

Aktivitas Penghambatan Isolat Bakteri dan Rizosfer dari Empat Jenis Bambu Toraja Terhadap Jamur Penyebab Busuk Tanaman

Maisya Zahra Al Banna^{1*} dan Hartati²

^{1,2} Program Studi Pendidikan Biologi, STKIP Pembangunan Indonesia, Jln. Inspeksi Kanal Citra Land No. 10 Makassar

Email : mais yazahra.mz@gmail.com

Abstrak

Sulawesi Selatan memiliki keragaman jenis Bambu yang tinggi, diantaranya tersebar di beberapa wilayah Kabupaten Tana Toraja. Salah satu konservasi tanaman Bambu asli Tana Toraja terdapat di Stasiun Ujicoba Mengkendek. Bambu bagi masyarakat Toraja bukan hanya sekedar sebagai tanaman pemenuh kebutuhan dasar saja, tetapi keberadaannya menjadi tolak ukur kelayakan suatu acara upacara adat. Potensi Bambu sebagai tanaman obat juga telah banyak dilaporkan dalam beberapa penelitian yang telah dipublikasikan. Penelitian lain menyebutkan bahwa bakteri endofit yang terdapat dalam jaringan Bambu memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antifungal yang berpotensi dikembangkan sebagai agens hayati. Bakteri rizosfer di sekitar daerah perakaran Bambu juga dilaporkan dapat dikembangkan sebagai pupuk hayati pemacu pertumbuhan tanaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat bakteri endofit yang terdapat pada bagian akar, rebung dan daerah tanah sekitar perakaran tanaman bambu, serta kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur uji *Fusarium sp.*, *Culvularia sp.* dan *Rhizoctonia solani*. Jamur *Fusarium sp.* dihambat oleh dua isolat, yaitu isolat bakteri endofit asal akar bambu talang (A.Tl2) sebesar 6%, dan isolat bakteri endofit akar bambu 'blitz' (A.Bz1) sebesar 25%. Jamur *Rhizoctonia solani* dihambat mencapai 63% oleh isolat bakteri endofit akar bambu talang (A.Tl2), dan 60% oleh isolat bakteri rizosfer bambu 'blitz'. Pada *Culvularia sp.* dihambat oleh tiga isolat berbeda, yaitu isolat bakteri endofit asal akar bambu hitam sebesar (A.Hi) 52%, isolat bakteri rizosfer bambu hitam (Ri.Hi) 30%, dan isolat bakteri endofit asal rebung bambu batik (Re.Bt2) 25%.

Kata kunci : Bambu, Bakteri Endofit, Bakteri Rizosfer, Jamur

Latar Belakang

Bambu dikenal sebagai tanaman multifungsi serta ramah lingkungan, dan dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan dasar selama lebih dari 1.5 milyar tahun yang lalu. Penggunaan Bambu dalam bidang pengobatan memiliki catatan sejarah yang panjang. Bambu sekaligus juga digunakan sebagai bagian dari upaya konservasi tanah dan air, karena memiliki sistem perakaran yang banyak sehingga menghasilkan rumpun yang rapat dan mampu mencegah erosi tanah. Kabupaten Tana Toraja memiliki enam jenis Bambu lokal yang tersebar secara alami, dan merupakan jumlah jenis tertinggi dibandingkan dengan daerah lainnya di kawasan Sulawesi Selatan. Salah satu konservasi tanaman Bambu asli Tana Toraja terdapat di stasiun ujicoba Mengkendek. Mengkendek merupakan salah satu kecamatan yang terdapat di kabupaten Tana Toraja,

dengan luas wilayah diperkirakan mencapai 190 km². Bambu bagi masyarakat Toraja sendiri memiliki arti yang sangat penting. Keberadaan Bambu dianggap sebagai bagian yang harus terpenuhi dalam menyelenggarakan pesta dan keperluan adat setempat. Tanpa Bambu, maka upacara adat ataupun penyelenggaraan pesta menjadi suatu hal yang tidak bermakna. Berdasarkan informasi tersebut, maka dipilihlah Kabupaten Tana Toraja sebagai daerah target pengambilan sampel beberapa tanaman Bambu.

