

Isolasi Bakteri Endofit dari Batang Karet (*Hevea brasiliensis*) dan Potensinya dalam Menekan Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* dalam Medium Fermentasi

Tetty Marta Linda¹, Bunga Philia Suci Pratiwi¹, Windi Dona², Atria Martina¹, Wahyu Lestari¹, Hapsoh²

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau

²Prodi Agronomi Fakultas pertanian Universitas Riau

Email: tetty.martalinda@gmail.com

Abstrak

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman seperti akar, batang dan daun tanpa membahayakan inangnya. Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri endofit dari jaringan batang tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) dan mengetahui kemampuannya dalam menekan pertumbuhan jamur patogen *Rigidoporus microporus* dalam medium fermentasi. Hasil isolasi diperoleh 16 isolat bakteri. Skrining daya hambat isolat bakteri endofit terhadap *R. microporus* diperoleh 3 isolat potensial yaitu: isolat B14, isolat B 46 dan isolat B49. Persentase daya hambat masing-masing isolate bakteri endofit adalah isolat B49: 82.47%, isolat B46: 18.56% dan isolat B14: 8.76% terhadap pertumbuhan *R. microporus*. Ke tiga bakteri endofit lokal ini dapat dikembangkan sebagai biokontrol pada tanaman karet.

Kata Kunci:

batang,
bakteri endofit,
Rigidoporus microporus,
tanaman karet

PENDAHULUAN

Bakteri endofit dapat ditemui pada bagian tanaman seperti akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Berbagai penelitian menunjukkan peran penting dari endofit, yaitu mengurangi kerusakan penyakit (Resti *et al.* 2013), meningkatkan penyerapan mineral oleh tanaman (Mallinowski *et al.* 2000), meningkatkan pertumbuhan tanaman (Hidayati *et al.* 2014), toleransi terhadap NaCl (Gayathri 2013) dan mempengaruhi mekanisme pertahanan tumbuhan karena memiliki senyawa antibakteri dan senyawa metabolit sekunder (Pratiwi 2015).

Salah satu metabolit bakteri endofit yang potensial yaitu produksi antifungal untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen. Beberapa bakteri endofit yang berhasil diisolasi di antaranya dari pisang yaitu *Micrococcus endophyticus*, *Bacillus safensis* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp.cubense (Sekhar & Tomas 2015). Abila *et al.* (2015) juga berhasil mengisolasi bakteri endofit dari *Mentha rotundifolia* L. yang memiliki kemampuan antagonis terhadap *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* dan *Botrytis cinerea*.

Salah satu penyakit yang menyerang tanaman karet adalah penyakit jamur akar putih (JAP) yang disebabkan oleh *Rigidoporus microporus* (Situmorang & Budiman 2003). Serangan penyakit ini mengakibatkan kematian pada tanaman dan menginfeksi tanaman karet lainnya

(Siagian 2015). *R. microporus* menyerang akar karet dengan mengeluarkan enzim ekstraseluler yang dapat merusak akar tanaman dan masuk melalui luka pada akar tersebut ke jaringan tanaman karet. Eksplorasi mikroba untuk mengatasi penyakit JAP dilakukan tidak hanya mikroba di rizosfer, tetapi juga mikroba di dalam tanaman (endofit). *Bacillus cereus* merupakan salah satu bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman karet menghasilkan hormon IAA, giberelin, sitokinin, dan sitokinin (Hidayati *et al.* 2014). Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri endofit dari kulit batang tanaman karet dan mengetahui kemampuannya dalam menekan pertumbuhan *Rigidoporus microporu* pada medium fermentasi.

