

## **Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Adam Hawa dan Potensinya sebagai Agens Hayati dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Padi**

### **Exploration of Endophytic Bacteria from Root of Adam Hawa Plant and Their Potency as a Biocontrol Agents and Plant Growth Promoting Agents on Rice**

**Ankardiansyah Pandu Pradana, Diana Putri, Abdul Munif\***  
Institut Pertanian Bogor, Darmaga 16680

#### **ABSTRAK**

Adam Hawa (*Rhoeo discolor*) merupakan tanaman yang memiliki tingkat adaptasi yang baik pada berbagai kondisi lingkungan. Kemampuan tersebut diduga karena adanya asosiasi mutualistik dengan bakteri endofit. Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri endofit dari akar tanaman Adam Hawa dan menguji potensinya sebagai agens hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman. Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan tahapan metode sterilisasi permukaan sampel akar, penggerusan, pengenceran, dan penanaman pada medium *tryptone soya agar* (TSA). Sebanyak 21 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari akar tanaman Adam Hawa. Berdasarkan uji hipersensitif pada daun tanaman tembakau, sebanyak 19 isolat menunjukkan reaksi negatif (tidak terbentuk gejala nekrosis) dan hanya 2 isolat menunjukkan reaksi positif (terdapat gejala nekrosis). Hasil uji terhadap aktivitas biokontrol dan pemacu pertumbuhan tanaman padi menunjukkan 7 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* secara *in vitro* dan 12 isolat mampu meningkatkan pertumbuhan bibit padi.

Kata kunci: aktivitas biokontrol, *Fusarium oxysporum*, uji hipersensitif

#### **ABSTRACT**

*Rhoeo discolor* has been known to have a good adaptation to various environmental conditions. This character might be due to mutualistic association with endophytic bacteria. The objective of this study was to isolate endophytic bacteria from roots of *R. discolor* and to evaluate their potency as biocontrol agents and plant growth promoters. The methods to isolate endophytic bacteria involved the following methods, sterilization of root surface, grinding of root tissues, dilution, and plating in the medium *tryptone soya agar* (TSA). A total of 21 isolates of endophytic bacteria were isolated from the roots of *R. discolor*. Based on hypersensitivity test on tobacco leaves, 19 isolates showed negative reaction (no necrosis symptom) and only 2 isolates showed positive reaction (necrosis was developed). The results on biocontrol and growth promoters assay showed that 7 isolates were able to inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* under *in vitro* test and 12 isolates were able to increase the growth of rice seedlings.

Key words: biocontrol activity, *Fusarium oxysporum*, hypersensitivity test

\*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Kamper, Kampus Darmaga IPB, Bogor 16680.  
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: munif73@gmail.com

## PENDAHULUAN

Tanaman Adam Hawa (*Rhoeo discolor*) merupakan tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat kanker dan penyakit degeneratif lainnya seperti penyakit parkinson. Tanaman ini mengandung senyawa antioksidan dan antimutagen yang berpotensi sebagai agens *phytomedicine*. Selain itu ekstrak etanol yang terkandung dalam tanaman juga digunakan dalam penelitian genetika (Frolich dan Nagl 1979).

Bakteri endofit dilaporkan mempunyai pengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman karena mampu mengendalikan penyakit dan memacu pertumbuhan tanaman. Bakteri ini hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tanaman.

Bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman nilam, *Achromobacter xylosoxidans*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, dan *Pseudomonas putida*, dapat menekan populasi *Pratylenchus brachyurus* hingga 82% dan meningkatkan pertumbuhan nilam sebesar 87% (Harni *et al.* 2007). Munif dan Harni (2011) melaporkan bahwa bakteri endofit dapat menekan puru pada akar bibit lada 70–90% serta meningkatkan pertumbuhan tanaman. Secara langsung, bakteri endofit dapat menyediakan nutrisi bagi tanaman, seperti nitrogen, fosfat; dan menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auksin dan sitokinin (Hallmann *et al.* 1997). Secara tidak langsung bakteri endofit mampu menekan pertumbuhan patogen melalui mekanisme resistensi terinduksi.

