

Karakterisasi Mikrobia Rizosfer asal Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum triangulare*) berdasarkan Gen Ribosomal 16S rRNA dan 18S rRNA

ALIMUDDIN ALI^{1*} DAN HERLINA RANTE²

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makassar

²Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

Diterima: tanggal 27 Agustus 2011 - Disetujui: tanggal 11 September 2011
© 2011 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

The rhizosphere is a biologically active zone of the soil around plant roots that contains soil-borne microbes including bacteria and fungi. The microbes were isolated from rhizosphere soil roots of Java ginseng. The population of microbes was estimated by plate count method. The isolates were identified based on a great variety of morphological, and cultural characteristics. The total of rhizosphere soil microbe population were 20.91(10⁶ cfu.g⁻¹soils) and showed that 12 isolates of bacteria, 15 isolates of actinomycetes, and 10 isolates of fungi which were found in all of soil samples. The molecular analysis of the ribosomal genes showed that the bacterial isolate, actinomycetes and fungi were closely related to of *Staphylococcus sp. DGM* (JF923460), *Streptomyces avidinii* (EU593640) and fungi *Aspergillus niger* (HQ379853), respectively.

Key words: rhizosphere, Java ginseng, 16S rRNA gene, 18S rRNA gene

PENDAHULUAN

Tanah merupakan habitat kompleks sebagai tempat terjadinya interaksi berbagai macam bakteri, fungi, protozoa dan alga. Mikrobia ditemukan hidup secara bebas atau menempel pada permukaan partikel-partikel tanah, tetapi sebagian besar bakteri tanah melakukan interaksi dengan akar-akar tanaman yang dikenal dengan istilah *rizosfer*. Rizosfer seringkali dibagi menjadi endorizosfer, rizoplan dan ektorizosfer, yaitu yang berkaitan dengan bagian jaringan akar, permukaan akar dan yang berasosiasi dengan akar (Lynch, 1990).

Pengaruh rizosfer menggambarkan fenome-

na yang terjadi sebagai interaksi antara tanah, biomassa dan aktivitas mikrobia yang meningkat sebagai akibat dari eksudasi senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh akar tanaman (Berg *et al.*, 2005). Interaksi yang amat kompleks tersebut terjadi di dalam rizosfer yaitu, interaksi antara patogen tanah dan antagonisnya menjadi bagian yang sangat penting untuk ketersediaan nutrisi dan kesehatan tanaman (Whipps, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi mikrobia yang ditemukan disekitar akar tanaman umumnya lebih besar dibanding disekitar tanah karena daerah tersebut mendukung laju pertumbuhan dan aktivitas mikrobia yang lebih tinggi dibanding dengan daerah yang jauh dari akar. Alasan utama yang dapat diterima adalah meningkatnya laju ketersediaan senyawa organik terlarut yang berasal dari eksudasi akar tanaman. Dalam hal ini yang menjadi tipikal adalah senyawa monomer karbohidrat, asam amino dan

*Alamat Korespondensi:

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri Makassar
Jln. Telp. (0967) 572115. email:
muddin_wbk02@yahoo.com

gula-gula, tetapi komposisi dan jumlah eksudat akar sangat tergantung pada spesies tanaman dan kondisi abiotik seperti kandungan air dan suhu (Söderberg & Bååth, 1998).

Mikrobial rizosfer meningkatkan eksudasi akar melalui pembentukan hormon tanaman atau secara langsung melalui kerusakan fisik akar (Grayston *et al.*, 1996). Secara umum, rizosfer kaya nutrisi secara alami melakukan kolonisasi oleh kemanfaatan mikrobial baik bakteri maupun fungi patogen yang berpengaruh pada pertumbuhan, perkembangan dan produktivitas tanaman. Beberapa interaksi antara bakteri, fungi dan akar dapat berupa manfaat, kerugian atau pengaruh netral terhadap tanaman yang sangat tergantung pada tipe interaksi simbiosis serta kondisi tanah (Smolander & Sundman, 1987).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan kajian populasi dan karakterisasi isolat mikrobial yang ditemukan pada rizosfer akar tanaman ginseng jawa berdasarkan gen ribosomal.

