi gula dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 1 ose isolat yang telah berumur 48 - 78 jam ke dalam medium steril mengandung glukosa dan ditambahkan *bromthymol blue* (sebagai indikator). Hasil positif tampak jika terjadi perubahan warna pada medium dari hijau menjadi kuning.

Uji Urease

Uji urease menggunakan media *Urea Broth*. Satu ose isolat *yeast* diinokulasi pada media mengandung urea secara aseptis dan diinkubasi pada suhu 28-30°C. Pertumbuhan *yeast* diamati setiap hari selama 7 hari. Jika *yeast* positif menghasilkan urease, media akan berubah warna dari merah kuning menjadi merah keunguan.

Uji Askospora

Uji ini dilakukan dengan metode modifikasi Schaeffer-Fulton's. Suspensi *yeast* yang sebelumnya dikultur pada media *Corn meal agar* dioleskan (dibuat smear) di atas gelas obyek dan diberi *malachite green* 0,5%. Kemudian dipanaskan dengan uap air selama 5 menit dan sesekali ditetesi *malachite green*. Dibilas dengan air selama 30 detik dengan hati-hati. Selanjutnya, smear *yeast* ditetesi safranin 0,5% selama 30 detik. Preparat diamati di bawah mikroskop perbesaran 400x dan 1000x dengan bantuan minyak imersi. Askospora dewasa akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif akan tampak merah.

Uji Pertumbuhan pada Media Cair

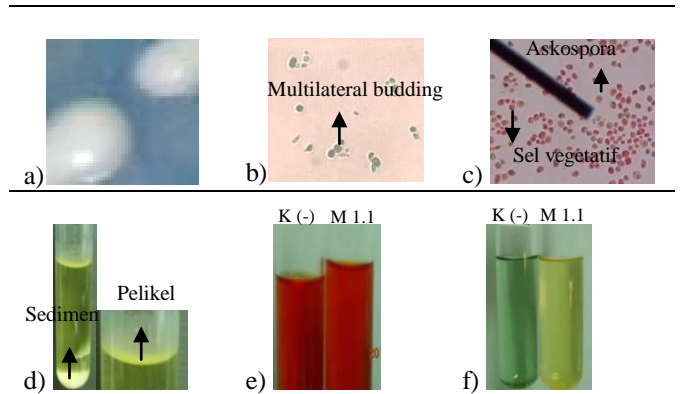
Isolat *yeast* diinokulasi pada media *Yeast Malt Broth* (YMB) pada suhu ruang dan diamati pertumbuhannya setiap hari sampai hari ke-7. Karakter makroskopik yang diamati adalah keberadaan cincin, membran, dan pelikel pada permukaan media, serta endapan pada dasar media (sedimen).

III. HASIL DAN DISKUSI

Dari hasil isolasi dan karakterisasi didapatkan 12 isolat *yeast*, dikode dengan; M 1.1, M 1.2, M 1.3, M 1.4, M 1.5, M 2.1, M 2.2, M 2.3, M 2.4, M 3.1, M 3.2, dan M 3.3. Secara berturut-turut diduga berasal dari genus; *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *Dekkera*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Candida*.

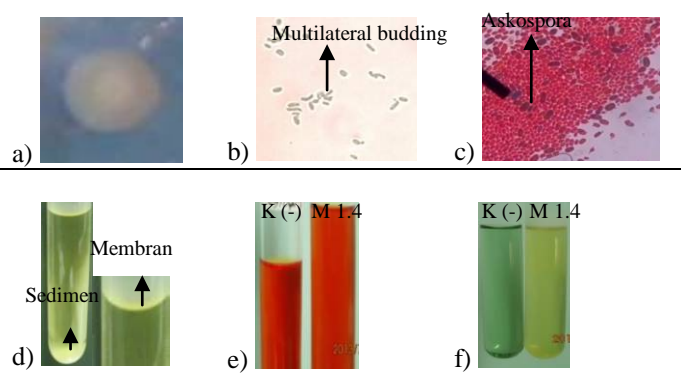
1. Karakter genus Hansenula

Genus *Hansenula* adalah kelompok *telemorphic Ascomycetes yeast* atau kelompok *perfect yeast* yakni memiliki alat perkembangbiakan seksual yang jelas berupa askospora. Berdasarkan hasil pengamatan uji askospora



Gambar 1. Karakter Isolat M 1.1.

