IDENTIFIKASI AGENS HAYATI POTENSIAL DARI TANAMAN KARUK (*Piper sarmentosum*)

Muhammad Firdaus Oktafianto^{1*}, Eryna Elfasari Rangkuti²

^{1,2}Fakultas Pertanian Universitas Ibnu Chaldun Jakarta

*Muhammadfirdausoktafiyanto@gmail.com

Abstrak

Bakteri merupakan salah satu mikroba yang bermanfaat bagi tanaman karena mampu menghasilkan hormon pertumbuhan, serta memicu peningkatan ketahanan tanaman terhadap patogen. Beberapa studi telah membuktikan isolasi bakteri yang berasal dari tanaman obat memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri dari tanaman karuk pada bagian rhizosfer, filosfer, filoflane serta bakteri endofit yang berada di dalam tanaman karuk. Penelitian dilakukan pada September 2015 sampai dengan Januari 2016 di Laboratorium Nematologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. Seleksi bakteri dilakukan dengan dua tahap yang pertama adalah metode keamanan hayati dengan dua metode yaitu pengujian hemolisis pada media agar darah dan pengujian hipersensitif pada tanaman tembakau. Pengujian kedua adalah uji potensi bakteri calon agens hayati dilakukan dengan pengujian *dual culture* terhadap cendawan *Fusarium oxysporum*, kemudian dilanjutkan dengan uji pertumbuhan pada benih padi. Hasil isolasi bakteri calon agens hayati dari tanaman karuk menunjukkan bahwa diperoleh 73 isolat bakteri yang terdiri dari bakteri yang berasal dari Rizosfer sebanyak 12, endofit sebanyak 19, Rizoplan sebanyak 20 bakteri, filoplan sebanyak 18 bakteri dan 4 isolat konsorsium. Hasil uji hemolisis pada media agar darah terdapat 58 bakteri yang positif dan tidak digunakan pada pengujian selanjutnya. Hasil uji hipersensitif pada tembakau terdapat 7 isolat bakteri yang lolos dan dilanjutkan ke pengujian berikutnya. Hasil uji pertumbuhan pada benih padi yang diberi bakteri isolat FP8 memiliki nilai tinggi tanaman terbaik sebesar 13.48 cm dan pada panjang akar terbaik pada perlakuan FP 16. Pengujian dual kultur perlakuan F8, F12, F16, RP13, RP14 mampu membuat pertumbuhan hifa cendawan *Fusarium oxysporum* menjadi abnormal jika dibandingkan dengan kontrolnya.

Kata kunci : Isolasi, Karuk, Hemolisis, hipersensitif, Hifa

Abstract

*Bacteria is one of beneficial microbes for plants because they are able to produce growth hormones, and trigger an increase in plant resistance to pathogens. Several studies have proven isolation of bacteria from medical plants has the ability to suppress the growth of pathogens. This study aims to isolate bacteria from the karuk plant in the rhizosphere, phyllosphere, filoflane and endophytic bacteria in the karuk plant. The research was conducted from September 2015 to January 2016 at the Plant Nematology Laboratory of the Department of Plant Protection, Bogor Agricultural University. Bacterial selection was carried out in two stages, the first was a biosafety method with two methods, namely hemolysis testing on blood agar media and hypersensitivity testing on tobacco plants. The second test was a test for the potential of bacteria as a candidate for biological agents, carried out by dual culture testing on the fungus *Fusarium oxysporum*, then continued with a growth test on rice seeds. The results of the isolation of potential biological agents from the karuk plant showed that there were 73 bacterial isolates consisting of 12 bacteria from the rhizosphere, 19 endophytes, 20 rhizoplan bacteria, 18 bacteria filoplans and 4 consortium isolates. The results of the hemolysis test on blood agar media contained 58 positive bacteria and were not used for further testing. The results of the hypersensitivity test on tobacco contained 7 bacterial isolates that passed and were continued to the next test. The results of the growth test on rice seeds that were given FP8 isolate bacteria had the best plant height value of 13.48 cm and the best root length in FP 16 treatment. abnormal when compared to the control.*