METODE PENELITIAN

Sampling tanah

Sampel penelitian diambil di lahan perkebunan masyarakat di Kabupaten Sidrap Sulawesi Selatan. Tanah permukaan di sekitar kanopi tanaman digali sedalam 2 cm dan dibuang. Sampel tanah diambil pada kedalaman 10 cm dari permukaan tanah dekat daerah perakaran tanaman ginseng jawa. Tanah diambil dengan menggunakan bor besi ($\Phi=1\text{cm}$) yang sebelumnya disterilisasi dengan memanaskan di atas api lampu spiritus. Sampel tanah dimasukkan ke dalam plastik polietilen steril dan disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan. Sampel tanah diambil pada beberapa titik lalu dikompositkan dan selanjutnya digunakan sebagai sampel untuk penelitian selanjutnya.

Isolasi mikrobial rizosfer

Isolasi mikrobial dilakukan dengan metode cawan permukaan (*spread plate*), sebanyak 1g tanah disuspensikan ke dalam 100 mL akuades steril lalu dishaker selama 30 menit pada

kecepatan 150 rpm. Suspensi tanah dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-6} . Sebanyak 0,1 mL suspensi tanah disebar pada permukaan media agar cawan dengan menggunakan *hockey stick* steril. Isolasi dilakukan pada beberapa jenis media bergantung jenis mikrobial yang diduga ada dalam sampel tanah tersebut. Untuk isolasi bakteri digunakan media *Tryptic Soy Agar* dan isolasi kelompok Actinomycetes digunakan media *Starch Nitrate Agar* [(20 g soluble starch, 0,5 g NaCl, 1 g KNO₃, 0,5 g K₂HPO₄.3H₂O, 0,5 g MgSO₄.7H₂O, 0,01 g FeSO₄.7H₂O, 20 g agar, 1000 mL aquades (pH 7,2-7,4) sebelum sterilisasi], sedangkan isolasi fungi digunakan media *Malt Extract Agar*. Cawan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari untuk menentukan jumlah bakteri dan fungi, sedangkan untuk kelompok Actinomycetes dilakukan inkubasi selama 21 hari. Penentuan jumlah mikrobial dalam sampel digunakan replikasi sebanyak 3 kali.

Perhitungan jumlah mikrobial pada setiap cawan mengacu pada metode *Standard Plate Count* (cfu/g tanah). Isolasi mikrobial yang menunjukkan koloni yang berbeda pada setiap cawan dilakukan pada media yang sama secara berulang-ulang sampai diperoleh koloni tunggal yang menunjukkan kemurnian isolat. Isolat yang telah murni *distreak* pada media agar miring untuk digunakan sebagai stok penelitian selanjutnya.

Karakterisasi isolat

Semua isolat yang diperoleh dilakukan karakterisasi secara morfologi melalui analisis mikroskopik. Pengamatan mikroskopik isolat bakteri dilakukan melalui pengecatan sederhana menggunakan metilen blue untuk mengetahui bentuk sel bakteri, sedangkan pengamatan mikroskopik sel Actinomycetes kelompok genera *Streptomyces* dan fungi dilakukan setelah dibuat *slide culture*. Karakterisasi koloni Actinomycetes dilakukan melalui analisis pembentukan warna (*color grouping*) pada media ISP3 (*oatmeal agar*). Isolat terpilih dilakukan analisis fisiologi (biokimiawi) lebih lanjut serta analisis gen ribosomal untuk penentuan filogenetik dari isolat terpilih.

Analisis filogenetik isolat terpilih

Masing-masing isolat terpilih yang mewakili kelompok bakteri, actinomycetes dan fungi dilakukan analisis sekuen gen ribosomal. Isolat actinomycetes ditumbuhkan selama 5 hari pada suhu 30°C dalam 100 mL media ISP2 pada labu erlenmeyer 500 mL dan diberi agitasi (100 rpm), sedangkan isolat fungi menggunakan media *Potato Dextrose Broth*. Selanjutnya untuk isolat bakteri ditumbuhkan ke dalam media *Nutrient broth* selama 24 jam pada suhu 37°C. Biomassa diunduh dengan menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 20 menit. Pelet yang diperoleh dicuci dua kali dengan aquabides. Selanjutnya pelet tersebut digunakan untuk ekstraksi DNA dengan mengikuti langkah sebagai berikut: sampel dicampur dalam 800 µL larutan lisis cair (100 mmol/L Tris-HCl, pH7; 20 mmol/L EDTA; 250 mmol/L NaCl; 2% m/v SDS; 1 mg/mL Lysozim), 5 µL larutan 50 mg/mL RNase ditambahkan, selanjutnya suspensi diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit.