Penelitian bertujuan mengisolasi bakteri endofit dari akar tanaman *R. discolor* dan menguji potensinya untuk menekan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* secara *in vitro* serta potensinya untuk meningkatkan pertumbuhan bibit padi.

## BAHAN DAN METODE

### Isolasi Bakteri Endofit

Tanaman *R. discolor* yang digunakan sebagai sumber bakteri endofit diambil

dari lingkungan yang kurang subur, kurang mendapat air, namun pertumbuhan tanaman tetap baik. Sebanyak 5 tanaman *R. discolor* diambil dari lingkungan pekarangan di Darmaga, Bogor. Akarnya dicuci, kemudian dikeringanginkan. Sebanyak 1 g akar dari setiap tanaman disterilkan menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam larutan NaOCl 3% yang telah diberi Tween 20 0.05% selama 1 menit, lalu dibilas menggunakan akuades steril sebanyak 3 kali. Akar yang sudah disterilkan ditempelkan pada medium *tryptone soya agar* (TSA) untuk memastikan bahwa tidak ada kontaminan yang terbawa. Jika dalam waktu 48 jam terdapat mikrob yang tumbuh pada TSA (kontrol) maka akar tersebut tidak digunakan dalam proses selanjutnya.

Setelah diketahui tidak ada mikrob yang tumbuh, sampel akar tersebut digerus dan ditambah 10 mL akuades steril, kemudian diencerkan bertahap sampai dengan pengenceran  $10^{-2}$ . Sebanyak 100  $\mu$ L suspensi ditumbuhkan pada medium TSA 20% (6 g TSB dan 3 g agar-agar bakto untuk 1000 mL akuades) dan diinkubasi selama 48 jam. Bakteri yang memiliki bentuk morfologi yang berbeda dimurnikan pada medium TSA 100% (30 g TSB dan 15 g agar-agar bakto untuk 1000 mL akuades). Koloni tunggal yang tumbuh diamati bentuk koloni, bentuk tepi bakteri, dan pewarnaan Gram. Selanjutnya bakteri disimpan dalam biakan murni untuk uji lanjut.

### Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan menentukan isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai bakteri patogen. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan 1 koloni tunggal bakteri ke dalam 10 mL medium TSB 100% kemudian dikocok selama 48 jam. Sebanyak 3 mL suspensi bakteri dalam medium TSB ( $10^8$  sel  $\text{mL}^{-1}$ ) diinjeksi pada daun tanaman tembakau. Setelah 48 jam diamati gejala yang muncul, apabila terjadi nekrosis maka bakteri tersebut berpotensi sebagai patogen pada tanaman dan tidak digunakan pada uji lanjut.

### Uji Kemampuan Bakteri Endofit dalam Menghambat Pertumbuhan *F. oxysporum*

Uji ini bertujuan mendapatkan bakteri endofit yang berpotensi sebagai agens pengendali hayati terhadap *F. oxysporum*. Isolat *F. oxysporum* berasal dari koleksi Laboratorium Mikologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. *F. oxysporum* ditumbuhkan bersamaan dengan bakteri endofit pada medium agar-agar dekrosa kentang (ADK). Bakteri endofit ditumbuhkan pada bagian tengah cawan petri, kemudian *F. oxysporum* ditumbuhkan pada  $\frac{1}{4}$  bagian dari cawan petri. Uji ini diulang 2 kali. Pertumbuhan *F. oxysporum* yang menuju ke arah bakteri dan berlawanan arah dengan bakteri diukur pada hari ke-5 dengan rumus:

$$P = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%, \text{ dengan}$$

P, persentase penghambatan pertumbuhan (%); R1, jarak jari-jari miselium hingga tepi cawan petri (cm); R2, jarak jari-jari miselium hingga tepi zona hambat (cm).