Keyword: Isolation, Karuk, hemolysis, hypersensitive, hyphae

Pendahuluan

Indonesia adalah satu pusat agrobiodiversitas dunia karena memiliki keragaman biodeversitas yang tinggi. Tercatat bahwa Indonesia memiliki 1259 spesies tumbuhan yang dimanfaatkan kayunya, 984 spesies tumbuhan pangan yaitu gabungan dari sayur, buah, biji dan umbi, 520 spesies penghasil minyak, dammar, pewarna dan senyawa kimia lain, serta 6186 spesies yang dapat di manfaatkan sebagai tanaman obat (Whitemore 1985 dalam Kusmana & Hikmat 2015; Kartawinata. 2010). Kekayaan biodiversitas yang dimiliki Indonesia belum dapat dimanfaatkan secara maksimal. Salah satu cara pemanfaatan kekayaan biodiversitas yang dimiliki Indonesia dengan melakukan pencarian agens hayati potensial yang mampu memacu pertumbuhan tanaman dan melindunginya dari serangan penyakit.

Soesanto (2008), menyebutkan bahwa agens pengendali hayati merupakan organisme hidup yang dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit, yang terjadi akibat adanya metabolisme sekunder baik berupa antibiotika, toksin, enzim atau hormone. Penggunaan agens hayati selain dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman serta menangkal dari serangan penyakit juga mampu mengurangi masalah yang ditimbulkan dari penggunaan pupuk dan pestisida berbahan kimia sintetik secara berlebih yang dapat mengganggu kestabilan lingkungan ekosistem tanaman.

Agens hayati ternyata dapat ditemukan dari disekitar tanaman, menurut beberapa peneliti sumber agens antagonis yang banyak dilaporkan antara lain berasal dari rhizosfer (Whipps 2001), filosfer (Andrews 1992), filoplane (Blakeman dan Fokkema 1982), dan endofit (Petrini *et al.* 1993). Penelitian ini menggunakan tanaman Karuk sebagai sumber pengambilan agens hayati.

Tanaman karuk merupakan salah satu tanaman obat yang dapat tumbuh baik diberbagai kondisi iklim baik tropis maupun subtropik. Penelitian terdahulu menyatakan bakteri yang diisolasi dari tanaman obat memiliki potensi menekan pertumbuhan pathogen (Desriani *et al.* 2014) Hingga saat ini tanaman karuk belum pernah diteliti sebagai sumber agens hayati, sehingga perlu dilakukan eksplorasi agens hayati dari tanaman karuk untuk melihat potensinya sebagai agens pengendali hayati. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri dari tanaman karuk pada bagian rhizosfer, filosfer, filoplan serta bakteri endofit yang berada di dalam tanaman karuk dan menguji patogenesitas bakteri yang diperoleh dan menguji kemampuan bakteri calon agens hayati dalam memacu pertumbuhan tanaman dan kemampuannya menghambat pertumbuhan cendawan patogen *Fusarium oxysporum* secara invitro.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nematologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor dari September 2015 sampai dengan Januari 2016. Bahan yang digunakan adalah sampel pertanian karuk (tanah bagian rhizosfer, filoplane dan endofit), media TSA 20%, 100%, media PDA, KOH 3%, benih padi varietas Mekongga, tanaman tembakau varietas Kemloko, dan isolat cendawan *Fusarium* sp. Alat yang digunakan adalah mortal, cawan petri, *drill glass*, erlenmeyer, tabung reaksi, gunting, gelas objek, shaker, suntikan, dan *laminar air flow*.

Isolasi Agens Hayati pada Tanaman Karuk Bagian Rhizosfer dan Filoplane

Tanah pada daerah perakaran (rhizosfer) diambil dan ditimbang 10 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades sebanyak 100 mL. Selanjutnya disuspensikan dengan cara di shake pada kecepatan 100 rpm selama 1 jam. Suspensi diambil 1 mL dan dilakukan pengenceran sampai 10^{-3} , kemudian 0,1 mL suspensi di plating pada media TSA 20%..

Untuk isolasi mikroba pada bagian filoplane (permukaan daun) dilakukan dengan cara menimbang 1 gr daun, kemudian di tambahkan 10 mL akuades steril dan di shake selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-2} . Hasil pengenceran kemudian di plating pada media TSA 20%.

