

## UJI ANTAGONISME BAKTERI ENDOFIT ASAL TANAMAN PERTANIAN DATARAN RENDAH PADA MEDIUM AGAR

Antagonist Test of Endophytic Bacteria in Agar Medium

**Arika Purnawati\*, Noni Rahmadhini, Elly Syafriani**

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Jawa Timur

Jl. Raya Rungkut Madya Gunung Anyar, Surabaya

<sup>\*)</sup>Email : [arika\\_p@upnjatim.ac.id](mailto:arika_p@upnjatim.ac.id)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kandidat bakteri endofit asal tanaman pertanian dataran rendah yang berpotensi sebagai agens pengendali biologi *Ralstonia solanacearum* pada tanaman tomat. Bioassay dilakukan menggunakan metode perendaman biji tomat dalam suspensi bakteri endofit ( $10^8$  cfu/ml) selama 60 menit selanjutnya *R. solanacearum* berumur 24 jam ( $10^8$  cfu/ml) dicampur dengan 6 ml agar cair 0,6% dan dituang ke permukaan benih. Bioassay diamati pada jam ke 24, 48, 72, dan 96. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 isolat bakteri endofit sebagai faktor tunggal perlakuan dan diulang 3 kali. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa 10 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* pada medium agar, dan ukuran zona bening tertinggi dibentuk oleh isolat H, I, J.

Kata kunci : bakteri endofit, agens pengendali biologi

### ABSTRACT

This research aims to obtain endophytic bacterial candidates from lowland agricultural plants that have potential as biological control agents for *Ralstonia solanacearum* on tomato plants. Bioassay was carried out using the soaking method of tomato seeds in the suspension of endophytic bacteria ( $10^8$  cfu / ml) during 60 minutes then *R. solanacearum* was 24 hours old ( $10^8$  cfu / ml) mixed with 6 ml of liquid agar 0.6% and poured onto the seed surface. Bioassays were observed at 24, 48, 72 and 96 hours. The study was conducted using Completely Randomized Design (CRD) with 10 endophytic bacterial isolates as single treatment factor and repeated 3 times. The results obtained showed that 10 endophytic bacterial isolates were able to inhibit the growth of *R. solanacearum* in agar medium, and the highest clear zone size was formed by H, I, J

Keywords: endophytic bacteria, biological control agents

### PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan sumber keragaman genetik dan sampai dengan saat ini berbagai jenis baru bakteri endofit belum dideskripsikan. Bakteri endofit pertama kali dilaporkan pada tahun 1904. Sejak itu, definisi bakteri endofit telah disepakati sebagai bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan dan tidak

menyebabkan efek negatif langsung yang nyata. Sifat bakteri endofit tidak berdampak negatif pada jaringan tumbuhan dan menunjukkan adanya hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dan inangnya (Malfanova, 2013). Bakteri disebut sebagai endofit jika berada dalam tubuh tumbuhan setidaknya satu bagian dari siklus hidupnya. Bakteri endofit dapat diisolasi dari semua bagian tumbuhan yaitu biji, daun, batang dan akar. Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang penting bagi tumbuhan inangnya, maka kebutuhan untuk menumbuhkan tumbuhan yang masa hidupnya panjang dan mungkin termasuk langka akan berkurang dan keragaman hayati dunia juga terlindungi. Beberapa jenis bakteri endofit dapat digunakan sebagai agens pengendali biologi penyakit tanaman, contoh : *Pseudomonad fluorecent* dapat menekan perkembangan penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman tomat (Purnawati, 2013) dan bakteri endofit asal ubikayu dapat digunakan sebagai agens pengendali penyakit hawar daun bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* pada ubi kayu (Purnawati dan Nirwanto, 2009).

Bakteri endofit merupakan mikroba endofit yang banyak ditemukan dan dapat diisolasi dari semua bagian tumbuhan yaitu biji, daun, batang dan akar serta dapat diisolasi dari tanaman pertanian dataran tinggi, contoh : dari tanaman tomat di Tlekung dan Junrejo wilayah Batu (Purnawati, 2013) dan dari tanaman pertanian dataran rendah, contoh : dari tanaman tomat di Jombang dan Kediri (Purnawati *et al.*, 2018). Kemampuan suatu agens pengendali biologi dalam menekan penyakit dapat ditingkatkan antara lain dengan memadukan dua atau lebih agens pengendali penyakit, tetapi untuk memadukannya perlu diperhatikan bahwa masing-masing tidak saling menghambat. Selain itu, keefektifan pengendalian juga dapat ditingkatkan melalui cara aplikasi yang berbeda. Aplikasi agens pengendali melalui biji diharapkan memberi perlindungan sejak awal tumbuhnya tanaman melalui kolonisasi perakaran, dan untuk agens pengendali biologi yang bersifat menginduksi ketahanan tanaman, perendaman akar dan bibit sebelum pindah tanam diharapkan dapat memberikan efek induksi lebih cepat (Hallmann, 2001).

