

UJI ANTAGONIS BAKTERI ENDOFIT ASAL TANAMAN JAGUNG TERHADAP *Fusarium sp.* PENYEBAB PENYAKIT LAYU FUSARIUM

Andini Hanif*

*Staf Pengajar Fakultas Pertanian UMSU

ABSTRAK

Bakteri endofit dilaporkan mampu menghasilkan senyawa metabolit yang berpotensi memiliki senyawa anticendawan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri endofit asal tanaman jagung yang antagonis terhadap cendawan patogen *Fusarium sp.* Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan metode sterilisasi permukaan, selanjutnya dilakukan uji hipersensitif terhadap isolat bakteri yang diperoleh untuk menyeleksi bakteri patogen dan non patogen. Isolat bakteri endofit diuji kemampuan antagonisnya terhadap cendawan *Fusarium sp.* Dengan metode *dual culture*. Hasil penelitian diperoleh 31 isolat bakteri endofit non patogen. Uji antagonis menunjukkan tiga bakteri endofit berpotensi menghambat cendawan *Fusarium sp.* yaitu isolat EF14III dengan daya hambat sebesar 64.4%, ER1I dengan daya hambat sebesar 58.0%, dan ER10I dengan daya hambat sebesar 56.4%. Berdasarkan karakterisasi secara morfologi, biokimia, dan fisiologi isolat EF14III diidentifikasi sebagai *Lactobacillus sp.*, ER1I diidentifikasi sebagai *Pseudomonas sp.*, dan ER10I diidentifikasi sebagai *Aeromonas sp.*

Kata kunci: *Aeromonas sp.*, Bakteri endofit, *Fusarium sp.*, Jagung, *Lactobacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* Uji Antagonis.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Bakteri endofit adalah bakteri yang terdapat dalam jaringan tanaman sehat yang tidak menimbulkan gejala penyakit dan tidak merugikan tanaman inang. Bakteri endofit dapat diisolasi dan diekstraksi pada media tumbuh bakteri dengan teknik sterilisasi permukaan. Bakteri endofit dapat hidup pada akar, batang, daun, dan buah tanaman, dan umumnya mengkolonisasi bagian interselluler dari jaringan tanaman inang, sistem pembuluh, serta dapat ditranslokasikan secara sistemik ke seluruh bagian tanaman. Pada saat ini, mikroba endofit banyak diteliti karena memiliki manfaat dan efek positif pada tanaman inang seperti antimikroba, hormon pertumbuhan, fiksasi nitrogen, mobilitas fosfat, produksi siderofor, induksi SAR dan ISR, serta meningkatkan ketahanan terhadap stres lingkungan (Hallmann *et al.* 1997).

Pengendalian penyakit dengan aplikasi bahan kimia, paling banyak digunakan karena paling efektif dan efisien dalam menekan penyakit, tetapi pengendalian tersebut berdampak negatif bagi lingkungan karena meninggalkan residu bahan kimia pada lingkungan dan organisme lain. Salah satu pengendalian penyakit tanaman adalah pemanfaatan menggunakan mikroba endofit yang berasal dari jaringan tanaman baik pada daun, akar, buah, batang, dan juga benih. Mikroba endofit hidup bersimbiosis saling menguntungkan dengan tanaman inang, dalam hal ini mikroba endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman dari serangan mikroorganisme patogen, herbivora, serangga, sedangkan tanaman mendapatkan nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selam hidupnya (Tanaka *et al.* 1999).

Disamping itu, mikroba endofit memiliki banyak peran bagi tanaman, misalnya sebagai perangsang pertumbuhan tanaman, pemicu inang untuk memproduksi fitoaleksin, bertahan dalam kondisi stres, sekaligus sebagai agens pengendalian hayati. Mikroba endofit memiliki kelebihan sebagai agens hayati, yaitu mudah dibiakkan secara *in vitro*, mudah diaplikasikan, misalnya melalui perlakuan biji, terhindar dari kompetisi dengan mikroba lain khususnya bakteri rhizosfer, dan memiliki kemampuan dalam mempengaruhi tanaman merespons serangan parasit, tidak menghasilkan racun terhadap tanaman, bahkan menghasilkan hormon perangsang tumbuh (Siddiqui dan Shaukat, 2003). Penggunaan bakteri endofit sebagai agens hayati memiliki keuntungan dibandingkan dengan mikrob antagonis lainnya karena mikroba endofit sudah ada, hidup, dan bertahan di dalam jaringan selama perkembangan tanaman dan memberi perlindungan bagi tanaman. Bakteri endofit yang diisolasi dari akar jagung dilaporkan memiliki aktivitas anticendawan terhadap *Fusarium verticillioides*, *Colletotrichum graminicola*, *Bacillus maydis*, dan *Cercospora* sp. dengan persentase penghambatan hingga 70% (Zecchin *et al.* 2014).