Setelah itu ditambahkan 10 µL larutan proteinase K (50 mg/mL) dan larutan lisis diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Lisat diekstraksi dengan fenol dengan volume yang sama dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Lapisan cairan (supernatan) diekstraksi kembali dengan fenol (50%-50% v/v), kemudian dengan kloroform (50%-50% v/v). DNA diperoleh dari fase cair melalui penambahan NaCl (150 mmol/L konsentrasi akhir) dan 2 kali volume etanol 95% v/v dingin sebelum disentrifugasi. Presipitat DNA dibersihkan dengan 50 µL etanol 70% v/v, lalu disentrifugasi (13.000 rpm 10 menit), diresuspensi dengan 50 µL buffer TE (10 mmol/L Tris-HCl pH 7,4; 1 mmol/L EDTA, pH 8) dan disimpan pada suhu -20°C. Kemurnian larutan DNA di cek dengan menggunakan spektrofotometer pada λ_{260} dan λ_{280} nm, jumlah DNA diukur pada λ_{260} nm.

Amplifikasi Sekuen 16S rRNA

Sekuen gen 16S rRNA untuk bakteri dan Actinomycetes diamplifikasi dengan menggunakan metode PCR dengan *Taq DNA Polimerase* dan

primer 27f (5'AGAGTTTGGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492r (5'GGTTACCTTGTACGACTT-3'). Kondisi termal siklus diatur sebagai berikut: denaturasi DNA target pada suhu 96°C selama 3 menit dilanjutkan dengan 30 siklus pada suhu 94°C selama 1 menit, annealing primer pada suhu 56°C selama 1 menit, dan ekstensi primer pada suhu 72°C selama 5 menit. Pada akhir siklus, reaksi pencampuran diatur pada suhu 72°C selama 5 menit dan selanjutnya didinginkan pada suhu 4°C.

Sekuen gen 18S rRNA untuk kelompok fungi diamplifikasi dengan menggunakan metode PCR dengan *Taq DNA Polimerase* dan primer 18F (5' CTTGTAACCGCGTCGTGATG-3') dan 18R (5' GACGTAATCAACGCGAGCTGAT-3'). Kondisi termal siklus diatur sebagai berikut: denaturasi DNA target pada suhu 95°C selama 3 menit dilanjutkan dengan 30 siklus pada suhu 94°C selama 1 menit, annealing primer pada suhu 54°C selama 1 menit, dan ekstensi primer pada suhu 72°C selama 5 menit. Pada akhir siklus, reaksi pencampuran diatur pada suhu 72°C selama 5 menit dan selanjutnya didinginkan pada suhu 4°C.

Hasil amplifikasi PCR dideteksi dengan menggunakan gel elektroforesis agaros dan divisualisasi dengan UV *fluorescen* setelah diberi warna dengan etidium bromida.