Tujuan penelitian untuk memperoleh kandidat isolat bakteri endofit asal tanaman pertanian dataran rendah yang berpotensi sebagai agens pengendali biologi *Ralstonia solanacearum* pada tanaman tomat.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Tanaman I Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional ‘Veteran’ Jawa Timur pada bulan April hingga Oktober 2018.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, gelas ukur, gelas beaker, autoklaf, laminar air flow cabinet, mata scalpel, pisau scalpel, pinset, jarum ose, lampu bunsen, magnetic stirer, erlenmeyer, gelas beaker, botol media, cawan petri, mikropipet, mikroskop, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media Potato Dekstrosa Agar (PDA), media Nutrient Agar (NA), media Kelman’s (TZC), kristal violet, safranin, lugol, iodine, alkohol 70% dan 96%, air steril, klorok 1%, kloroform.

### **Isolasi bakteri *R. solanacearum***

Isolasi dilakukan menggunakan teknik larutan menurut Sastrahidayat dan Djauhari (2012) berikut : batang tanaman tomat dipotong sepanjang 0,5 cm kemudian didesinfektan dengan cara merendam dalam alkohol 70% diikuti dengan pencucian menggunakan air steril sebanyak tiga kali. Potongan kemudian dimasukkan ke tabung reaksi, ditambah 10 ml air steril dan dibiarkan beberapa menit sampai massa bakteri keluar dan larut dalam air steril. Massa bakteri dalam air steril kemudian dikocok menggunakan vortex tipe Mixer Maxi Mix II M37610-33 Thermolyne sampai terbentuk suspensi, kemudian digoreskan menggunakan jarum ose pada medium TZC Agar dan diinkubasikan dalam inkubator pada 28<sup>o</sup>C selama 48 jam.

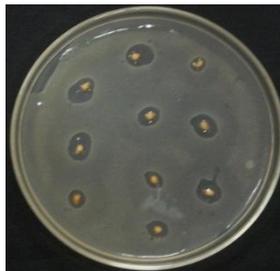
### **Isolasi bakteri endofit**

**Isolasi dari batang.** Bagian batang yang diisolasi adalah sepanjang 50 cm dari pangkal kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran permukaan sampai permukaan bersih kemudian bagian-bagian tersebut dipotong menjadi spesimen sepanjang 1 cm dan disterilkan permukaannya dalam chlorox 1,25% selama 1 menit kemudian dicelup alkohol absolut selama 5 detik dan dilakukan 3 kali kemudian dicelup air steril selama 5 detik dan dilakukan 3 kali kemudian spesimen tersebut dikeringanginkan di atas kertas saring steril di dalam laminar air flow (LAF) selama 5 menit (Widayanto, 2008). Spesimen batang dibelah bagian permukaan yang telah disterilkan, diinokulasikan pada medium PDA untuk mendeteksi adanya kontaminan. Selanjutnya spesimen batang yang tidak kontaminasi dibelah menjadi dua bagian dan diinokulasikan pada medium PDA dalam cawan petri dengan posisi

permukaan bagian dalam menempel atau menyentuh medium atau posisi telungkup. Hasil inokulasi diinkubasi dalam inkubator pada 28°C selama 48 jam. Setelah bakteri endofit tumbuh dimurnikan pada media kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada 28°C selama 48 jam.

### **Uji antagonisme bakteri endofit terhadap *R. solanacearum***

Biakan murni bakteri endofit berumur 48 jam pada medium NA diambil 1 lup jarum ose kemudian diinokulasikan ke 100 ml medium NB dalam Erlenmeyer dan dilakukan pengocokan menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Biji tomat varietas Permata disterilkan menggunakan chlorox 1% selama 30 detik kemudian dibilas air steril sebanyak 3 kali dan dikeringanginkan pada kertas tisu steril. Setelah steril biji direndam dalam hasil kocokan bakteri endofit ( $10^8$  cfu/ml), perendaman dilakukan selama 60 menit kemudian diinokulasikan pada medium NA dalam cawan petri dan diinkubasikan dalam inkubator selama 24 jam pada 28°C setelah 24 jam cawan petri dibalik dan tutupnya ditetesi 1 ml chloroform, setelah 2 jam cawan petri dibalik ke posisi semula. Selanjutnya 0,2 ml suspensi biakan bakteri patogen *R. solanacearum* berumur 24 jam ( $10^8$  cfu/ml) dicampur dengan 6 ml agar cair 0,6% dan dituang ke permukaan biji (Gambar 1).