METODE

Isolasi bakteri endofit dari batang karet

Bakteri endofit dari kulit batang karet diisolasi dengan metode penggerusan. Kulit batang karet yang telah disterilisasi permukaan dikeringkan dengan tisu steril. Sebanyak 1 g sampel dihaluskan dengan mortar steril dan dilakukan tingkat pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} menggunakan larutan garam fisiologi. Selanjutnya ditumbuhkan dalam medium Nutrient Agar (NA) pada cawan petri lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Masing-masing koloni bakteri yang tumbuh dipindahkan dalam medium NA yang baru sehingga diperoleh koloni tunggal (Hidayati *et al.* 2014).

Karakterisasi Parsial Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit yang telah murni selanjutnya diamati morfologi koloni warna koloni, bentuk koloni, elevasi dan tepian koloni. Selain itu juga diamati bentuk sel dan pewarnaan Gram juga dilakukan (Hadioetomo 1993).

Uji Skrining Isolat Bakteri Endofit terhadap *Rigidoporus microporus*

Bakteri endofit hasil isolasi dari kulit karet selanjutnya di skrining kemampuan daya hambat terhadap jamur *Rigidoporus microporus* dengan teknik dual kultur. Potongan disk jamur *R. microporus* (umur 5 hari) diinokulasikan pada tengah cawan petri yang berisi medium NA. Selanjutnya masing-masing potongan disk isolat bakteri endofit berumur 24 jam diinokulasikan pada empat sisi bagian tepi cawan petri dengan jarak 2,5 cm dari jamur. *Rigidoporus microporus* yang diinokulasi pada medium NA tanpa perlakuan digunakan sebagai kontrol (Zhang *et al.* 2016). Cawan petri selanjutnya diinkubasi selama lima hari pada suhu ruang dan daya hambat diamati yaitu berkurangnya miselium *Rigidoporus microporus* berbanding kontrol.

Uji Bakteri Endofit dalam Menekan Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* dalam Media Fermentasi

Kemampuan isolat bakteri endofit dalam menekan pertumbuhan *R. microporus* dalam media fermentasi diuji dengan menambahkan *R. microporus* (10^8 cfu/ml) dan bakteri endofit (10^8 cfu/ml) masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam 100 mL *Potato Dextrosa Broth* (PDB) secara aseptis. Selanjutnya medium diinkubasi selama lima hari pada suhu ± 28 °C di atas *shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Pada akhir inkubasi, massa jamur dipisahkan dari medium PDB dengan kertas Whatmann No. 42 (yang telah dikeringkan dan ditimbang berat awal W_1). Massa jamur saat penyaringan berada

pada bagian atas kertas saring lalu dikeringkan pada suhu 80 °C di dalam oven. Selanjutnya ditimbang berat kering biomassa jamur (W_2) (Nasrun *et al.* 2005).

Rumus untuk menghitung berat kering jamur yaitu:

$$W_T = W_2 - W_1$$

Keterangan:

W_T = Total berat kering jamur setelah diberi perlakuan bakteri endofit (gr)

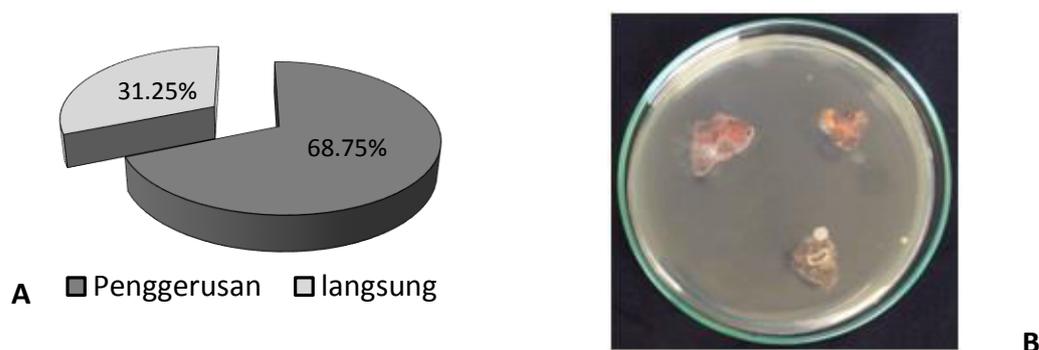
W_2 = Berat kering jamur setelah diberi perlakuan bakteri endofit (gr)