Keterangan: (a) koloni bentuk sirkular, (b) sel berbentuk bulat, oval, tidak membentuk pseudohifa/hifa, budding multilateral, (c) askospora dibebaskan (hijau), sel vegetatif (merah), (d) pelikel di permukaan media dan sedimen di dasar media (e) uji urease negatif (-), Kontrol (K) negatif (-) warna merah orange, jika positif warna merah gelap, dan (f) fermentasi glukosa positif (+) warna kuning, Kontrol (K) negatif (-) warna hijau.



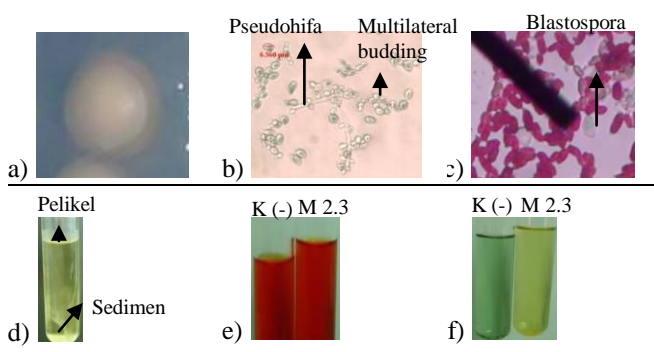
Gambar 2. Karakter Isolat M 1.4.

Keterangan: (a) Koloni berbentuk sirkular, (b) sel berbentuk elongate hingga silindris, pseudohifa (-), (c) askospora di dalam askus berwarna hijau, sel vegetatif berwarna merah, (d) permukaan media bermembran, sedimen di dasar media, (e) uji urease negatif, K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (+), K (-) warna hijau.

dalam penelitian ini, genus *Hansenula* tampak memiliki askospora yang dibebaskan (Gambar 1). *Hansenula* dikelompokkan sebagai *ascosporogenous yeast* yakni, mampu membentuk *ascocarp* atau kantung askus yang menyelimuti askospora [5,6].

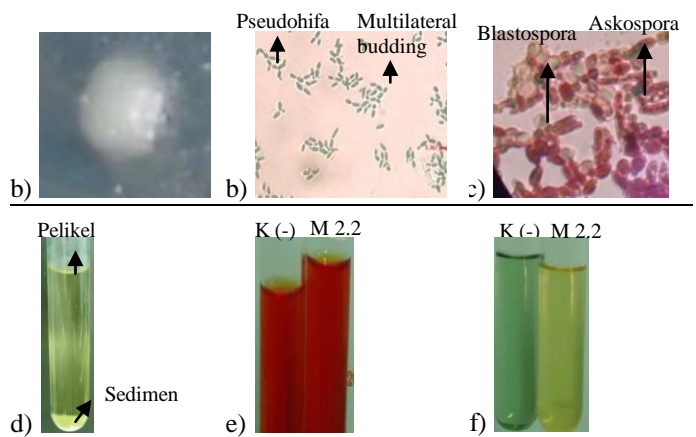
2. Karakter Genus Saccharomyces

Genus *Saccharomyces* adalah kelompok *telemorphic Ascomycetes yeast* atau kelompok *perfect yeast*. Termasuk *ascosporogenous yeast* yakni dengan ciri selalu berspora atau membentuk askospora (van-Rij, 1987; Kurtzman dan Fell, 1998). *Saccharomyces* termasuk genus yang juga dapat ditemukan di wilayah laut dan jumlahnya lebih melimpah pada bagian sedimen [2]. Karakteristik *Saccharomyces* tampak seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2, dengan ciri memiliki askospora di dalam kantung askus dan tidak membentuk pelikel di permukaan media.