Susanti *et al.* (2015) melaporkan bahwa bakteri rizosfer dari tanaman Bambu di wilayah Bogor mencakup *Gigantochloa apus*, *Dendrocalamus asper*, *Scyzostachyum longispiculatum*, dan *Bambu vulgaris* memiliki aktivitas antagonis terhadap pertumbuhan cendawan *Phytophthora palmivora*. Sementara itu Darma (2016) menemukan bahwa *Basillus subtilis* yang diisolasi dari rizosfer Bambu memiliki aktivitas antifungi terhadap

Sclerotium rofsii. Penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri pada produk olahan Bambu, seperti minum anggur dari Bambu dan arang Bambu. Ekstrak tanaman Bambu *Phyllostachys pubescens* juga dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram Negatif, *Escherichia coli* (Lu *et al.*, 2005; Sulaiman *et al.*, 2005, Shan *et al.*, 2008 & Afrin *et al.*, 2012).

Metode Penelitian

Pengumpulan Sampel

Perolehan sampel meliputi akar, rebung serta tanah di sekitar daerah perakaran bambu. Tanaman bambu yang digunakan dalam penelitian ini adalah bambu hitam, bambu talang, bamboo batik dan bambu 'blitz'. Isolasi bakteri endofit menggunakan sampel berupa sayatan akar dan rebung bambu, sedangkan isolasi bakteri rizosfer menggunakan sampel tanah di sekitar perakaran dengan kedalaman kurang lebih 20 cm dari permukaan tanah. Untuk menjaga viabilitas dari bakteri endofit dan rizosfer, setiap sampel yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin pada suhu -20°C.

Isolasi Bakteri Endofit

Metode isolasi bakteri endofit dilakukan berdasarkan Munif (2001) dan Yuan *et al.* (2015), sampel berupa buluh dan daun Bambu dibersihkan dengan akuadest steril dan dikeringkan menggunakan kertas filter steril. Sebanyak satu gram dari masing-masing sampel Bambu direndam dalam etanol 75% selama 5 menit, kemudian dipindahkan ke dalam larutan pemutih kloroks selama 3 menit. Selanjutnya dicuci bersih menggunakan akuadest steril. Masing-masing sampel dioleskan pada cawan petri yang berisi medium *Nutrient Agar* (NA, sebagai kontrol). Jika bakteri tumbuh pada kontrol perlu diidentifikasi bakteri yang akan tumbuh sebagai bakteri endofit menggunakan penanda bakteri pada kontrol. Selanjutnya sampel dipindahkan ke dalam mortar steril dan digerus halus. Sampel akar dan rebung bambu

dipotong-potong menggunakan gunting steril dan ditumbuhkan pada medium NA.

Isolasi Bakteri Rizosfer

Sebanyak 1 gram tanah rizosfer diencerkan secara bertingkat menggunakan akuadest steril. Sebanyak 100 µl ekstrak dari seri pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} dimasukkan ke dalam cawan petri steril berisi medium NA dan kemudian disebar rata dalam cawan petri.

Aktivitas Antagonis Bakteri Terhadap Jamur Uji

Isolat bakteri endofit dan rizosfer yang telah diidentifikasi selanjutnya akan diujikan secara *in vitro* terhadap tiga jamur uji, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani* dan *Culvularia sp* yang ditumbuhkan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). Metode pengujian aktivitas antagonistik diacu dari Darma *et al.* (2016), isolat bakteri endofit dan rizosfer terpilih digores pada medium PDA, sepanjang 2 cm dari ujung atas sampai dengan ujung bawah cawan petri. Selanjutnya sebanyak 1 x 1 cm² miselium jamur uji diinokulasikan tepat di bagian tengah cawan petri yang berisi PDA. Aktivitas penghambatan cendawan diketahui dengan cara mengamati pertumbuhan miselia di sekitar medium PDA. Persentase hambatan dihitung berdasarkan Nugruho *et al.* (2001), dengan rumus :

$$P = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100 \%$$

Keterangan:

P = Persentase penghambatan

r1 = Jari-jari koloni bakteri yang berlawanan arah dengan jamur uji

r2 = Jari-jari koloni bakteri menuju ke arah jamur uji

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan secara biokimia, yang terdiri dari pengecetan Gram, uji katalase dan sitrat, uji Methyl Red Voges Proskeuer (MRVP) dan Tripton Iron Sugar Agar (TISA)

Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian diperoleh 12 isolat bakteri, masing-masing berasal dari akar, rebung dan rizosfer dari setiap tanaman bambu yang digunakan. Isolat yang diperoleh

selanjutnya diamati bentuk makroskopisnya berupa ukuran, bentuk, elevasi, permukaan, margin dan pigmen setiap koloni yang teramati (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Bakteri Endofit dan Rizosfer pada Tanaman Bambu

Jenis Bambu		Kode isolat	Ukuran	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Margin	Pigmen
Hitam	Akar	AHi.2	Sedang	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	Kasar	<i>Entire</i>	Putih Susu
	Rebung	ReHi.2	Sedang	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Entire</i>	Putih Susu
	Rizosfer	RiHi.2	Besar	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	Halus	<i>Entire</i>	Putih kekuningan
Talang	Akar	ATl.2	Sedang	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	Berkerut	<i>Entire</i>	Putih bening
	Rebung	ReTl.2	Besar	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	Berkerut	<i>Curled</i>	Putih Bening
	Rizosfer	RiTg.2	Kecil	<i>Circular</i>	<i>Rata</i>	Halus	<i>Entire</i>	Putih Bening
Batik	Akar	ABt.3	Kecil	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	Halus	<i>Entire</i>	Putih Kekuningan
	Rebung	ReBt.2	Besar	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	Halus	<i>Undulate</i>	Putih Susu
	Rizosfer	RiBt.1	Besar	<i>Irregular</i>	<i>Rata</i>	Halus	<i>Curled</i>	Putih susu
Blitz	Akar	ABz.1	Sedang	<i>Rhizoid</i>	<i>Raised</i>	Kasar	<i>Rhizoid</i>	Putih bening
	Rebung	ReBz.2	Sedang	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	Berkerut	<i>Entire</i>	Putih bening
	Rizosfer	RiBz.1	Besar	<i>Irregular</i>	<i>Rata</i>	Kasar	<i>Lobate</i>	Putih susu

Aktivitas penghambatan terhadap jamur uji dilakukan dengan cara *in vitro* melalui pengamatan pertumbuhan miselium jamur pada media pertumbuhan. Hasil uji antagonis terlihat pada Gambar 2. Dari seluruh isolat terpilih yang telah diidentifikasi secara makroskopis, hanya enam (6) isolat yang menunjukkan mampu menghambat pertumbuhan miselium jamur uji. Jamur *Fusarium sp* hanya dapat dihambat pertumbuhan oleh isolat bakteri endofit asal akar bambu talang sebesar 5.7%, dan isolat bakteri endofit asal akar bambu blitz sebesar 24%. Miselium jamur *Rhizostonia solani*

mampu dihambat oleh isolat bakteri endofit asal akar bambu talang sebesar 64% dan 60% oleh isolat bakteri rizosfer bambu blitz. Sedangkan jamur *Culvularia sp* dihambat mencapai 51% oleh isolat bakteri endofit asal akar bambu hitam dan 30% oleh isolat bakteri rizosfer bambu hitam, serta 25% oleh isolat bakteri rebung bambu batik. Tabel 2 menunjukkan hasil penghambatan isolat bakteri yang dinyatakan dalam nilai persentase. Dari hasil tersebut diketahui bahwa umumnya satu isolat bakteri hanya dapat menghambat satu jenis jamur uji.