Untuk isolasi bakteri endofit, masing-masing bagian akar, batang dan daun tanaman digerus, kemudian disuspensikan pada akuades steril dan dilakukan pengenceran sampai 10^{-3} , dan diambil sebanyak 1 mL untuk di plating pada media TSA 20%, setelah itu diinkubasi pada suhu ruang. Uji kesterilan bagian tanaman yang diisolasi dilakukan dengan cara menggoreskan masing-masing potongan akar, batang dan daun mentimun pada media TSA untuk bakteri endofit (Hallmann *et al.* 1997).

Pengujian Keamanan Hayati Calon Agens Hayati Uji Hemolisis

Pengujian dilakukan pada media agar darah. Media agar darah dibuat dengan cara membuat media TSA 100% dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media TSA yang telah disterilisasi, didinginkan hingga mencapai suhu 45-50°C, kemudian media dicampur dengan darah kambing dengan konsentrasi 5% yang telah disaring menggunakan millipore 0.22 µm. bakteri ditumbuhkan

pada media agar darah dan selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Adanya aktivitas hemolisis ditandai dengan adanya zona hemolisis pada plat agar darah. bakteri yang menghasilkan toksin alfa-hemolisis akan membentuk zona bening disekitar koloni, yang menghasilkan toksin beta-hemolisis akan membentuk zona agak gelap disekitar koloni, dan yang menghasilkan gamma-hemolisis tidak membentuk zona bening disekitar koloni dan tidak merubah warna media. bakteri endofit yang memproduksi kombinasi toksin alfa-hemolisis dan beta-hemolisis akan tampak zona gelap dan bening disekitar koloni (Oktavia Salasia *et al.* 2004). Bakteri yang menunjukkan toksin alfa, beta, dan alfa-beta hemolisis tidak digunakan dalam pengujian selanjutnya karena berpotensi membahayakan kesehatan manusia (Khusnan *et al.* 2008).

Uji Hipersensitif

Uji patogenesis bakteri dilakukan dengan cara satu ose isolat bakteri yang diuji diinokulasikan pada 3 mL media NB cair di dalam tabung reaksi. Kemudian *shaker* dengan kecepatan 80 rpm selama 24 jam. Suspensi bakteri diambil menggunakan jarum suntik steril yang telah dilepas bagian jarumnya. Injeksikan suspensi bakteri dari bagian bawah daun tembakau. Bagian yang diinjeksi suspensi bakteri diberi label. Hasil injeksi diamati setelah 24-48 jam. Reaksi positif yang berarti bakteri tersebut bersifat patogenik ditunjukkan dengan adanya bercak nekrosis pada bagian yang diinokulasikan dengan suspensi bakteri, sebaliknya reaksi negatif terjadi bila warna daun tetap hijau (Klement *et al.* 1990).

Pengujian Antibiosis

Uji antibiosis isolat bakteri rhizosfer, rhizoplane, dan endofit yang diperoleh dilakukan terhadap cendawan patogen *Fusarium oxysporum* dengan metode *dual culture*. Cendawan patogen diambil menggunakan *cork borer* kemudian diletakkan pada media PDA tengah cawan. Setelah itu masing-masing isolat bakteri calon agens hayati digores pada bagian sisi cawan dan diinkubasi selama 5 hari. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk antara inokulum cendawan dan isolat agens hayati.

Pengujian Bakteri terhadap Pertumbuhan Tanaman

Uji pertumbuhan dilakukan terhadap benih padi. Bakteri yang berumur 24-48 jam disuspensikan pada akuades steril, kemudian masing-masing benih padi yang telah disterilisasi permukaan direndam dalam suspensi bakteri tersebut selama 24 jam. Setelah direndam, masing-masing benih kemudian ditanam pada

media tanah steril di *tray*. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. (Vrbničanin *et al.* 2011).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Calon Agens Hayati

Hasil isolasi bakteri dari taman karuk diperoleh 73 isolat bakteri yang terdiri dari bakteri yang berasal dari Rizosfer sebanyak 12, endofit sebanyak 19, Rizoplane sebanyak 20 bakteri, filoplane sebanyak 18 bakteri dan 4 isolat konsorsium. Setelah berhasil diisolasi bakteri tersebut dikarakterisasi berdasarkan sifat morfologinya mulai dari bentuk tekstur hingga warna disajikan dalam tabel berikut.