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2014 sampai dengan Januari 2015 di Laboratorium Mikologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah *blackdisk paper* ukuran 0,6 cm (Oxoid), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Tripton Soya Agar/Broth* (TSA/TSB), tanaman jagung varietas Scada asal kecamatan Medan Selayang Sumatera Utara, dan cendawan *Fusarium* sp., alcohol, NaOCl 3%, aquades, tembakau, *blanckdisk paper*.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *laminar air flow*, *autoclave*, *shaker*, incubator, mortar, tabung reaksi, cawan petri, mikro pipet, batang penyebar, jarum ose, syringe (suntikan)

Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Jagung dan Uji Hipersensitif

Bakteri endofit diisolasi dari tanaman jagung yang sehat berumur 2 bulan dari bagian akar, batang, daun, dan benih yang diambil dari lapangan. Masing-masing bagian tanaman ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Sterilisasi permukaan jaringan tanaman dengan perendaman alkohol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dengan perendaman dalam NaOCl 3% selama 3 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Jaringan tanaman yang telah disterilisasi dioles pada media TSA 20% dan diinkubasi selama dua hari, untuk menguji keberhasilan sterilisasi permukaan. Akar, batang, daun, dan benih jagung yang telah disterilisasi dihaluskan dengan menggunakan mortar steril hingga terbentuk suspensi tanaman 10^0 . Suspensi tanaman sebanyak 1 mL dicampurkan dalam 9 mL akuades steril dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*.

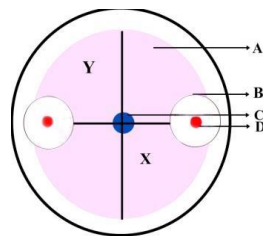
Pengenceran berseri dilakukan hingga tingkat pengenceran 10^{-3} . Masing-masing suspensi pengenceran diambil sebanyak 0.1 mL, dan disebar pada media TSA 20% lalu diinkubasi selama 1 hingga 2 hari pada suhu ruang. Koloni bakteri yang tumbuh diamati jumlah dan dikarakterisasi koloni berdasarkan bentuk, pinggir, permukaan, elevasi, dan warna koloni. Masing-masing bakteri yang didapat lalu dimurnikan pada media TSA 100% (Munif *et al.* 2012).

Uji hipersensitif adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui patogenisitas patogen (kemampuan patogen dalam menyebabkan penyakit). Teknik pengujian ini dilakukan dengan cara menginokulasi suspensi bakteri pada tanaman tembakau kemudian diinkubasi. Suspensi bakteri dibuat dengan mencampurkan 1 lup bakteri ke dalam 100 mL TSB kemudian digoyang dengan *shaker* selama 24 jam pada kecepatan 150 rpm hingga suspensi bakteri dengan kerapatan 10^8 sel/mL. Sebanyak 0.1 mL suspensi bakteri diambil dengan alat penyuntik kemudian disuntikkan pada daun tembakau dan diinkubasi selama 24 hingga 48 jam, pengamatan dilakukan dengan mengamati munculnya gejala nekrotik pada daun tembakau setelah masa inkubasi 24 jam (Schaad *et al.* 2000).

Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap Cendawan Patogen secara *In vitro*

Isolat baktei endofit yang tidak menimbulkan gejala nekrotik pada uji hipersensitif selanjutnya diuji kemampuannya sebagai antagonis terhadap *Fusarium* sp. Sebanyak 1 ose dari isolat biakan murni bakteri endofit ditumbuhkan pada media TSB dalam tabung reaksi kemudian dishaker selama 24 jam. *Fusarium* yang digunakan merupakan biakan muni pada medium PDA yang berumur 24 jam. Biakan *Fusarium* sp. berdiameter 5 mm diletakkan di tengah cawan yang berisi media PDA. *Blankdisk paper* berdiameter 6 mm direndam dalam suspensi bakteri endofit (10^8 sel mL^{-1}) pada media TSB selama 30 menit dan diletakkan pada dua bagian tepi media PDA. Biakan ini diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25 °C. *Blankdisc paper* steril digunakan sebagai kontrol. Aktivitas penghambatan ditentukan berdasarkan zona hambat yang terbentuk di sekitar koloni (Gambar 1). Pengamatan aktivitas penghambatan dimulai dari hari ke-2 sampai hari ke-7 (Suryanto *et al.* 2011). Daya hambat bakteri endofit terhadap *Fusarium* sp. dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Daya hambat} = \frac{Y-X}{Y} \times 100\%$$