W_1 = Berat kering awal dari kertas Whatmann No. 42 (gr)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi Bakteri Endofit dari Batang Karet dengan Metode Langsung dan Gerusan

Sebaran isolat bakteri endofit yang diisolasi kulit batang tanaman karet dari dua teknik isolasi yang berbeda memiliki jumlah yang berbeda. Pada teknik penggerusan diperoleh isolat bakteri endofit yaitu 11 isolat (68,75%) (Gambar 1A) lebih banyak dibandingkan dengan teknik isolasi langsung yang 5 isolat (31,25%). Hal ini dikarenakan menggunakan metode penggerusan jaringan tanaman rusak sehingga bakteri endofit dalam jaringan tanaman akan keluar untuk memperoleh nutrisi dan tumbuh dalam media dalam bentuk koloni, sedangkan penggunaan teknik isolasi langsung menyebabkan tidak semua bakteri endofit yang dapat diisolasi atau dikulturkan dan isolat yang tumbuh hanya disekitar sampel (Gambar 1B). Menurut Hallmann *et al.* (1997) bakteri endofit hidup dalam jaringan vaskular tanaman. Penelitian Hidayati *et al.* (2014) mengisolasi 117 isolat bakteri endofit dari tanaman karet menggunakan metode penggerusan yang ditumbuhkan pada medium NA dan *Tryptic Soya Agar* (TSA). Dipihak lain, Abraham *et al.* (2013) mendapatkan 252 isolat bakteri endofit dari tanaman karet yang diisolasi dari berbagai lokasi di India menggunakan metode penggerusan dan ditumbuhkan pada medium TSA. Hal ini menunjukkan bahwa teknik isolasi dan media yang digunakan mempengaruhi jumlah isolat bakteri endofit yang diperoleh.



Gambar. A. Sebaran jumlah isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman karet berdasarkan teknik isolasi. B Isolasi bakteri endofit dari kulit batang karet menggunakan metode langsung

Karakterisasi Parsial Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman kulit Batang Karet

Hasil karakterisasi parsial umumnya isolat yang diperoleh memiliki warna putih, bentuk koloni bundar, elevasi datar dan tepian datar dengan bentuk sel batang. Hasil pewarnaan Gram 10 isolat Gram positif dan 6 isolat Gram negatif seperti pada Tabel 1.

Hasil karakterisasi parsial ini sejalan dengan penelitian Hidayati *et al.* (2014) yang mengisolasi bakteri endofit dari tanaman karet di Sumatera Selatan dan memperoleh bakteri endofit umumnya berbentuk batang dan Gram negatif. Penelitian pada tanaman berbeda seperti tanaman kelapa sawit telah dilakukan oleh Ramli *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa 78% dari total isolat bakteri endofit merupakan bakteri Gram negatif.

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri endofit dari tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) dan karakterisasi parsial

No	Kode Isolat	Karakterisasi				
		Warna permukaan atas	Warna permukaan bawah	Tepian	Bentuk sel	Gram
1	B13	putih	putih	undulate	bulat	positif
2	B14	putih	putih	undulate	bulat	positif
3	B15	putih	putih	entire	batang	negatif
4	B16	putih	putih	undulate	bulat	negatif
5	B17	putih	putih	entire	bulat	positif
6	B18	putih	putih	entire	bulat	negatif
7	B30	kuning	kuning	undulate	batang	positif
8	B31	putih	putih	entire	batang	positif
9	B32	putih	putih	lobate	bulat	negatif
10	B33	putih	putih	entire	batang	positif
11	B45	putih susu	putih susu	entire	batang	positif
12	B46	putih susu	putih susu	entire	bulat	negatif
13	B47	putih susu	putih susu	undulate	batang	positif
14	B48	putih susu	putih susu	entire	batang	negatif
15	B49	putih susu	putih susu	undulate	batang	positif
16	.B50	putih susu	putih susu	entire	batang	positif