Tabel 2. Persentase penghambatan isolat bakteri terhadap jamur uji

Jenis Bambu	Bagian	Kode Isolat	Persentase Penghambatan Jamur Uji (%)		
			<i>Fusarium sp</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Culvularia sp</i>
Bambu Hitam	Akar	A.Hi	-	-	52
	Rizosfer	Ri.Hi	-	-	30
Bambu Talang	Akar	A.Tl2	6	63	-
Bambu Batik	Rebung	Re.Bt2	-	-	25
Bambu Blitz	Akar	A.Bz1	25	-	-
	Rizosfer	Ri.Bz2	-	60	-

Lima isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap tiga jenis jamur uji, selanjutnya diidentifikasi secara biokimia. Identifikasi biokimia terdiri dari pengujian Gram, katalase, sitrat, motilitas dan produksi gas H₂S, uji katalase, uji sitrat dan uji kemampuan isolat dalam melakukan fermentasi pada substrat gula glukosa, laktosa dan sukrosa. Hasil pengecatan Gram

menunjukkan bahwa empat diantara isolat yang ditemukan tergolong sebagai bakterio Gram negatif, dan hanya satu isolat merupakan bakteri Gram positif yaitu isolat Re.Bt2. Seluruh isolat bakteri berbentuk bulat, memiliki kemampuan bergerak/motilitas pada media semi padat serta menghasilkan enzim katalase (Tabel 3).

Tabel 3. Identifikasi Bakteri Berdasarkan Pewarna Gram, Bentuk Sel dan Pengujian Motilitas

Kode Isolat	Gram	Bentuk Sel	Uji SIM			Uji Katalase	Uji Sitrat
			Indol	Motility	H ₂ S		
A.Hi	Negatif	Bulat	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Positif
Ri.Hi	Negatif	Bulat	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif
A.Tl2	Negatif	Bulat	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Positif
Re.Bt2	Positif	Bulat	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Positif
A.Bz1	Negatif	Bulat	Positif	Positif	Positif	Positif	Negatif
Ri.Bz2	Negatif	Bulat	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Positif

Hasil uji indol menunjukkan satu isolat positif penghasil indol dan mampu menghasilkan H₂S yaitu isolat A.Bz1. Positif pada uji sitrat ditunjukkan oleh isolat Re.Bt2, A.Tl2, Ri.Bz2, dan A.Hi. Uji kemampuan fermentasi gula menunjukkan hasil negative pada

kelompok sukrosa dan laktosa, namun mampu melakukan fermentasi jika terdapat substrat berupa gula (Tabel 4). Perbedaan karakteristik yang diperoleh ini akan memudahkan proses seleksi isolat untuk keperluan identifikasi secara molekular.

Tabel 4. Uji Fermentasi Gula Menggunakan Uji MRVP dan TSIA

Kode Isolat	Uji MRVP - TSIA
A.Hi	Fermentasi Sukrosa & Laktosa (-) Fermentasi Glukosa (+)
Ri.Hi	Fermentasi Sukrosa & Laktosa (-) Fermentasi Glukosa (+)
A.Tl2	Fermentasi Sukrosa & Laktosa (-) Fermentasi Glukosa (+)
Re.Bt2	Fermentasi Sukrosa & Laktosa (-) Fermentasi Glukosa (+)
A.Bz1	Fermentasi Sukrosa & Laktosa (-) Fermentasi Glukosa (+)
RiBz.2	Fermentasi Sukrosa & Laktosa (-) Fermentasi Glukosa (+)