Pengamatan morfologi dilakukan dengan mengamati sembilan ciri-ciri dari bakteri yang diperoleh mulai dari bentuk, tepian, elevasi (ketinggian), ukuran, tekstur, penampilan, pigmen, dan optical property/sifat tembus cahaya (ATCC, 2015). Pengamatan bentuk dilakukan dengan mengamati bentuk koloni bakteri yaitu bulat (*circular*), seperti akar / menyebar (*rhizoid*), tidak beraturan (*irregular*), berserabut (*filamentous*), serta lonjong (*spindle*). Pengamatan tepian koloni yaitu tepian rata (*entire*), tepi bergelombang (*undulate*), berlekuk (*lobate*), melengkung (*curled*), bergerigi (*rhizoid*), tepi seperti benang-benang tidak beraturan (*filamentous*). Pengamatan ketinggian koloni yaitu dengan ketinggian nyaris rata dengan medium (*flat*), terangkat/ketinggian nyata terlihat, namun rata pada seluruh permukaan (*raised*), cembung / permukaan melengkung (*convex*), berbentuk bantal (*pulvinate*), serta cembung di tengah (*umbonate*). Ukuran berbentuk seperti titik (*punctiform*), kecil (*small*), sedang (*moderate*), dan besar (*large*). Penampilan menggambarkan jika koloni mengkilap (*glistening*), kusam (*dull*). Properti Tekstur. Koloni seperti kasar (*rough*) halus (*smooth*). Pigmentasi atau warna koloni, dan pengamatan. *Optical property* menggambarkan sifat bakteri terhadap cahaya yaitu tidak tembus cahaya (*opacity*) terlihat buram (*opaque*), atau tidak tembus cahaya, (*translucent*), dan transparan.

Tabel 1. Identifikasi morfologi bakteri Rizosfer

Kode	Bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran	Tekstur	Penampilan	Pigmen	Optical property
R1	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R2	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R3	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R4	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R5	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R6	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R7	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R8	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R9	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R10	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R11	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
R12	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque

Tabel 2. Identifikasi Morfologi Bakteri Rizoplan

Kode	Bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran	Tekstur	Penampilan	Pigmen	Optical property
RP1	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP2	Circular	Entire	Raised	Small	Smooth	Glistening	White	Opaque
RP3	Irregular	Lobate	Raised	Moderate	Smooth	Dull	Cream	Opaque
RP4	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP5	Circular	Entire	Raised	Small	Smooth	Glistening	White	Opaque
RP6	Irregular	Undulate	Raised	Moderate	Smooth	Dull	Cream	Opaque
RP7	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP8	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP9	Circular	Entire	Convex	Small	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
RP10	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP12	Circular	Entire	Convex	Punctiform	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
RP13	Circular	Entire	Convex	Small	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
RP14	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque
RP15	Circular	Entire	Convex	Small	Smooth	Glistening	Orange	Translucent
RP16	Circular	Entire	Convex	Small	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
RP17	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP18	Circular	Entire	Raised	Large	Smooth	Glistening	White	Opaque
RP19	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
RP20	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque

Tabel 3. Identifikasi Morfologi Bakteri Filoplan

Kode	bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran	tekstur	penampilan	pigmen	Optical property
F1	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F2	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque
F3	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque
F4	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F5	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F6	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F7	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque
F8	Circular	Entire	Convex	Punctiform	Smooth	Glistening	Orange	Transparant
F9	Circular	Entire	Convex	Punctiform	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
F10	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F11	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Translucent
F12	Circular	Entire	Convex	Punctiform	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
F13	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F14	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F15	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque
F16	Circular	Entire	Convex	Punctiform	Smooth	Glistening	Yellow	Translucent
F17	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
F18	Irregular	Lobate	Raised	Large	Smooth	Dull	Cream	Opaque