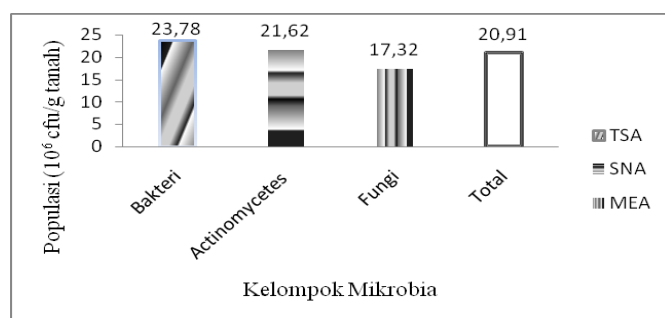
Data sekuen gen 16S rRNA dan 18S rRNA isolat terpilih dilakukan *alignment sequence* dengan menggunakan program CLUSTAL-X versi 1.6 (Thompson *et al.*, 1997). Pohon filogeni dikonstruksi dengan membandingkan sekuen gen yang diperoleh dari Genbank DNA database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Pohon filogeni dikonstruksi dengan menggunakan program Phylip versi 3.5 dengan algoritma *neighbour joining* (Saitou & Nei, 1987). Pohon filogeni divisualisasi dengan program Treeview. Posisi akar pada pohon tanpa akar (*unrooted*) ditentukan berdasarkan metode *neighbour joining*. Selanjutnya matrik similaritas dan perbedaan jumlah nucleotida gen ribosomal antar tipe spesies dari database dianalisis dengan program Phytit (*The Phylogenetic Molecular Sequences Editor*) versi 3,0 (Chun, 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi mikrobial

Hasil analisis jumlah mikrobial yang dicuplik pada sampel tanah rizosfer tanaman ginseng jawa menunjukkan bahwa ada 20,91 (10^6 cfu.g⁻¹ tanah) total jumlah dari 3 jenis mikrobial. Bakteri merupakan kelompok mikrobial yang menunjukkan jumlah terbesar dan sebaliknya yang paling kecil adalah kelompok fungi (Gambar 1). Kelompok Actinomycetes diperoleh jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan fungi. Hal ini menunjukkan bahwa daerah rizosfer tanaman ginseng merupakan habitat yang cocok untuk pertumbuhan berbagai jenis mikrobial. Penelitian tentang keragaman mikrobial pada daerah rizosfer beberapa jenis tanaman khususnya yang bernilai medis (pengobatan) telah dilaporkan oleh Karthikeyan *et al.* (2008). Populasi mikrobial pada daerah rizosfer jauh lebih besar dibandingkan dengan daerah nonrizosfer pada 4 tumbuhan



Gambar 1. Populasi kelompok mikrobial berdasarkan jenis media.

bernilai medis. Jumlah populasi mikrobial yang ditemukan tersebut tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian yang dilaporkan pula oleh Macrae *et al.*, (2000) yaitu berkisar antara 16,64-23,33 (10^6 cfu.g⁻¹ tanah).

Karakterisasi koloni

Hasil karakterisasi morfologi secara mikroskopik terhadap koloni bakteri yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan karakter yang cukup besar diantara kelompok bakteri tersebut (Tabel 1). Perbedaan ini belum dapat dipastikan dalam kelompok genera atau spesies. Meski demikian data ini dapat disimpulkan bahwa keragaman bakteri pada daerah rizosfer tumbuhan ginseng jawa cukup tinggi. Menurut Marschner *et al.* (2002) bahwa bakteri ditemukan pada beberapa tipe tanah namun populasinya dapat saja bervariasi tergantung pengaruh tekstur atau substrat organik yang ada dalam tanah tersebut. Kemampuan beradaptasi dalam lingkungan rizosfer dapat pula disebabkan oleh banyaknya eksudat yang disekresikan oleh tanaman yang menguntungkan untuk pertumbuhan mikrobial tersebut.

Hasil kajian ini menunjukkan pula bahwa bakteri *Bacillus* spp mendominasi populasi kelompok bakteri yang ditemukan pada rizosfer tanaman ginseng jawa tersebut. Hasil ini sejalan yang dilaporkan oleh Felske *et al.* (1998) bahwa kajian molekuler yang dilakukan menunjukkan komunitas rizobakter tanah didominasi oleh kelompok bakteri *Bacillus* aerobik pembentuk

Tabel 1. Karakteristik koloni dan karakter mikroskopik isolat bakteri.