Gambar 1 Metode pengukuran daya hambat bakteri terhadap koloni cendawan, (A) koloni cendawan, (B) zona hambat bakteri endofit terhadap koloni cendawan, (C) titik tengah cendawan diletakkan, (D) koloni bakteri endofit, (X) diameter koloni cendawan yang terhambat pertumbuhannya, (Y) diameter koloni cendawan norma

HASIL

Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Jagung dan Uji Hipersensitif

Sebanyak 67 isolat bakteri endofit asal tanaman jagung berhasil diisolasi, 20 isolat bakteri berasal dari akar, 11 isolat bakteri berasal dari batang, 24 isolat bakteri berasal dari daun, dan 12 isolat bakteri dari benih. Sebanyak 31 isolat bakteri tidak menunjukkan reaksi hipersensitif pada daun tembakau (Tabel 1).

Tabel 1 Jumlah isolat bakteri asal tanaman jagung dan uji hipersensitif

Bagian tanaman jagung	Jumlah isolat bakteri	Uji hipersensitif	
		Bakteri patogen	Bakterinon patogen
Akar	20	8	12
Batang	11	7	4
Daun	24	16	8
Benih	12	5	7
Total	67 (100%)	36 (53%)	31 (46%)

Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap *Fusarium sp.* secara *In vitro*

Hasil uji antagonis secara *in vitro* 31 isolat bakteri endofit non patogen terhadap *Fusarium sp.*, diperoleh 3 isolat bakteri endofit yang menunjukkan daya hambat tertinggi terhadap *Fusarium sp.*, (Gambar 2), yaitu isolat EF14III, isolat ER1I, dan isolat ER10I, masing-masing sebesar 64.4%, 58.0%, dan 56.4% (Tabel 2).

Tabel 2 Daya hambat isolat bakteri endofit terhadap *Fusarium sp.* pada media PDA

Isolat Bakteri	Daya hambat (%) hari ke-					
	2	3	4	5	6	7
ER3	25.0	33.4	37.5	44.8	49.9	48.6
ER4	15.1	23.6	36.4	40.4	42.3	42.4
ER1I	16.76	34.5	45.2	51.4	54.7	58.0
ER4I	-1.3	12.8	28.3	40.6	17.8	16.7
ER9I	1.4	20.5	34.4	43.0	47.5	49.9
ER10I	12.3	31.7	39.6	48.9	52.8	56.4
ER1II	1.5	11.9	24.4	34.4	40.7	45.6
ER3II	1.7	13.5	25.8	33.4	22.7	22.8
ER4II	9.6	19.6	28.9	37.5	46.3	52.4
ER8II	19.4	33.7	41.4	46.0	50.2	52.6
ER1III	1.4	13.8	29.3	39.8	46.5	50.9
ER2III	2.8	3.7	2.1	2.8	7.2	7.5
EC16	8.1	8.3	20.3	24.7	35.0	37.0
EC2I	4.0	7.1	14.7	13.3	8.5	7.8
EC5I	3.2	8.7	21.4	29.6	31.0	20.6

EC13II	10.6	23.8	32.0	39.8	44.6	52.0
EF1I	1.1	6.9	20.7	26.2	19.3	18.5
EF6I	0.8	11.9	28.2	34.4	32.1	22.2
EF6II	4.0	10.2	9.0	3.1	13.1	19.0
EF7II	3.9	12.6	19.6	28.8	30.6	26.4
EF4III	21.9	28.1	32.5	38.5	42.6	46.0
EF5III	4.4	10.0	20.8	23.2	14.0	11.5
EF10III	1.2	12.6	26.4	37.0	42.9	46.9
EF14III	19.2	32.9	47.3	54.0	61.2	64.4
ES3	1.9	7.6	20.0	30.1	28.1	26.0
ES5	1.4	4.8	19.2	27.9	22.4	14.5
ES7	-1.5	8.1	22.6	29.0	14.6	11.0
ES6	2.2	3.8	15.5	25.5	19.1	21.2
ES13	2.1	13.6	32.5	40.8	45.0	47.3
ES14	1.4	12.7	28.2	35.9	38.5	20.4
ES18	0.7	9.6	25.9	29.4	30	26.6



Gambar 2 Daya hambat bakteri endofit; (A) ER10I, (B) EF14III, (C) ER1I, terhadap *Fusarium* sp. pada hari ke 7 setelah inokulasi pada media PDA.