Bakteri endofit dan rizosfer tanaman bambu memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai sumberdaya hayati bagi pertanian, hal ini disebabkan karena kemampuannya sebagai pemacu pertumbuhan, biokontrol dan tahan terhadap penyakit. Adapun mekanisme

penghambatan fitopatogen oleh bakteri endofit dilakukan melalui (i) kompetisi antara bakteri dan patogen untuk memperoleh substrat pertumbuhan, produksi senyawa antibiotik dan antifungal, produksi enzim ekstraselular berupa kitinase untuk melisiskan sel patogen

dan degradasi asam fusarat yang dihasilkan oleh jamur patogen, serta produksi komponen volatil yang berperan sebagai molekul penanda interaksi antara sel tanaman dan mikroba. Mekanisme penghambatan hifa jamur oleh bakteri endofit ditandai dengan terjadinya lisis pada permukaan sel hifa (Rakholiya & Khunt, 2015; LongFei *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan isolat bakteri endofit terhadap jamur uji lebih tinggi dibandingkan isolat rizosfer.

Kesimpulan

Terdapat enam isolat bakteri endofit asal tanaman Bambu yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap jamur uji *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani* dan *Culvularia sp.* Jamur *Fusarium sp.* dihambat oleh dua isolat, yaitu isolat bakteri endofit asal akar bambu talang (A.Tl2) sebesar 6%, dan isolat bakteri endofit akar bambu 'blitz' (A.Bz1) sebesar 25%. Jamur *Rhizoctonia solani* dihambat mencapai 63% oleh isolat bakteri endofit akar bambu talang (A.Tl2), dan 60% oleh isolat bakteri rizosfer bambu 'blitz'. Pada *Culvularia sp.* dihambat oleh tiga isolat berbeda, yaitu isolat bakteri endofit asal akar bambu hitam sebesar (A.Hi) 52%, isolat bakteri rizosfer bambu hitam (Ri.Hi) 30%, dan isolat bakteri endofit asal rebung bambu batik (Re.Bt2) 25%.

Ucapan Terima kasih

Penelitian ini dibiaya oleh Kementerian Riset dan Teknologi melalui Hibah Desentralisasi Penelitian Dosen Pemula (PDP) pada tahun 2017, didukung oleh Balai Kehutanan Makassar dan Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Mengkendek Tana Toraja.

Daftar Pustaka

- Afrin T, Tzusuki T, Kanwar RK, Wang X, 2012. The origin of the antibacterial property of bamboo. *J. Textile Institute* 103 (8) : 844-849
- Darma *et al.*, 2016. A Strong Antifungal-producing bacteria from Bamboo Powder for Biocontrol of *Sclerotium rolfsii* in Melon. *J Plant Pathol Microbiol* 7: 2.
- LongFei, Yajun Xu, Xinhe Lai, 2018. Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Gycine max L*) and plant growth-promoting properties. *Brazil. J. Microbiol* : 269-278
- Lu *et al.*, 2005. Toxicology and safety of antioxidant of bamboo leaves. Part 1 : acute and subchronic toxicity studies an antioxidant of bamboo leaves. *J Food Chem Toxicol* (43) : 783-792
- Munif A, Hipi A. 2011. Potensi bakteri endofit dan rizosfer dalam meningkatkan pertumbuhan jagung. Seminar Nasional Serealia, Bogor
- Shan B, Cai Y, Brooks JD, Cork H. 2008. Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* roots and their major bioactive constituents. *J Food Chem* 109 : 530-537
- Sulaiman O, Murphy RJ, Hashim R, Gritch CS. 2005. The inhibition of microbial growth by bamboo vinegar. *J Bamboo Rattan* 4(1) : 71-80
- Susanti WI, Widyastuti R, Wiyono S. 2015. Peranan Tanah Rizosfer Bambu Sebagai Bahan Untuk Menekan Perkembangan Patogen *Phytophthora palmivora* dan Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Pepaya. *J Tanah Iklim* 39 (2) : 63-72
- Rakholiya & Khunt, 2015. Plant Growth – Promoting Endophytes. *Int. J. Pure. App. Biosci* 3(4) : 86-91
- Yuan ZS, Liu F, Zhang GF. 2015. Isolation of culturable endophytic bacteria from Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) And 16S RNA Diversity analysis. *J Arch. Biol. Sci* 67(3) : 1001 – 1008