Kode isolat	Karakteristik koloni setelah 5 hari pada media TSA				Karakteristik mikroskopik	Identifikasi dugaan genus
	Ukuran (mm)	Permukaan koloni	Pinggir koloni	Warna koloni		
BGJ1	2	Convex rugose	Lobate	Putih	Batang rantai	<i>Streptobacillus</i> sp
BGJ2	4	Convex rugose	Crenate	Kuning muda	Batang panjang	<i>Bacillus</i> sp
BGJ5	4	Convex rugose	Fimbriate	Kuning tua	Bulat rantai	<i>Streptococcus</i> sp
BGJ6	2	Convex rugose	Lobate	Krem	Batang pendek	<i>Bacillus</i> sp
BGJ9	6	Convex	Fimbriate	Merah muda	Batang pendek	<i>Serratia</i> sp
BGJ16	4	Convex	Entire	Kuning	Tandan anggur	<i>Staphylococcus</i> sp
BGJ18	7	Convex	Entire	Putih	Tandan anggur	<i>Staphylococcus</i> sp
BGJ21	3	Convex rugose	Entire	Putih susu	Batang	<i>Pseudomonas</i> sp
BGJ23	4	Convex fimbriate	Lobate	Kecoklatan	Batang pendek	<i>Bacillus</i> sp
BGJ24	3	Fulminate	Crenate	Kuning	Bulat sendiri-sendiri	<i>Micrococcus</i> sp
BGJ25	6	Convex rugose	Lobate	Kuning	Batang panjang	<i>Bacillus</i> sp
BGJ27	5	Convex rugose	Lobate	Abu-abu	Batang panjang	<i>Bacillus</i> sp

Table 2. Karakteristik koloni dan karakter mikroskopik isolat Actinomycetes.

Kode isolat	Karakteristik koloni setelah 7 hari pada media ISP3			Pigmen terlarut	Karakteristik mikroskopik	Identifikasi dugaan genus
	Ukuran (mm)	Miselium udara	Miselium substrat			
AGJ3	2	-	-	Kuning	Bulat	<i>Micromonospora</i> sp
AGJ4	2	Abu-abu	Coklat	-	Rantai spora spiral	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ5	3	Putih	Abu-abu	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ8	5	Coklat	Coklat tua	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ11	4	Putih	Coklat	Kuning	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ12	4	Abu-abu	Abu-abu	Coklat	Rantai spora lurus	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ14	7	Abu-abu	Coklat	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ15	5	Putih	Coklat abu-abu	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ16	2	Kuning	Coklat	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ17	3	Putih	Coklat	-	Rantai spora lurus	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ19	4	Coklat	Hitam	Merah muda	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ21	4	Putih	Abu-abu	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ23	5	Coklat muda	Coklat tua	-	Rantai spora lurus	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ27	7	Abu-abu	Coklat muda	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp
AGJ31	6	Abu-abu	-	-	Spiral dan rantai spora memanjang	<i>Streptomyces</i> sp

Table 3. Karakteristik koloni dan karakter mikroskopik isolat fungi

Kode isolat	Karakteristik koloni setelah 5 hari pada media MEA		Identifikasi dugaan genus
	Ukuran (mm)	Warna koloni	
FGJ1	5	Abu-abu	<i>Aspergillus</i> sp
FGJ6	7	Hitam	<i>Aspergillus</i> sp
FGJ13	7	Hijau tua	<i>Penicillium</i> sp
FGJ14	6	Coklat	<i>Penicillium</i> sp
FGJ15	5	Kuning	<i>Aspergillus</i> sp
FGJ17	5	Putih	<i>Fusarium</i> sp
FGJ22	5	Oranye	<i>Cladosporium</i> sp
FGJ23	8	Abu-abu	<i>Aspergillus</i> sp
FGJ27	8	Hitam	<i>Aspergillus</i> sp
FGJ27	2	Putih	<i>Saccharomyces</i> sp

spora.

Hal yang berbeda ditunjukkan oleh kelompok Actinomycetes seperti tertera pada Tabel 2. Secara umum genus *Streptomyces* spp menunjukkan jumlah paling dominan dari seluruh isolat yang ditemukan tumbuh pada media isolasi. Kelompok ini ditandai dengan koloni yang menyerupai beludru setelah berumur satu minggu akibat pembentukan rantai spora. Lee & Hwang (2002) mendapatkan 50% dari 1510 actinomycetes yang diisolasi dari berbagai lokasi di Korea adalah *Streptomyces* spp. Hal yang sama dilaporkan oleh Lemriss *et al.* (2003) bahwa genus *Streptomyces* merupakan genus yang paling dominan dari semua sumber actinomycetes yang mencapai 49% dari 54 isolat menunjukkan aktivitas sebagai antifungi. Dominansi populasi yang ditunjukkan oleh actinomycetes khususnya genus *Streptomyces*

spp disebabkan oleh kemampuan tumbuh yang cepat dan memiliki keragaman metabolit sehingga mampu melakukan adaptasi dan kompetisi di lingkungan atau habitatnya.