Berdasarkan pada karakter morfologi, fisiologi, dan biokimianya yang dilakukan di....., maka isolat EF14III, ER1I dan ER10I diidentifikasi berturut-turut sebagai *Lactobacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Acromonas* sp. (Tabel 3).

Tabel 3 Karakterisasi Morfologi, Fisologis dan Biokimia Bakteri Endofit

Pengamatan	Isolat Bakteri		
	EF14III	ER1I	ER10I
Ujuran koloni	0.1-1mm	0.5mm	1mm
Bentuk koloni	Circular	Circular	Circular
Elevasi koloni	Datar	Raised	Datar
Tepi koloni	Entire	Entire	Entire
Warna koloni	Cream	Yellowish translucent	Kuning
Morfologi sel	Bacill	Bacill	Bacill
Uji gram	+	-	-

Ukuran sel	0.5; 1µm	0.25; 0.75µm	0.5; 0.75µm
O ₂	+	+	+
Glukosa	+	+	+
Endospora	-	-	-
Hidrolisis casein	-	+	+
Katalase	+	+	+
Salt resistance	+	-	-
Hidrolisis starch	+	-	-
Haemolisis	-	-	-
Anaerobik	+	-	+
KOH	+	-	+
Oxidase	+	+	+
Motility	+	-	-
Nitrate	+	+	+
Lysine	-	+	+
Ornithine	-	-	-
H ₂ S	-	-	-
Glucose	-	-	+
Mannitol	-	-	-
Xylose	-	-	-
ONPG	-	+	+
Indole	-	-	-
Urease	-	-	-
V-P	-	-	+
Citrate	-	-	+
TDA	-	-	-
Gelatin	+	+	+
Malonate	-	+	+
Inositol	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
Rhamnose	-	-	-
Sucrose	-	-	+
Lactose	-	-	+
Arabinose	-	-	+
Adonitol	-	-	-
Raffinose	-	-	-
Salicin	-	-	-
Arginine	-	+	+
	<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.

PEMBAHASAN

Penelitian untuk memperoleh bakteri endofit dari tanaman jagung telah banyak dilakukan. Fisher *et al.* (1992), melaporkan bakteri endofit yang diisolasi dari batang jagung ialah *Pseudomonas corrugata*, *P. fluorescens*, *P. marginalis*, *Enterobacter agglomerans*, *Vibrio* sp., *Klebsiella terrigena*. Demikian juga bakteri endofit *Bacillus* sp., *Cellulomonas* sp., *Kurtia* sp., *Microbacterium* sp., *Pediococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. (Orole dan Adejumo 2011). Liu *et al.* (2012) melaporkan isolat bakteri endofit berasal dari benih jagung ialah bakteri genus *Burkholderia*, *Limnobacter*, *Pantoea*, dan *Undibacterium*.

Mekanisme antibiosis bakteri endofit terhadap cendawan patogen berkaitan dengan kemampuan isolat bakteri endofit menghasilkan enzim degradasi seperti kitinase, protease, dan selulase serta senyawa lainnya yang berkaitan dengan induksi ketahanan tanaman inang (Hallmann *et al.* 1997). Soesanto *et al.* (2010) melaporkan aplikasi bakteri *P. fluorescens* mampu menekan tingkat infeksi *F. oxysporum* sebesar 73.1–79.0%. *P. fluorescens* mengendalikan penyakit dengan induksi resistensi dan antibiosis. Selain itu bakteri endofit juga menghasilkan senyawa iturin, surfactin, dan kitinase yang menghambat pertumbuhan cendawan *Fusarium* sp. (Yuliar *et al.* 2013). Bakteri *P. fluorescens* dilaporkan mampu menekan pertumbuhan *F. oxysporum* secara *in vitro* sebesar 3.2–66.6% (Rahayuniati dan Mugiastuti 2012). Hasanuddin (2011), melaporkan *P. fluorescens* juga mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen *Rigidoporus lignosus*. Halder *et al.* (2013), melaporkan bakteri *Aeromonas hydrophila* memproduksi enzim kitinase yang bersifat anti cendawan terhadap cendawan patogen *A. Flavus* dan *F. Oxysporum* dengan penghancuran dinding sel patogen. Sedangkan *Lactobacillus plantarum* menghasilkan senyawa anti cendawan yang mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen *F. Sporotrichioides* dan *Aspergillus Fumigatus* pada uji antagonis *dual culture* (Strom K *et al.* 2002).