### Uji Bakteri Endofit terhadap Pertumbuhan Bibit Padi

Uji ini bertujuan menentukan kemampuan bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi. Sebanyak 1 koloni tunggal bakteri ditambahkan pada 10 mL medium TSB 100% (30 g TSB dalam 1000 mL akuades), kemudian dikocok selama 48 jam dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 27 °C. Sebanyak 30 biji padi disterilkan permukaannya menggunakan alkohol 70% yang diberi Tween 20 0.05% selama 40 detik dan dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Selanjutnya benih padi dimasukkan ke dalam suspensi bakteri dengan konsentrasi  $10^8$ – $10^9$  sel/mL<sup>-1</sup>. Perendaman biji padi dalam suspensi bakteri dilakukan selama 24 jam, kemudian benih ditumbuhkan pada medium tanam campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1 (v/v) yang telah disterilkan hingga tanaman berumur 4 minggu (Munif *et al.* 2012b).

Uji ini disusun dalam rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan. Setiap perlakuan

terdiri atas 10 tanaman. Peubah yang diamati ialah tinggi tanaman, panjang akar, dan jumlah daun. Analisis data dilakukan menggunakan SAS versi 9.1.

## HASIL

### Bakteri Endofit dari Akar *R. discolor*

Sebanyak 21 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari *R. discolor* (Tabel 1). Berdasarkan bentuk, sudut, dan tepi koloni, bakteri endofit dapat dikelompokkan menjadi 9 morfospesies. Bentuk koloni bakteri hasil isolasi sebagian besar (13 isolat) berbentuk bulat, sisanya berbentuk tidak beraturan. Sebanyak 15 isolat merupakan bakteri Gram positif dan 6 isolat Gram negatif. Pada uji hipersensitif diperoleh 2 isolat (BE10 dan BE17) yang menimbulkan nekrosis pada tanaman tembakau, sedangkan 19 isolat lainnya tidak menimbulkan nekrosis.

### Kemampuan Bakteri Endofit dalam Menghambat Pertumbuhan *F. oxysporum*

Uji *in vitro* pada 19 isolat bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* menunjukkan bahwa sebanyak 8 isolat mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dengan persentase penghambatan sebesar 25–87% (Tabel 1). Hal ini berarti bahwa 42% isolat bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman *R. discolor* bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum*. Isolat yang terbaik dalam menghambat *F. oxysporum* secara *in vitro* ialah isolat BE6 dan BE8.

### Kemampuan Bakteri Endofit dalam Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Padi

Hasil pengamatan pertumbuhan tinggi dan panjang akar bibit padi menunjukkan hasil yang beragam. Sementara pada panjang akar, persentase bakteri endofit memberikan pengaruh pertambahan panjang akar lebih baik dari kontrol sebesar 42.11%, dan juga memberi pengaruh pada jumlah daun. Pertambahan tinggi bibit dan panjang akar mengindikasikan adanya potensi bakteri endofit dalam memacu pertumbuhan tanaman (Tabel 2). Isolat terbaik yang mampu memacu pertumbuhan bibit padi ialah isolat BE 4 dan BE 18.

Tabel 1 Ciri bakteri endofit asal akar tanaman *Rhoeo discolor* dan kemampuannya menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*