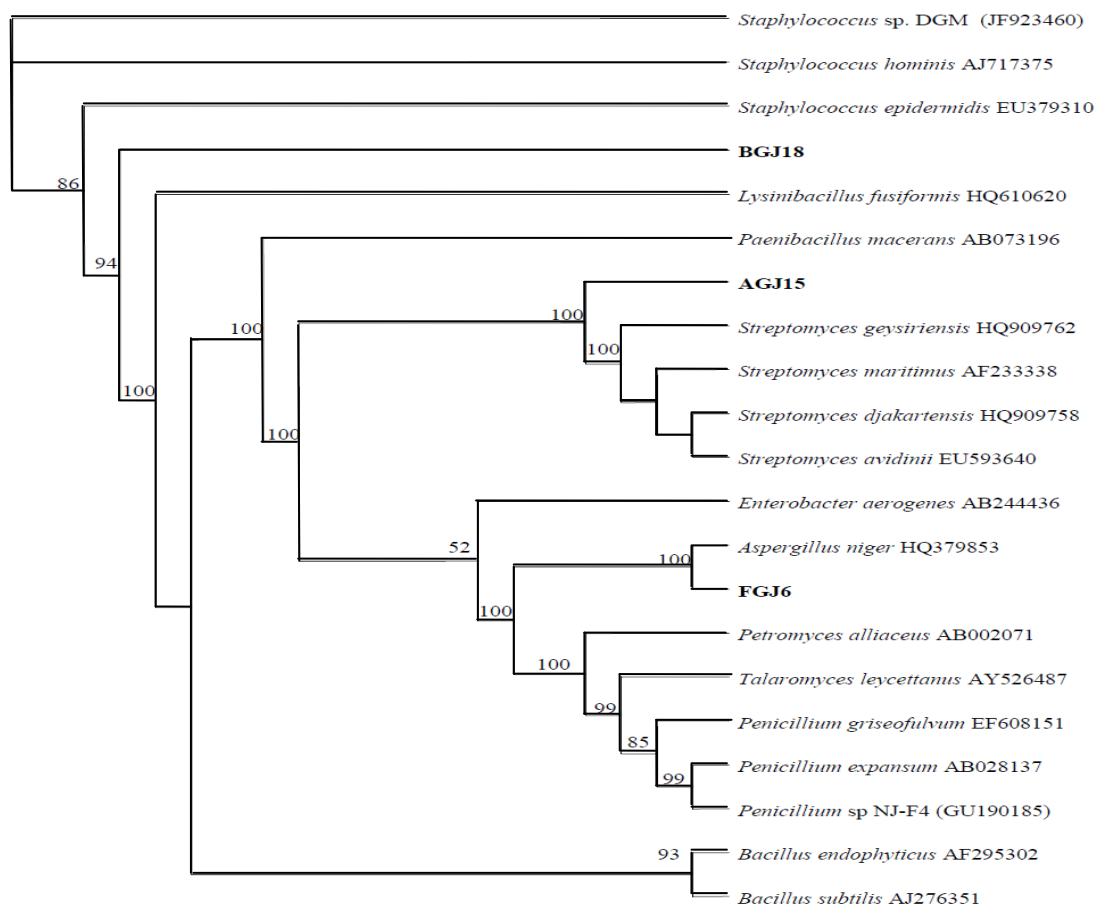
Kelompok fungi yang ditemukan umumnya adalah kelompok multiseluler sedangkan satu koloni yang diidentifikasi sebagai kelompok uniseluler (Tabel 3). Hasil karakterisasi fungi menunjukkan adanya perbedaan karakter yang ditemukan. Identifikasi parsial ini belum dapat dijadikan acuan untuk menentukan kelompok genera atau spesies dari fungi yang berbeda. Secara umum kemampuan adaptasi fungi kelompok multiseluler lebih tinggi dibandingkan dengan uniseluler. Hal ini disebabkan oleh pembentukan miselium dan spora yang cepat yang memungkinkan dapat mendominasi baik substrat maupun populasi.