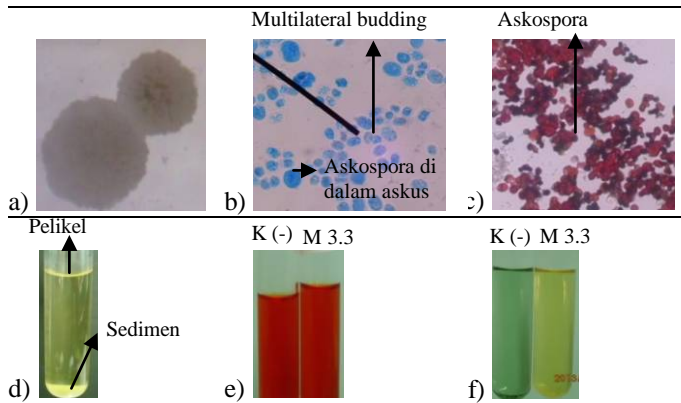
Gambar 3. Karakter Isolat M 2.3.

Keterangan : (a) koloni berbentuk sirkular, (b) sel berbentuk oval pendek hingga ellips, membentuk pseudohifa, reproduksi vegetatif dengan multilateral budding, (c) blastospora dan sel vegetatif warna merah (d) pelikel di permukaan media dan sedimen di dasar media, (e) uji urease (-), K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (+), K (-) warna hijau.



Gambar 5. Karakter Isolat M 2.2

Keterangan : (a) koloni berbentuk sirkular, (b) sel berbentuk elongate hingga silindris, membentuk pseudohifa, dan multilateral budding, (c) askospora dan blastospora, (d) pelikel di permukaan media dan sedimen di dasar media, (e) urease (-), K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (+) warna kuning, K (-) warna hijau.



Gambar 4. Karakter Isolat M 3.3.

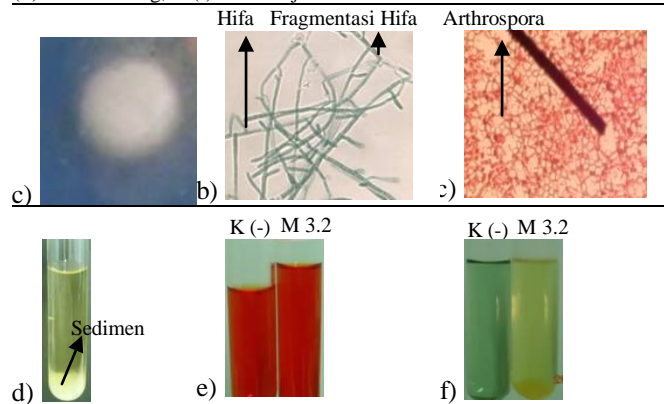
Keterangan : (a) koloni berbentuk sirkular, (b) sel berbentuk globose, subglobose, tidak membentuk pseudohifa (c) askospora berwarna hijau, sel vegetatif berwarna merah, (d) pelikel di permukaan media dan sedimen di dasar media, (e) urease (-), K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (+) warna kuning, K (-) warna hijau.

3. Karakter Genus *Candida*

Genus *Candida* merupakan *yeast cosmopolitan*, paling sering terisolasi dari wilayah perairan dan tersebar di laut, sedimen, estuari, maupun berasosiasi dengan alga, ikan, burung, dan mamalia laut. Selain itu *Candida* juga merupakan mikroorganisme asli yang menghuni wilayah laut. Diantara beberapa wilayah tersebut *Candida* paling dominan ditemukan pada bagian sedimen laut [2]. Karakteristik *Candida* tampak seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3, dengan ciri memiliki blastospora dan membentuk pseudohifa.

4. Karakter Genus *Debaryomyces*

Genus *Debaryomyces* adalah kelompok *telemorphic Ascomycetes yeast* atau kelompok *perfect yeast*, merupakan *yeast cosmopolitan* yang sering terisolasi di wilayah perairan dan tersebar pada wilayah laut, sedimen, estuari, dan banyak yang berasosiasi dengan ikan [2]. Dari hasil penelitian ini, genus *Debaryomyces* tampak memiliki sel berbentuk globose dengan askospora di dalamnya serta memiliki koloni seperti kerang (Gambar 4).



