

PROGRAM PENELITIAN DASAR



ARTIKEL PENELITIAN

**POTENSI MIKROBA ENDOFITIK DARI TANAMAN PISANG
LIAR (*Musa* spp.) DI SUMATERA BARAT SEBAGAI AGEN
HAYATI UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT LAYU
FUSARIUM**

OLEH:

Dra. FESKAHARNY ALAMSJAH, MSi

Dibiayai oleh

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian
Nomor : 005/SP3/PP/DP2M/II/2006
Tanggal 1 Februari 2006

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2006**

RINGKASAN

Telah dilakukan kajian mengenai potensi jamur dan bakteri endofitik dari beberapa tanaman pisang liar yang ada di Sumatera Barat sebagai agen hayati terhadap patogen *Fusarium Oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman pisang budidaya, yang meliputi : isolasi, seleksi isolat bakteri dan jamur endofitik dalam labu kocok serta bioassay/uji aktivitas antimikroba dari bakteri dan jamur endofitik terhadap *Fusarium oxysporum* dengan metode Kirby Bauer atau metoda kertas cakram (paper disc method). Dari skrining terhadap mikroba endofitik tersebut diperoleh 16 isolat bakteri dan 18 isolat jamur. Isolat bakteri dan jamur endofitik yang ditemukan pada tanaman pisang liar berbeda dengan tanaman pisang budidaya. Berdasarkan hasil seleksi isolat penghasil antimikroba, ternyata isolat bakteri dan jamur endofitik yang ditemukan pada tanaman pisang liar mempunyai aktivitas antimikroba terhadap patogen *Fusarium oxysporum* . Sebanyak 6 isolat bakteri yaitu *Bacillus brevis*, *Bacillus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus pumilus*, dan *Achromobacter sp.* serta 8 isolat jamur yaitu *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma sp.* dan *Rhizopus oligosporus* mempunyai aktivitas antimikroba yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media. Aktivitas antimikroba tertinggi ditemukan pada isolat jamur yaitu *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma sp.* Dari zona bening yang dihasilkan oleh bakteri dan jamur endofitik mengindikasikan bahwa semua isolat tersebut berpotensi digunakan sebagai agen hayati untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium*. Dari penelitian ini diperoleh suatu konsorsium mikroba endofitik yang meliputi jamur dan bakteri sebagai agen hayati pengendali penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang budidaya yang efektif dan ramah lingkungan.

I. PENDAHULUAN

Tanaman pisang (*Musa* sp) merupakan salah satu komoditi buah-buahan penting dan menjadi unggulan di Sumatera Barat yang telah dikenal oleh masyarakat serta mempunyai potensi agribisnis yang cukup besar. Produksi pisang di Sumatera Barat selain untuk memenuhi kebutuhan lokal, juga telah dipasarkan ke berbagai daerah di Indonesia antara lain di Propinsi Riau, Lampung, Jakarta dan lain-lain, bahkan telah sampai ke luar negeri seperti Malaysia dan Singapura (Balai Perlindungan Tanaman, 2004).

Pada dekade lima tahun terakhir ini produksi pisang Sumatera Barat cenderung menurun drastis bahkan tanaman ini terancam punah akibat terserang oleh beberapa jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) terutama penyakit layu baik disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (*Foc*) maupun oleh bakteri *Pseudomonas solanacearum* (Balai Perlindungan Tanaman, 2004).

Serangan penyakit layu di Sumatera Barat yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* mulai diketahui sejak tahun 1995 (BPTP II Padang), sedangkan bakteri diketahui setelah beberapa tahun kemudian. Perkembangan pada dekade terakhir ini memperlihatkan bahwa tingkat serangan penyakit tersebut telah dalam kondisi yang mengkhawatirkan. Dari hasil pengamatan Balai Perlindungan Tanaman Sumatera Barat, hingga akhir tahun 2003, kumulatif jumlah tanaman pisang tinggal sebanyak 2.971.288 rumpun, terserang penyakit OPT utama sebanyak 2.123.252 rumpun (71%) yang terdiri dari layu fusarium 1.395.464 rumpun (47%), layu bakteri 610.530 rumpun (20%) dan penggerak 117.258 (4%).