Isolat bakteri	Gram	Reaksi hipersensitif	Morfologi koloni	Persentase penghambatan terhadap <i>F. oxysporum</i> (%)
BE1	Positif	-	<i>Irregular flat lobate</i>	0.0
BE2	Negatif	-	<i>Circular raise entire</i>	25.0
BE3	Positif	-	<i>Circular flat entire</i>	25.0
BE4	Positif	-	<i>Irregular flat lobate</i>	0.0
BE5	Positif	-	<i>Circular umbonate entire</i>	0.0
BE6	Positif	-	<i>Irregular flat undulate</i>	87.5
BE7	Positif	-	<i>Circular convex entire</i>	25.0
BE8	Positif	-	<i>Circular raise entire</i>	87.5
BE9	Positif	-	<i>Circular raise entire</i>	0.0
BE10	Positif	+	<i>Circular umbonate entire</i>	25.0
BE11	Negatif	-	<i>Irregular raise unridulate</i>	50.0
BE12	Positif	-	<i>Circular raised entire</i>	0.0
BE13	Positif	-	<i>Irregular flat undulate</i>	0.0
BE14	Positif	-	<i>Irregular flat entire</i>	0.0
BE15	Negatif	-	<i>Circular riase entire</i>	0.0
BE16	Negatif	-	<i>Circural raise entire</i>	0.0
BE17	Positif	+	<i>Circural raise entire</i>	0.0
BE18	Negatif	-	<i>Circural raise entire</i>	0.0
BE19	Positif	-	<i>Circural raise entire</i>	0.0
BE20	Negatif	-	<i>Circural conv entire</i>	0.0
BE21	Positif	-	<i>Irregular flat lobate</i>	0.0

Tabel 2 Pertumbuhan bibit padi varietas Ciherang pada 4 minggu setelah tanam setelah benih diberi perlakuan bakteri endofit

Isolat bakteri endofit	Jumlah daun	Panjang akar (cm)	Tinggi bibit (cm)
BE1	3.04 abc	8.53 ab	16.84 a
BE2	3.24 abc	9.62 ab	16.42 a
BE3	3.21 abc	10.13 ab	18.00 a
BE4	3.28 ab	10.21 ab	17.48 a
BE5	2.86 c	9.48 ab	17.12 a
BE6	3.31 a	13.50 a	18.40 a
BE7	3.00 abc	9.82 ab	17.64 a
BE8	3.15 abc	8.70 ab	17.70 a
BE9	3.07 abc	6.38 b	18.21 a
BE10	3.03 abc	7.20 b	16.98 a
BE11	3.04 abc	8.40 ab	18.05 a
BE12	3.03 abc	7.35 b	17.65 a
BE13	2.94 abc	8.90 ab	18.49 a
BE14	3.00 abc	8.60 ab	16.23 a
BE15	3.16 abc	10.16 ab	17.11 a
BE16	3.04 abc	9.56 ab	16.87 a
BE17	3.05 abc	6.83 b	16.52 a
BE18	3.08 abc	8.30 ab	18.40 a
BE19	3.03 abc	7.66 b	17.72 a
BE20	2.89 bc	7.03 b	17.24 a
BE21	3.25 abc	7.50 ab	18.26 a
Kontrol	3.24 abc	9.01 ab	16.49 a

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri endofit hasil eksplorasi dari akar tanaman *R. discolor* mampu meningkatkan pertumbuhan bibit padi. Pertumbuhan bibit tanaman padi yang diberi perlakuan dengan bakteri endofit memiliki pertumbuhan yang baik meskipun tidak memberikan hasil nyata. Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa bakteri endofit memiliki kemampuan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit diketahui mampu menghasilkan berbagai zat pengatur tumbuh dan hormon yang penting bagi pertumbuhan tanaman (Munif *et al.* 2012a; 2012b).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa 52% isolat bakteri endofit meningkatkan pertumbuhan bibit padi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, 18% isolat menunjukkan pertumbuhan sama dengan kontrol, dan 27.27% isolat menunjukkan pertumbuhan yang lebih rendah daripada kontrol. Adanya bakteri endofit yang berasosiasi dengan tanaman padi telah dilaporkan dapat meningkatkan tinggi tajuk 33% dan panjang akar 48% bibit padi dibandingkan dengan kontrol (Vasudevan *et al.* 2002). Hasil penelitian lainnya juga melaporkan bakteri endofit dapat berasosiasi dan memacu pertumbuhan beberapa jenis tanaman, termasuk kentang (Sturz dan Nowak 2000), mentimun (Hallmann *et al.* 1997), tomat (Munif *et al.* 2000) dan cabai (Sundaramoorthy *et al.* 2012). Penelitian yang dilakukan Wibowo (2013) menunjukkan bahwa bakteri endofit yang berasal dari tanaman kehutanan mampu berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tomat. Mekanisme bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman adalah dengan memproduksi IAA yang berperan penting bagi pertumbuhan tanaman (Miliūtė *et al.* 2011). Beberapa bakteri endofit juga dilaporkan menghambat perkecambahan tanaman, namun mampu meningkatkan kecepatan tumbuh tanaman pada saat masa generatif tanaman (Munif *et al.* 2000).