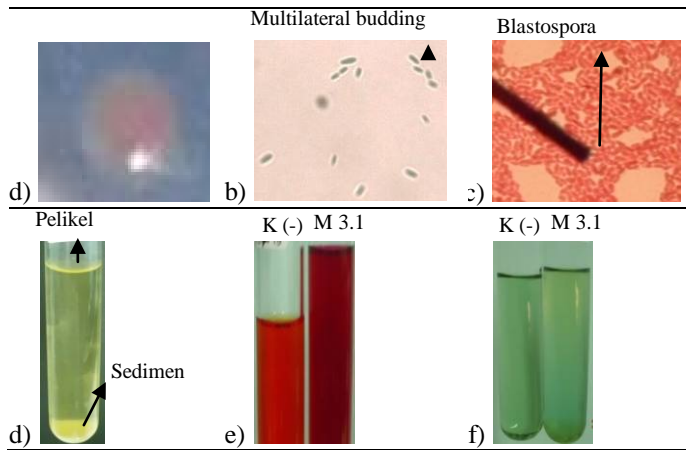
Gambar 6. Karakter Isolat M 3.2.

Keterangan : (a) koloni berbentuk sirkular dengan permukaan berbulu, (b) sel berbentuk rectangular atau empat persegi panjang, membentuk hifa sejati, (c) arthrospora yang dibentuk dari segmentasi hifa, berbentuk empat persegi panjang, (d) sedimen di dasar media, tidak ada pelikel di permukaan media, (e) urease negatif, K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (+) warna kuning, K (-) warna hijau.

5. Karakter Genus *Rhodotorula*

Rhodotorula merupakan salah satu *yeast* yang menghasilkan pigmen karotenoid. Selain itu *Rhodotorula* tidak bersifat fermentatif dan juga mampu menghasilkan urease (van-Rij, 1978; Nurhariyati *et al.*, 2004). *Rhodotorula* termasuk *yeast* yang hidup alami pada wilayah laut dan tersebar secara luas pada air laut maupun sedimen di daerah pesisir. Selain itu *Rhodotorula* adalah *yeast* oksidatif yang juga banyak ditemukan di sekitar wilayah estuari [2].

Dari hasil penelitian ini, genus *Rhodotorula* memiliki koloni berwarna merah, serta menghasilkan enzim urease dan tidak memfermentasi glukosa. Sel-selnya tampak berbentuk memanjang (Gambar 7).



Gambar 7. Karakter Isolat M 3.1.

Keterangan : (a) koloni berbentuk sirkuler, (b) sel berbentuk elongate hingga silindris, tidak membentuk pseudohifa, (c) blastospora berbentuk oval hingga elongate, (d) pelikel di permukaan media dan sedimen di dasar media, (e) urease (+) warna merah gelap, K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (-) warna hijau, K (-) warna hijau.

IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Kesimpulan penelitian ini adalah didapatkan 12 isolat *yeast* dari rhizosphere *Avicennia marina* Wonorejo yang diduga termasuk genus *Rhodotorula*, *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, dan *Geotrichum*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis S.Z. mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia sehingga naskah tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Kepada dosen pembimbing Ibu Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si., para dosen penguji Ibu Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si., Bapak Aunurohim, S.Si., DEA, dan Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si., Ibu Wirdhatul Muslihatin S.Si., M.Si. selaku Koordinator KP dan TA, dan Bapak Aunurrohim S.Si., DEA selaku dosen wali. Serta kepada keluarga, teman-teman dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian naskah tugas akhir ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan I**. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- [2] Kuttu, S.N., dan R. Phillip. 2008. **Marine Yeasts - a Review**. Review. 25: 465-483. Doi : 10.1002/yea.1599. India: Cochin University.
- [3] Rahayu, P.A. 2011. Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xilanase Isolat Kapang Tanah Wonorejo Surabaya. **Skripsi**. Surabaya: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS).
- [4] Lynch, J.M. 1990. **Introduction: Some Consequences of Microbial Rhizosphere Competence for Plant and Soil** in: Lynch, J.M. (Editors). **The Rhizosphere**. New York: John Willey and Sons, P 1-10.
- [5] van Rij, K. 1987. **The Yeasts a Taxonomic Study**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.
- [6] Kurtzman, C.P.danJ.W. Fell. 1998. **The Yeasts, A Taxonomic Study, 4th ed**. Amsterdam: Elsevier, 1055.
- [7] Loureiro, S.A., M.A.D.Q. Cavalcanti, R.P. Neves, dan J.Z.D.O. Passavante. 2005. Yeasts Isolated from Sand and Sea Water in Beaches of Olinda, Pernambuco State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** 36: 333-337.