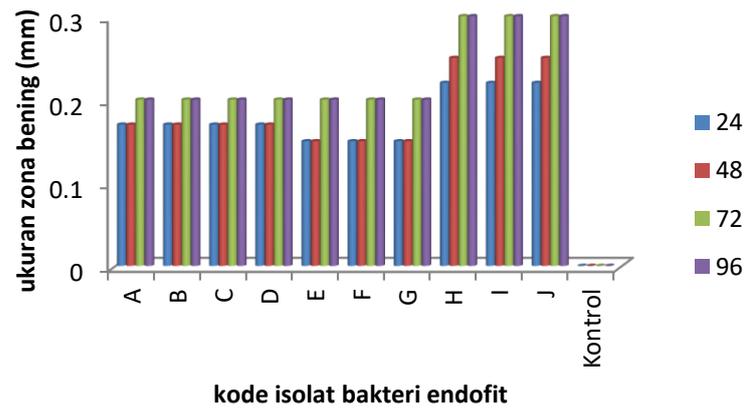
**Gambar 1. Metode uji antagonis**

Perlakuan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada 28°C. Peubah yang diamati adalah adanya zona bening yang diamati pada jam ke-24, 48, 72, 96 setelah inokulasi.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Uji antagonisme bakteri endofit terhadap *R. solanacearum***

Hasil uji antagonism terhadap bakteri endofit terhadap *R. solanacearum* sebagai berikut :



**Gambar 2. Ukuran zona terang**

Gambar 2, menunjukkan bahwa uji antagonis bakteri endofit terhadap *R. solanacearum* dapat dilakukan menggunakan perendaman biji dan dibuktikan dengan terbentuknya zona terang di sekitar biji. Ukurannya disajikan pada histogram di Gambar 2. Terbentuknya zona terang di sekeliling biji diduga molekul senyawa fenol dan molekul siderofor yang diproduksi oleh bakteri endofit menempel pada permukaan kulit biji yang sifatnya semipermeabel dan tersusun dari lemak, pektin, selulosa. Menempelnya senyawa fenol dan siderofor pada biji ada indikasi bahwa molekul-molekul dari senyawa-senyawa tersebut berikatan secara kimia dengan molekul lemak, pektin, selulosa yang merupakan komposisi pada kulit biji sehingga ketika digunakan untuk uji antagonisme mampu membentuk zona terang. Siderofor merupakan suatu senyawa yang tersusun dari molekul hidrosamat dan katekol dapat menempel pada kulit biji yang tersusun dari lemak, pektin dan selulosa. Penelitian yang dilakukan oleh Zhou *et al.* (2013) menyebutkan bahwa kulit biji tomat bersifat semipermeabel dan tersusun dari lemak, pektin dan selulosa, hal ini dibuktikan dengan teknik pewarnaan dan analisa histokimia. Produksi fenol oleh bakteri endofit cukup tinggi sehingga mempengaruhi efektivitasnya terhadap penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum*. Produksi fenol oleh kedua isolat bakteri endofit tersebut dipengaruhi oleh medium tumbuh bakteri yaitu NA yang diduga mendukung pertumbuhan bakteri endofit dan kemampuannya untuk memproduksi fenol.

### KESIMPULAN

Berdasar hasil penelitian disimpulkan : isolat bakteri endofit H, I, J mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* pada media agar dengan ukuran zona terang 0,22-3,0 mm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Hallmann, J.S., 2001. Bacterial Endophytes in Cotton : Mechanisms of Entering the Plant. *Can. J. Microbiol.* 43 : 577-582.
- Malfanova, N.V., 2013. Endophytic bacteria with plant promoting and biocontrol abilities. Thesis. Leiden Univ.
- Purnawati, A., dan H, Nirwanto. 2009. Potensi Bakteri Endofit sebagai Agen Pengendali Biologi dan Aplikasinya pada Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*) di Sentra Ubikayu Jawa Timur. Laporan Penelitian Hibah Bersaing.
- Purnawati, A. 2013. Efek Mikroba Endofit terhadap *Ralstonia solanacearum* Penyebab Layu pada tanaman Tomat. Disertasi. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Univ. Brawijaya. Malang. pp115.
- Purnawati, A., N. Rahmadhini., E. Syafriani. 2018. Eksplorasi Bakteri Endofit Potensial Dari Tanaman Pertanian Dataran Rendah Terhadap *Ralstonia solanacearum*. Laporan Penelitian Riset Unggulan Keilmuan.
- Sastrahidayat, I.R. dan Djauhari S. 2012. Teknik Penelitian Fitopatologi. UB Press. Malang. pp164.
- Widayanto, E. B., 2008. Pemanfaatan Jamur Endofit Sebagai Agens Pengendalian Hayati *Fusarium axysporum* Penyebab Layu Fusarium pada Pisang. Disertasi Program Doktor Ilmu Pertanian UB. pp108.
- Zhou, J., Y, Wang, Z. Jahufer. 2013. Location and Chemical Composition of Semipermeable Layer Forage Seeds. *Bangladesh J. Bot.* 42 (1) : 23-29.