Mekanisme kerja bakteri endofit sebagai agens hayati ialah menghasilkan senyawa antimikrob untuk melawan patogen, menghasilkan zat pengatur tumbuh, memfiksasi nitrogen, dan memobilisasi fosfat yang berperan dalam memacu dan memperkuat pertumbuhan ketahanan tanaman (Ikeda *et al.* 2010).

Bakteri endofit juga diketahui mampu menekan patogen penyebab penyakit seperti yang dilaporkan Munif *et al.* (2012a) bahwa bakteri endofit asal akar tomat dapat menekan patogen *F. oysporum* f. sp. *radicus-lycopersici* dan *F. oysporum* f. sp. *lycopersici*.

Penelitian ini memberikan informasi baru bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman *R. discolor* mampu berperan sebagai agens hayati dengan menekan pertumbuhan *F. oxysorum* secara *in vitro* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman padi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Frolich E, Nagl W. 1979. Transitory increase in chromosomal DNA (Feulgen) during floral differentiation in *Rhoeo discolor*. Cellular Differentiation. 8:11–18. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0045-6039\(79\)90013-7](http://dx.doi.org/10.1016/0045-6039(79)90013-7).
- Hallmann J, Hallmann AQ, Mahaffee WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Can J Microbiol. 43:895–914. DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/m97-131>.
- Harni R, Munif A, Supramana, Mustika I. 2007. Pemanfaatan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. HAYATI J Biosci. 14(1):7–12.
- Ikeda S, Okubo T, Anda M, Nakashita H, Yasuda M, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Eda S, Momiyama A, Terasawa K, Mitsui H, Minamisawa K. 2010. Community- and genome-based views of plant-associated bacteria: plant-bacterial interactions in soybean and rice. Plant Cell Physiol. 51(9):1398–1410. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pcq119>.
- Miliūtė I, Odeta B. 2011. IAA production and other plant growth promoting traits

- of endophytic bacteria from apple tree. *Biologija*. 57(2):98–102.
- Munif A, Hallmann J, Sikora RA. 2000. Evaluation of the biocontrol activity of endophytic bacteria from tomato against *Meloidogyne incognita*. *Med Fac Landbouww*. 65(2b):471–480.
- Munif A, Hallmann J, Sikora RA. 2012a. Isolation of endophytic bacteria from tomato and their biocontrol activities against fungal disease. *Microbiol Indones*. 6(4):148–156. DOI: <http://dx.doi.org/10.5454/mi.6.4.2>.
- Munif A, Harni R. 2011. Keefektifan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda parasit *Meloidogyne incognita* pada tanaman lada. *Bull Ristri*. 2(3):377–382.
- Munif A, Wiyono S, Suwarno. 2012b. Isolasi bakteri endofit asal padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan. *J Fitopatol Indones*. 8(3):57–64.
- Sundaramoorthye S, Raguchander T, Ragupathi N, Samiyappan R. 2012. Combinatorial effect of endophytic and plant growth rhizobacteria against wilt disease of *Capsicum annum* L. caused by *Fusarium solani*. *Biol Control*. 60:59–67. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.10.002>.
- Sturz AV, Nowak J. 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Appl Soil Ecol*. 15(2000):183–190. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00094-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00094-9).
- Vasudevan P, Reddy MS, Kavitha S, Velusamy P, Paulraj RSD. 2002. Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. *Curr Sci*. 83:1140–1143.
- Wibowo AR. 2013. Isolasi bakteri endofit dari tanaman kehutanan dan potensinya untuk pengendalian *Meloidogyne* spp. pada tanaman tomat. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.