Di Indonesia, penyakit ini dilaporkan telah menyebar hampir di seluruh daerah pertanaman pisang. Serangan berat dilaporkan terjadi di beberapa daerah sentra produksi di Sumatera Utara, dimana sekitar 1.300 Ha pisang Barangan milik petani rusak berat akibat serangan *Foc*. Di Lampung telah terjadi kerugian 2,4 milyar rupiah pada tahun panen 1992/1993 pada berbagai jenis pisang komersil, akibat serangan *Foc* dan bakteri *Pseudomonas solanacearum* (Nurhadi, Rais dan Harlion, 1994). Survei di Lampung yang diadakan pada tahun 1998 dan 2002 mengindikasikan bahwa kerusakan tersebut sangat didominasi oleh patogen *Foc*. Sebuah perusahaan dengan lahan Cavendish seluas 2.100 Ha di Lampung, terancam punah oleh serangan *Foc* dengan meluasnya serangan sampai 1.700 Ha (Nasir dan Jumjunidang, 2003).

Sampai saat ini belum ada satupun metode pengendalian yang benar-benar mampu mengendalikan penyakit ini. Beberapa pengendalian menggunakan agensia hayati dilaporkan cenderung menekan serangan *Foc* pada pisang, namun masih terbatas pada respon tanaman selama periode vegetatif (Nurhadi, Rais dan Harlion, 1994). Djatnika, Hermanto dan Eliza (2003) menyatakan bahwa penggunaan *Pseudomonas fluorescens* atau *Gliocladium sp.* yang disiramkan pada tanah di sekitar bibit tanaman pisang, dapat menekan perkembangan penyakit sampai dengan delapan bulan setelah tanam di lapangan. Pengendalian dengan penanaman kultivar tahan terhadap *Foc* merupakan salah satu alternatif pengendalian yang dianjurkan. Dalam rangka pengendalian penyakit layu Fusarium ini, penelitian terus diarahkan untuk memperoleh tanaman yang resisten, baik secara in-vitro dengan seleksi keragaman somaklonal, mutasi dengan radiasi, mutagen kimia dan fusi protoplas, maupun dengan pemuliaan konvensional dengan penyilangan.

Namun ada fenomena yang menarik yaitu ternyata tanaman pisang liar yang di Sumatera Barat beberapa diantaranya mempunyai nama daerah pisang rimbo, pisang monyet dan pisang karok, hampir tidak pernah terkena serangan layu Fusarium. Fenomena seperti ini bisa diasumsikan bahwa tanaman pisang liar tersebut memiliki perbedaan dari tanaman pisang yang dibudidayakan. Sampai sejauh ini belum ada hasil penelitian mengenai hal tersebut. Diduga hal ini disebabkan mikroba endofitik yang terdapat pada tanaman pisang liar berbeda dari tanaman pisang budidaya. Ini menunjukkan bahwa mikroba endofitik pada tanaman pisang budidaya tidak bisa mengendalikan penyakit layu Fusarium, sebaliknya mikroba endofitik pada tanaman pisang liar mampu mengendalikannya, sehingga tanaman ini tahan terhadap penyakit layu Fusarium. Bila inokulum mikroba endofitik dari tanaman pisang liar diinokulasikan pada tanaman pisang budidaya, diharapkan tanaman pisang budidaya akan tahan terhadap penyakit layu Fusarium.

Sehubungan hal diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang potensi mikroba endofitik pada tanaman pisang liar untuk pengendalian penyakit layu Fusarium pada tanaman pisang budidaya, yang nantinya dapat berfungsi sebagai agen hayati. Pengendalian biologis dengan menggunakan mikroba endofitik sebagai agen hayati, selain efektif, efisien dan ramah lingkungan, juga dapat menekan penggunaan bahan kimia yang secara ekonomis tergolong mahal dan mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan. Mikroba endofitik diisolasi dari jaringan tanaman pisang, kemudian ditumbuhkan pada medium fermentasi. Di

dalam medium tersebut mikroba endofitik dapat menghasilkan senyawa aktif atau antimikroba dengan bantuan enzim.

Mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup dan berasosiasi di dalam jaringan tanaman. Asosiasi yang terjadi umumnya bersifat mutualistik yaitu jika mampu melindungi inang dari tekanan biotik dan abiotik (Petrini, Sieber dan Toty, 1992). Fokus penelitian tentang mikroba endofitik tidak hanya pada studi toksisitas, tetapi juga memperhatikan manfaat yang diberikannya terhadap tanaman (Funk, Halisky dan Ahmat, 1985).