Tabel 4. Identifikasi Morfologi Bakteri Endofit

Kode	Bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran	Tekstur	Penampilan	Pigmen	Optical property
E1	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E2	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E3	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E4	Filamentous	Rhizoid	Flat	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E5	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E6	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E7	Irregular	Undulate	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E8	Circular	Entire	Raised	Moderate	Smooth	Dull	White	Translucent
E9	Filamentous	Rhizoid	Flat	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E10	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E11	Filamentous	Rhizoid	Flat	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E12	Irregular	Undulate	Raised	Moderate	Smooth	Dull	White	Opaque
E13	Irregular	Undulate	Raised	Moderate	Smooth	Dull	White	Opaque
E14	Irregular	Undulate	Raised	Moderate	Smooth	Dull	White	Opaque
E15	Irregular	Undulate	Convex	Moderate	Smooth	Dull	White	Opaque
E16	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E17	Irregular	Curled	Raised	Large	Smooth	Dull	White	Opaque
E18	Circular	Undulate	Convex	Moderate	Smooth	Dull	White	Opaque
E19	Circular	Undulate	Convex	Moderate	Smooth	Dull	White	Opaque

Hasil pengamatan pada bentuk koloni bakteri yang berhasil diperoleh dari bagian endofit, filoplan, rizosfer, dan rizoplan bentuk bakteri yang muncul adalah *irregular*, *circular*, dan *filamentous*. Pengamatan tepian koloni bakteri yang ditemukan cukup beragam bentuk tepian seperti *undulate*, *curled*, *rhizoid*, *lobate*, dan *entire*. Pengamatan pada ketinggian/elevasi koloni bakteri menunjukkan bentuk *raised* mendominasi tipe elevasi bakteri pada semua bagian, kemudian diikuti bentuk *convex*, dan *flat*. Hasil pengamatan ukuran koloni bakteri terdapat bakteri yang berbentuk seperti titik (*punctiform*), kecil (*small*), sedang (*moderate*), dan besar (*large*). Pengamatan tekstur koloni bakteri dari semua bagian memiliki tekstur yang lembut (*smooth*).

Pengamatan pada penampilan koloni bakteri endofit dan rizosfer, menunjukan semua koloni bakteri memiliki penampilan yang kusam (*dull*). Pengamatan pada bakteri filoplan dan rizoplan didominasi penampilan kusam (*dull*), serta ada yang memiliki penampilan yang mengkilap (*glistening*). Pengamatan pada pigmen koloni bakteri didominasi oleh warna putih yang muncul pada semua koloni bakteri endofit dan rizosfer, sedangkan pada koloni rizoplan memiliki warna lebih beragam seperti putih, krem, kuning, dan oranye. Pengamatan. *Optical property* koloni menunjukkan bakteri didominasi oleh *opaque*, diikuti *translucent* dan transparan.

Pengujian Agar Darah.

Hasil pengujian aktifitas hemolisis terdapat 58 isolat bakteri yang positif uji hemolisis ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada Gambar 1. Ke-58 isolat tersebut dapat mendegradasi komponen media hemolisis menjadi bening yang menunjukkan adanya aktifitas α hemolisin dan β hemolisin ke dua toksin tersebut sangat berbahaya karena dapat mendegradasi komponen sel darah manusia (Duncan *et al.* 2007; Nataliya *et al.* 2006)

Hasil pengujian ini terdapat 15 isolat bakteri yang dilanjutkan ke pengujian berikutnya dan dinyatakan aman rizoplan sebanyak 4 yaitu RP2, RP9, RP13, RP14, RP20. Bakteri filoplan sebanyak 3 yaitu FP8, FP9, FP12, FP16, bakteri endofit sebanyak 6 bakteri yaitu E7, E8, E15, E18, E19. Bakteri tersebut selanjutnya dilanjutkan ke pengujian hipersensitif.

Gambar 1 Hasil uji hemolisis bakteri

Pengujian Hipersensitif

Hasil pengujian menunjukkan terdapat 8 bakteri yang bersifat patogen pada tanaman sehingga dari 15 isolat, 7 isolat bakteri saja yang dapat dilanjutkan kepengujian berikutnya. Berikut adalah bakteri yang lolos dalam pengujian hipersensitif, bakteri rizoplan sebanyak 3 yaitu RP13, RP 14, RP20. Bakteri filoplan sebanyak 4 yaitu FP8, FP9, FP12, FP16, Bakteri tersebut selanjutnya dilanjutkan ke *pengujian growing on test* dan pengujian *dual culture*.