Karakterisasi dan analisis filogenetik isolat terpilih

Hasil karakterisasi isolat terpilih dari bakteri dengan kode isolat BGJ18 menunjukkan kesamaan morfologi sel dengan genera *Staphylococcus* sp, yaitu sel berbentuk bulat tandan anggur. Hasil amplifikasi gen 16S rRNA menunjukkan hasil yang bersesuaian dengan strain acuan yaitu *Staphylococcus* sp. DGM. Hal ini menunjukkan bahwa isolat BGJ18 memiliki kedekatan secara genetik dengan strain acuan tersebut. Selanjutnya untuk isolat dengan kode AGJ15 menunjukkan karakter koloni genera *Streptomyces* spp yang ditandai dengan morfologi ranta spora spiral. Hasil amplifikasi gen 16S rRNA menunjukkan

hasil yang bersesuaian dengan strain acuan yaitu *S. avidinii* (EU593640).

Berdasarkan jumlah nukleotida yang berbeda dari kedua isolat bakteri dan Actinomycetes terpilih (BGJ18 dan AGJ15), maka terlihat bahwa pada Tabel 4 (similaritas) jumlah nukleotida antara isolat BGJ18 dengan *Staphylococcus* sp. DGM ada 7 dari 1387. Selanjutnya perbedaan antara *S. djakartensis* (HQ909758) dengan *S. avidinii* (EU593640) yang berbeda 1 dari 1441 sudah menunjukkan sebagai spesies yang berbeda. Oleh karena itu, maka kedua isolat mikrobial terpilih tersebut dapat dinyatakan status kebaruannya. Hal yang sama ditunjukkan oleh isolat fungi FGJ6 yang memiliki ciri morfologi mirip dengan genera



Gambar 2. Pohon filogeni yang dikonstruksi berdasarkan algoritma *Neighbour-joining* (Saitou & Nei, 1987) yang menunjukkan hubungan kekerabatan antara strain mikrobial rizosfer terpilih dengan strain acuan atas dasar *sequence* gen 16S rRNA dan 18S rRNA. Angka pada percabangan mengindikasikan nilai *bootstrap* (%) berdasarkan analisis *Neighbour-joining* dengan 1000 kali replikasi. Tanda panah mengindikasikan perkiraan posisi akar pohon filogeni. Jarak skala mengindikasikan jumlah perubahan yang diharapkan 1 per 100 nukleotida per posisi *sequence* gen ribosomal (Hahn *et al.*, 1999).

Tabel 4. Nilai similaritas (%) dan jumlah nukleotida berbeda dalam *sequence* gen 16S rRNA dan 18S rRNA antara isolat terpilih dengan strain acuan (database Genebank).

	<i>Streptomyces djakartensis</i> HQ909758	<i>Streptomyces avidinii</i> EU593640	AGJ15 <i>Staphylococcus sp. DGM</i> (JF923460)	BGJ18 <i>Staphylococcus hominis</i> AJ717375	<i>Enterobacter aerogenes</i> AB244436	<i>Aspergillus niger</i> HQ379853	FGJ6		
<i>Streptomyces djakartensis</i>	99.93	1/1441	12/1409	285/1415	273/1353	315/1416	676/1132	399/664	
<i>Streptomyces avidinii</i>	100.00	---	12/1414	286/1439	272/1353	288/1463	317/1423	675/1129	399/664
AGJ15	91.22	91.30	---	364/1398	340/1345	364/1398	380/1391	672/1116	401/664
<i>Staphylococcus sp. DGM</i>	79.97	80.13	73.96	---	7/1387	0/1482	336/1449	675/1150	391/662
BGJ18	79.94	79.90	74.72	99.50	---	7/1387	318/1372	637/1082	391/662
<i>Staphylococcus hominis</i>	80.08	80.31	73.96	100.00	99.50	---	338/1457	689/1168	391/662
<i>Enterobacter aerogenes</i>	77.79	77.72	72.68	76.81	76.82	76.80	---	709/1147	407/661
<i>Aspergillus niger</i>	40.21	40.21	39.78	41.30	41.13	41.01	38.19	---	15/698
FGJ6	39.91	39.91	39.61	40.94	40.94	40.94	38.43	97.85	---

Aspergillus spp, maka hasil analisis gen ribosomal tersebut menunjukkan kesesuaian dengan hasil sekuensing dan analisis filogenetik dengan strain acuan *Aspergillus niger* HQ379853 (Gambar 2).