Daftar Pustaka

- Fisher PJ, Petrini O, Scott HM. 1992. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea Mays* L.). *New Phytol.* 122: 299-305.
- Halder SK, Maity C, Jana A, Das A, Paul T, Mahopatra PKD, Pati BK, Mondal KC. 2013. Proficient biodegradation of shrimp shell waste by *Aeromonas hydrophila* SBK1 for the concomitant production of anti cendawan chitinase and antioxidant chitosaccharides. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 79: 88-97. doi:10.1016/j.ibiod.2013.01.011
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffe WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crop. *Can J Microbiol.* 43: 895-914.
- Hasanuddin. 2011. Uji aktivitas antibiosis *Pseudomonas fluorescent* terhadap *Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) Imazeki penyebab penyakit akar putih. *J HPT.* 11(1): 87-94
- Ikeda AC, Bassani LL, Adamoski D, Sstringari D, Corderio VK, Glienke C, Steffens MB, Hungria M, Galli-Terasawa LV. 2013. Morphological and genetic characterization of endophytic bacteria isolated from roots of different maize genotypes. *Microb Ecol.* 65:154–160. doi: 10.1007/s00248-012-0104-0.
- Liu Y, Zuo S, Zuo Y, Wang J, Song W. 2012. Investigation on diversity and population succession dynamics of endophytic bacteria from seeds of maize (*Zea mays* L., Nongda108) at different growth stages. *Ann Microbiol.* doi: 10.1007/s13213-012-0446-3.
- Munif A, Hallmann J, Sikora R. 2012. Isolation of endophytic bacteria from tomato and their biocontrol activities against fungal diseases. *Microbiology.* 6(4): 148-156. doi: 10.545/mi.6.4.2
- Orole OO, Adejumo TO. 2011. Bacterial and fungal endophytes associated with grains and roots of maize. *JEcol Natur Envir.* 3(9): 298-303.
- Rahayuniati RF, Mugiastuti E. 2012. Keefektifan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* mengendalikan *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* dan *Meloidogyne* sp. penyebab penyakit layu pada tomat secara *in vitro*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan.* 12(1): 65 - 70
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2000. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.* Third edition. American Phytopathological Society, APS Press: St. Paul.
- Siddiqui IA, Shaikat SS. 2003. Endophytic bacteria: Prospects and opportunities for the biological control of plant-parasitic nematodes. *NematolMedit.* 31:111–120.

- Soesanto L, Mugiastuti E, Rahayuniati RF. 2010. Kajian mekanisme antagonis *Pseudomonas fluorescens* P60 terhadap *Fusarium oxysporum* F.SP. *Lycopersici* pada tanaman tomat *In vivo*. *J HPT Tropika*. 10(2): 108-115.
- Strom K, Sjogren J, Broberg A, Schnurer J. 2002. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 Produces the Anti cendawan Cyclic Dipeptides Cyclo(L-Phe-L-Pro) and Cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-Phenyllactic Acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(9): 4322-4327. DOI: 10.1128/AEM.68.9.4322-4327.2002
- Suryanto D, Irawati N, Munir E. 2011. Isolation and characterization of chitinolytic bacteria and their potential to inhibit plant pathogenic fungi. *Microbiol Indones.* 5(2) : 144-148.
- Tanaka M, Sukiman H, Takebayashi M, Saito K, Suto M, Prana MS, Tomita F. 1999. Isolation, Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment.* 14(4): 237-241.
- Yuliar, Suciati, Supriyati D, Rahmansyah M. 2013. Biodiversity of endophytic bacteria and their antagonistic activity to *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporium*. *GJBHS.* 2(4): 111-118
- Zecchin VJS, Ikeda AC, Hungria M, Adamoski D, Cordeiro VK. 2014. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. *AMB Express.* 4(26):1-9.