Reaksi hipersensitif merupakan program kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen dan bersamaan dengan itu, merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen. Induksi reaksi hipersensitif dan patogenisitas dipengaruhi oleh gen hrp yang umum ditemukan pada bakteri Gram negatif patogen tanaman (Wahyudi *et al.* 2011). Reaksi tersebut ditandai dengan timbulnya gejala nekrotik sebagai akibat sel-sel di sekitar serangan patogen mati secara cepat, sehingga perkembangan patogen tersebut ke jaringan tanaman yang lain terhambat. Gejala nekrotik akan timbul 8 – 24 jam setelah inokulasi. Isolat yang menunjukkan reaksi hipersensitif tidak dilanjutkan pada pengujian berikutnya.

Pengujian Growing on test Pada benih padi.

Pengujian ini merupakan pengujian lanjutan untuk mencari potensi bakteri calon agens hayati. Pengujian ini dilakukan dengan merendam benih tanaman padi dalam suspensi bakteri calon agens hayati selama 24 jam selanjutnya benih ditanam pada *tray* setelah 2 minggu diamati tinggi tanaman dan panjang akar dari tanaman uji tersebut. Hasil pengujian menunjukkan hasil berikut (Tabel 5).

Tabel 5. Pengujian growing on test pada benih padi

No	Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Panjang akar (cm)
1	Kontrol NB	9.1	7.4
2	RP 13	11.52	6.66
3	RP 14	12.58	6.92
4	RP20	12.1	8.18
5	FP8	13.48*	7.9
6	FP9	12.2	8.64
7	FP12	12.26	7.02
8	FP16	12.78	8.7*
9	KONTROL AIR	11.08	6.32

Keterangan : RP= Rhizoplane, FP= Filoplane

Bakteri yang telah lolos pengujian keamanan hayati selanjutnya diuji pada benih untuk melihat potensinya sebagai pemacu pertumbuhan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa perendaman bakteri dapat memacu pertumbuhan dari tanaman jika dibandingkan dengan kontrolnya. Perlakuan FP8 menunjukkan nilai tinggi tanaman yang tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu sebesar 13.48 cm dan yang terendah adalah perlakuan kontrolnya dengan 9.1 cm, sementara untuk panjang akar perlakuan FP 16 memiliki nilai tertinggi yaitu 8.7 cm dan panjang akar terendah dimiliki oleh perlakuan kontrol air dengan 6.32 cm. Peningkatan tinggi tanaman dan panjang akar tanaman uji menunjukan kemampuan bakteri calon agens hayati sebagai agens pemacu pertumbuhan, karena pada tanaman yang diberi perlakuan dengan bakteri diduga dapat terjadi karena bakteri berperan dalam pengikatan nitrogen, peningkatan aktivitas fotosintesis, dan peningkatan hormon pertumbuhan seperti *indole acetic acid* (IAA) (Lopez *et al* 2012; Duangpaeng *et al* 2012). Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa aplikasi bakteri yang diisolasi dari tanaman kaktus *Mammillaria fraileana* mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Mekanisme yang terjadi adalah bakteri berperan dalam memobilisasi elemen-elemen hara sehingga mampu meningkatkan aktivitas fotosintesis dan akumulasi biomasa (Lopez *et al* 2012). Hasil pengujian di atas menunjukkan bahwa bakteri-bakteri yang berasal dari daerah filoplan ternyata mampu meningkatkan pertumbuhan baik akar dan tinggi dari tanaman lebih baik dari bakteri yang diisolasi dari daerah perakaran dan endofit. Penggunaan bakteri filoplan sebagai PGPR saat ini belm banyak dilakukan dan diteliti karena sampai saat ini bakteri-bakteri PGPR banyak berasal dari daerah perakaran tapi tidak menutup kemungkinan bahwa bakteri yang mengkolonisasi daerah bagian atas tanaman dapat berfungsi sebagai bakteri PGPR, selain itu bakteri yang diisolasi dari bagian atas tanaman memiliki ketahanan yang relatif lebih tinggi dibandingkan bakteri tanah terhadap perubahan suhu yang ekstrim, bakteri tersebut juga dapat memperbanyak diri dan mengkolonisasi didaerah yang sedikit nutrisi dibandingkan bakteri daerah perakaran yang ketersediaan nutrisi melimpah (Kishore *et al* 2005).