Hasil Skrinning Isolat Bakteri Endofit terhadap *Rigidoporus microporus*

Isolat bakteri endofit diuji kemampuan aktivitas antifungal terhadap *R. microporus*. Uji ini dilakukan untuk menyeleksi isolat-isolat bakteri endofit yang memiliki sifat antifungal terhadap *R. microporus*. Hasil penelitian ini diperoleh tiga isolate yaitu B14, B46 dan B49 Ketiga isolat ini merupakan hasil isolasi menggunakan teknik penggerusan. Daya hambat dengan metode ini ditunjukkan dengan *R. microporus* dengan perlakuan bakteri endofit mengalami penurunan pertumbuhan miseliumnya yakni sebesar 1,25 cm sedangkan pertumbuhan *R. microporus* kontrol lebih besar yaitu 2,14 cm. Menurut Kusdiana (2011) daya hambat yang dihasilkan isolat bakteri endofit diduga terjadi mekanisme lisis atau antibiosis terhadap patogen. Tiga belas isolat endofit lainnya diduga memiliki kemampuan daya hambat terhadap jamur patogen lainnya.

Kemampuan Bakteri Endofit dalam menekan Pertumbuhan *Rigodoporus microporus* dalam Media Fermentasi

Hasil penelitian ini menunjukkan pengaruh bakteri endofit dari batang karet B49 paling potensial menekan pertumbuhan *R. microporus* ditandai dengan biomassa *R. microporus* paling sedikit (113.33 mg) berbanding kontrol (646.67 mg) seperti pada Tabel 2. Berbeda biomassa *R. microporus* dari masing-masing isolate uji diduga masing-masing isolate menghasilkan metabolit sekunder dengan kandungan dan konsentrasi yang dihasilkan berbeda. Menurut Nakeaw *et al.* 2015 isolate bakteri endofit menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti enzim kitinase dan siderofor.

Tabel 2. Biomasa *R. microporus* yang diinokulasikan bakteri endofit dalam Media Fermentasi setelah inkubasi 5 hari

Isolat uji	Biomassa <i>R. microporus</i> (mg)	Daya hambat (%)
Kontrol	646.67	-
B49	113.33	82.47
B46	526.67	18.56
B14	590.00	8.76

Persentase daya hambat dari ketiga bakteri endofit ini adalah isolate B49 sebesar 82.47%, isolate B46 sebesar 18.56% dan B14 sebesar 8.76%. Isolat yang memiliki daya hambat tertinggi yaitu B49. Persentase daya hambat hasil penelitian Nasrun dan Nurmansyah (2015) menggunakan strain *Bacillus* dan *Pseudomonas* hasil isolasi dari rizosfer karet mampu menghambat *R.microporus* sebesar 72.69-90.94% dengan menggunakan lebih sedikit inokulum *R.microporus* berbanding penelitian ini. Oleh karena itu persentase daya hambat dapat dipengaruhi oleh jenis isolat, konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi. Kemampuan bakteri menekan pertumbuhan. Menurut Li *et al.* (2012) kemampuan bakteri endofit dalam menekan patogen melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan diantaranya pertumbuhan bakteri yang cepat dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti kitinase, proteinase, glukonase dan lipase.

SIMPULAN

Berhasil diisolasi 16 isolat bakteri endofit dari kulit batang tanaman karet, tiga isolate (B49, B46 dan B14) diantaranya yang dapat menekan pertumbuhan *R.microporus*. Isolat B49 memberikan persen daya hambat tertinggi yaitu 82.47% terhadap pertumbuhan *R.microporus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Riset dan Penelitian Masyarakat, Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, teknologi dan Pendidikan Tinggi pada skim STRANAS-Institusi dengan kontrak no: 322/UN.19.5.1.3/PP/2018.