KESIMPULAN

Keragaman mikrobia pada tanaman ginseng jawa cukup tinggi dengan populasi bakteri yang lebih besar dibandingkan kelompok Actinomycetes dan fungi. Karakterisasi secara molekular dari gen ribosomal menunjukkan bahwa isolat bakteri terpilih merupakan genera yang memiliki kekerabatan secara evolusioner dengan *Staphylococcus sp. DGM* (JF923460), isolat Actinomycetes dengan *Streptomyces avidinii* (EU593640) dan fungi dengan *Aspergillus niger* (HQ379853).

DAFTAR PUSTAKA

- Berg, G., K. Opelt, C. Zachow, J. Lottmann, G.C. Monika, and K. Smalla. 2006. The rhizosphere selection bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium diers* depending on plant species and site. *FEMS Microbiol Ecol.* 56: 250-261.
- Chun, J. 1999. *PHYDIT (The Phylogenetic Editor) Version 3.0. User' Manual.*
- Felske, A., A. Wolterink, R. Lis, and A.D.L. Akkermans. 1998. Phylogeny of the main bacterial 16S rRNA sequences in a Drentse grassland soils (The Netherlands). *Appl Environ Microbiol.* 54: 871-879.
- Hahn, D., A. Nickel and J. Dawson. 1999. Assessing Frankia populations in plants and soil using molecular methods. *FEMS Microbiol Ecol.* 29: 215-227.
- Getha, K. and S. Vikinesway. 2005. Evaluation of *Streptomyces sp.* Strain g 10 for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *J. Ind Microbiol Biotechnol* 32(1): 24-32.
- Grayston, S.J., D. Vaughan and D. Jones. 1996. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Appl Soil Ecol.* 5: 29-56.
- Karthikeyan, B., A.C. Jaleel, G.M.A. Lakshmanan, and M. Deiveekasundaram. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 62: 143-145.
- Lee, J.P and B.K. Hwang. 2002. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetatif soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology.* 48: 407-417.
- Lemriss, S., F. Laurent, A. Couble, E. Casoli, J.M. Lancelin, D.S. Bonaccio, S. Rifai, A. Fassauane and P. Boiron. 2003. Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of Actinomycetes. *Canadian Journal of Microbiology.* 49(11): 669-674.

- Lynch, J.M. 1990. *The Rhizosphere*, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK.
- Macrae, A., D.L. Rimmer and A.G. O'Donnell. 2000. Novel bacterial diversity recovered from the rhizosphere of oilseed rape (*Brassica napus*) determined by the analysis of 16S ribosomal DNA. *Antonie van Leeuwenhoek*. 78: 13-21.
- Marschner, P., N. Günter, K. Angelika, W. Laure, and L. Reinhard. 2002. Spatial and temporal dynamics of the microbial community structure in the rhizosphere of cluster roots of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Soil* 246: 167-174.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The Neighbour-joining method : A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees, *Molecular Biology & Evolution* 4: 406-426.
- Smolander, A. and V. Sundman. 1987. Frankia in acid soils of forests devoid of actinorhizal plants. *Physiol Plant*. 70: 297-303.
- Söderberg, K.H. and E. Bååth. 1998. Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. *Soil Biol Biochem*. 30: 1259-1268.
- Suzuki, S.I., T. Okuda, and S. Komatsubara. 2000. Selective isolation and distribution of *Actinobispora* strain in soil. *Canadian Journal of Microbiology*. 46: 708-715.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins and T.J. Gibson. 1994. *Clustal X Version 1.6. User Manual*.
- Whipps, J. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J Expr Bot*. 52: 487-511.