Hasil di atas juga menunjukan bahwa bakteri yang berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan ternyata mampu untuk menekan pertumbuhan cendawan patogen. Hal itu terlihat pada perlakuan FP 8 dan FP 16 yang mampu menekan pertumbuhan cendawan patogen. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Yulia *et al* (2008) yang menyatakan bakteri asal daerah filoplan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan menekan pertumbuhan patogen hingga angka 70.85% artinya bakteri tersebut memiliki fungsi ganda selain sebagai

pemacu pertumbuhan ternyata penggunaan bakteri filoplan mampu menekan pertumbuhan dari patogen tanaman.

Pengujian Dual Culture

Pengujian selanjutnya yang dilakukan pada percobaan kali ini adalah pengujian kultur ganda terhadap cendawan patogen *Fusarium oxysporum*. Penggunaan cendawan ini sebagai cendawan uji karena *Fusarium oxysporum* merupakan patogen yang sangat merugikan bagi tanaman budidaya di Indonesia terutama tanaman hortikultura (Soesanto 2008). Sehingga pengujian ini dilakukan untuk melihat kemampuan penghambatan dari bakteri dan cendawan calon agens hayati asal tanaman karuk untuk menekan pertumbuhan dari cendawan patogen. Berikut adalah hasil pengujian yang telah dilakukan.

Hasil ini menunjukan bahwa beberapa bakteri mampu menggagu pertumbuhan cendawan patogen, terlihat pada Gambar 3. Perlakuan F8, F12, F16, RP13, dan RP14 terjadi malformasi hifa dari cendawan *Fusarium* jika dibandingkan dengan kontrolnya, hifa dari cendawan *Fusarium* menjadi lebih tipis dari seharusnya dan hifa menjadi abnormal. Mekanis penekanan bakteri calon agens hayati yang mungkin dilakukan terhadap *Fusarium oxysporum* adalah antibiosis dan menghasilkan metabolit sekunder yang dapat melisiskan hifa dari cendawan, karena bakteri ini dapat mengeluarkan senyawa yang dapat menekan pertumbuhan cendawan patogen dan membuat pertumbuhan cendawan menjadi terhambat. Hal itu sesuai dengan pendapat Agrios (2005) menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat racun bagi cendawan patogen.

Beberapa senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri dan dilaporkan memiliki senyawa antifungi yaitu, berdasarkan penelitian Chen *et al* (2009), senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Bacillus* yaitu *surfactin*, *Bacillomycin*, *fengycin*, peptida, dan *ironsiderophorebacilbactin*, yang mempunyai aktivitas antifungi. Senyawa *Phenazine* sebagai senyawa metabolit sekunder oleh bakteri *Pseudomonas chlororaphis* berperan sebagai antagonis dan aktivitas antifungi terhadap cendawan patogen *Sclerotium* sp. (Poritsanos 2005). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Bulkhoderia* adalah *liquidhydrocarboncyclic* terpene dan diidentifikasi sebagai senyawa *cyclohexene* 1-methyl-4-(1-methylethenyl) dan juga senyawa 4-flavanone (4H-1-Benzopyrian-4-one, 2, 3-dihydro-2-phenyl).