DAFTAR RUJUKAN

Abla E, Souad E, Abdelhadi H, Bazdi O, Khadija O. 2015. Antagonistic Activity of Endophytic

-
- Bacteria Isolated from *Mentha rotundifolia* L. *International Journal of Scientific and Technology Research*. 12(4): 36-39.
- Abraham A, Philip S, Jacob CK, Jayachandran K. 2013. Novel Bacterial Endophytes from *Hevea brasiliensis* as Biocontrol Agent Against Phytophthora Leaf Fall Disease. *Springer*.58:675-684.
- Gayathri. 2013. Isolation of Endophytic Bacteria from Mangoes, Bananas and Sugarcane for Their Biological Activities. *Asian Journal Research in Biological and Pharmaceutical Science*.1(1):19-27.
- Hallmann J, Hallmann AQ, Mahaffee WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol*43: 895-914.
- Hidayati U, Iswandi AC, Abdul M, Siswanto, Dwi AS. 2014. Potency of plant growth promoting endophytic bacteria from rubber plant (*Hevea brasiliensis* Mill. Arg.). *Journal of Agronomy* 13(3): 147-152.
- Kusdiana APJ. 2011. Eksplorasi dan Identifikasi Cendawan Antagonis terhadap *Rigidoporus lignosus* Penyebab Jamur Akar Putih pada Karet [skripsi].Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Li. FX, Ma HQ, Liu J dan Zhang C.2012. Antagonistic effects of *Bacillus cereus* strain B-02 on morphology, ultrastructure and cytophysiology of *Botrytis cinerea*. *Polish Journal of Microbiology* 61(2): 119-128.
- Mallinowski D.P, Alloush G.A, Belesky D.P. 2000. Leaf Endophyte *Newtyphodium coenophialium* Modifies Mineral up take in Tall Fescue. *Plant Soil*.227:115-126.
- Nakaew N, Rangjaroen C, Sunghong R. 2015. Utilization of rhizospheric *Streptomyces* for biological control of *Rigidoporus* sp. causing white root disease in rubber tree. *Eur J Plant Pathol*.
- Nasrun, Christanti, Arwiyanto T, Mariska I. (2005). Pengendalian penyakit layu bakteri nilam menggunakan *Pseudomonas fluorescent*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 11 (1): 19-24.
- Nasrun dan Nurmansyah. 2015. Potensi rizobakteria dan fungisida nabati untuk pengendalian penyakit jamur akar putih tanaman karet. *J. TIDP* 2(2): 61-68.
- Pratiwi BE. 2015. Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri [skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Ramli NR, Mohamed MS, Seman IA, Zairun MA, Mohamad N. 2016. The Potential of Endophytic Bacteria as A Biological Control Agent for *Ganoderma* Disease in Oil Palm. *Sains Malaysiana*. 45(3):401-409.
- Resti Z, Habazar T, Putra DP, Nasrun. 2013. Skrining dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun Daun Bakteri pada Bawang Merah. *Jurnal HPT Tropika*. 13(2):167-178.
- Sekhar AC, Thomas P. 2015. Isolation and Identification of Shoot-Tip Associated Endophytic Bacteria from Banana cv. Grand Naine and Testing for Antagonistic Activity Against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *American Journal of Plant Sciences*.6: 934-954.
- Siagian N. 2015 *Cara Modern Mendongkrak Produktivitas Tanaman Karet*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.

- Situmorang A. Budiman A. 2003. *Penyakit Tanaman Karet dan Pengendaliannya*. Balit Sembawa Pusat Penelitian Karet.
- Zhang M, Li J, Shen A, Tan S, Yan Z, Yu Y, Xue Z, Tan T, Zeng L. 2016. Isolation and Identification of *Bacillus amyloliquefaciens* IBFCBF-1 with Potential for Biological Control of *Phytophthora* Blight and Growth Promotion of Pepper. *Journal of Phytopathology*. 1012-1021.