Gambar 3. Hasil pengujian agens hayati terhadap cendawan *Fusarium oxysporum*

Kesimpulan

Hasil penelitian ini diperoleh isolat bakteri sebanyak 73 isolat. Berdasarkan Hasil pengujian keamanan hayati hemolisis agar darah diperoleh 15 isolat bakteri yang dapat dilanjutkan ke pengujian berikutnya. Hasil pengujian hipersensitif menunjukan terdapat 7 isolat bakteri yang dapat dilanjutkan ke pengujian pertumbuhan dan dual kultur Hasil pengujian antagonis antara bakteri dan *Fusarium oxysporum* menunjukan bahwa beberapa bakteri mampu memperlambat pertumbuhan cendawan patogen. Hasil pengujian pertumbuhan pada benih padi dengan perlakuan FP8 menunjukan nilai tinggi tanaman yang tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu sebesar 13.48 cm dan yang terendah adalah perlakuan kontrolnya dengan 9.1 cm. sementara untuk panjang akar perlakuan FP 16 memiliki nilai tertinggi yaitu 8.7 cm dan panjang akar terendah dimiliki oleh perlakuan kontrol air dengan 6.32 cm.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih pada seluruh anggota laboratorium Nematologi Tumbuhan IPB yang telah berpartisipasi membantu terselenggaranya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Agrios G. 2005. Plant Pathology. 5th eds. New York: Academic Press.
- Andrews JH. 1992. Biological control in the phyllosphere. *Annual review of phytopathology* 30(1):603-635.
- American Type Culture Collection. 2015 Introduction to Microbiology.(On-line). <https://www.atcc.org/resources/culture-guides/introduction-to-microbiology> (Diakses 2 November 2021)
- Blakeman JP, Fokkema N. 1982. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annual Review of Phytopathology* 20(1):167-190.
- Chen Y. 2008. The Unsung Heroes of the rice field. *Rice today* January-March 2008. IRRI. P 30-31.
- Duncan S, Louis P, Flint H. 2007. Cultivable bacterial diversity from the human colon. *Lett Appl Microbiol.* 44(4):343-350. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02129.x>
- Duangpaeng A, Phetcharat P, Chanthapho S, Boonkantong N, Okuda N. 2012. The study and development of endophytic bacteria for enhancing organic rice growth. *Procedia Engineering.* 32(2012):172-176.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee W, Kloepper J. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43(10):895-914.
- Kartawinata K. 2010. Dua abad mengungkap kekayaan flora dan ekosistem Indonesia. Sarwono Prawirohardjo Memorial Lecture X, LIPI 23 Agustus 2010 Jakarta. 38
- Klement Z, Rudolph K, Sands D. 1990. *Methods in phytobacteriology.* Hungaria(HU):Akademiai Kiado.
- Khusnan, Salasia SIO, Soegiyono. 2008. Isolation And Phenotipical Characterization Of *Staphylococcus Aureus* Isolated From

- Slaughtered House Waste And Carcass Of Chicken. *Jurnal Veteriner* 9(1).
- Kishore, GK, S Pande, and AR Podile. 2005. Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (*Arachis iznoogaea* L). *Letters in Applied Microbiology*. 40; 260-268. ‘
- Kusmana C, Hikmat A. 2015. Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(2):187-198
- Lopez BR, Tinoco-Ojanguren C, Bacilio M, Mendoza A, Bashan Y. 2012. Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria fraileana* affect plant growth and mobilization of elements from rocks. *Environmental and Experimental Botany* 81(2012):26–36.
- Nataliya V, Balashova, Juan A, Crosby, Lourdes Al Ghofaily, Scott C. 2006. Leukotoxin confers beta-hemolytic activity to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun*. 74(4):2015–2021. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.74.4.2015-2021.2006>
- Oktavia Salasia S, Khusnan Z, Lammler C, Zschock M. 2004. Comparative studies on phenol-and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. *J Vet Sci* 5(2):103-109.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. 1993. Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural toxins* 1(3):185-196.
- Poritsanos NJ. 2005. Molecular Mechanisms Involved in Secondary Metabolite Production and Biocontrol of *Pseudomonas chlorophis* PA23. [Thesis]. Canada
- (CA). The University of Manitoba. Soesanto L. 2008. *Pengantar pengendalian hayati penyakit tanaman*. Jakarta (ID), Rajawali Pers.
- Vrbničanin S, Božić D, Sarić M, Pavlović D, Raičević V. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on *Ambrosia rtemisiifolia* L. seed germination. *Pesticidi i fitomedicina* 26(2):141-146.
- Wahyudi AT, Astuti RI, Giyanto (2011). Screening of *Pseudomonas* sp isolated from rhizosphere of soybean plant as plant growth promoter and biocontrol agent. *Am. J. Agric. Biol. Sci.* (Inpress)
- Whipps JM. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental Botany* 52(suppl 1):487-511.
- Yulia E, Fitri, Ramadan FA. 2008 Kemampuan Ekstrak dan Bakteri Inhabitan *Mucuna pruriens* Linn. dalam Menekan Penyakit Bercak Daun *Cercospora* dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kacang Tanah. *J Agrikultura*. 1(19): 50-59.