Mikroba endofitik mempunyai arti ekonomi yang sangat penting di masa depan. Dari studi yang telah dilakukan memberikan indikasi bahwa mikroba endofitik sangat prospektif sebagai sumber metabolit sekunder baru yang bermanfaat di bidang Bioteknologi dan Pertanian. Menurut Radu dan Kqueen (2002), mikroba endofitik menghasilkan berbagai enzim untuk menghidrolisa polisakarida. Enzim-enzim tersebut relatif langka ditemukan pada jenis mikroba yang bersumber dari tanah, dan penting untuk kolonisasi dalam jaringan tanaman. Menurut Petrini dan Fisher (1988), disamping enzim dan hormon pertumbuhan tanaman, ternyata mikroba endofitik juga memproduksi senyawa aktif/antibiotika yang dapat digunakan pada manusia serta pada patogen tanaman, sehingga mampu melindungi tanaman inang dari serangan hama insekta, mikroba patogen atau hewan pemangsanya. Tanaman yang terinfeksi oleh jamur endofitik ini lebih toleran pada musim kering dan lebih kompetitif dari pada tanaman yang tidak terinfeksi oleh jamur tersebut (Christensen dan Latch, 1985 dalam Labeda, 1990).

Beberapa hasil penelitian tentang potensi mikroba endofitik telah dilakukan, antara lain oleh Fitria (2002), mendapatkan enam isolat jamur endofitik dari beberapa tanaman yang mempunyai aktivitas antijamur patogen yaitu terhadap *Fusarium oxysporum*, *Pestalotia* sp dan *Colletotrichum truncatum*. Hasil penelitian Alamsjah (2003) diperoleh tiga isolat jamur endofitik dari tanaman Akasia. Jumjunidang, Nasir, Riska dan Handayani (2004) telah mengkolleksi beberapa mikroba endofit pisang, hasil pengujian keefektifannya dalam mengendalikan nematoda diperoleh tiga isolat yang menunjukkan indikasi mampu menekan perkembangan *Radopholus similis*. Sedangkan untuk patogen tanaman, Prihatini dan Alamsjah (2004) melaporkan bahwa ekstrak kalus *Catharanthus roseus* (tapak dara) yang mengandung ajmalisin dapat menghambat pertumbuhan *Fusarium*, *Alternaria* dan *Phytophthora*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman pisang (*Musa* sp) adalah merupakan salah satu tanaman buah-buahan yang bernilai strategis dan ekonomis dalam peningkatan pendapatan masyarakat khususnya petani. Sebagian besar daerah Sumatera Barat merupakan penghasil pisang, karena iklimnya yang cocok dan mendukung pertumbuhan tanaman tersebut. Hal ini tercermin dari kenyataan di lapangan bahwa hampir semua petani menanam tanaman pisang, apakah di pekarangan, di pembatas-pembatas lahan, di sudut-sudut lahan atau di kebun yang dibudidayakan secara intensif. Namun demikian pada umumnya tanaman pisang yang ada masih belum dikelola dengan baik, melainkan masih merupakan usaha tani tradisional dengan teknologi yang relatif sederhana, bahkan ada tanaman yang tidak dipelihara sama sekali. Hal ini mengakibatkan rendahnya produksi dan kualitas hasil (Balai Perlindungan Tanaman, 2004).

Akhir-akhir ini produksi pisang Sumatera Barat menurun secara drastis, bahkan tanaman ini terancam kepunahannya akibat serangan penyakit terutama penyakit layu Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*) dan penyakit layu bakteri (*Pseudomonas solanacearum*). Kedua penyakit ini sangat sulit dikendalikan apabila penyakit telah menyerang areal pertanaman. Menurut Ploetz (2003), penyakit layu Fusarium oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* dikenal 4 ras, yaitu:

- ▲ Ras 1 menyerang pisang Ambon (AAA), Raja (AAB).
- ▲ Ras 2 menyerang kepok (ABB)
- ▲ Ras 3 menyerang *Heliconia* spp.
- ▲ Ras 4 semua jenis Cavendish (AAA), Raja (AAB), kepok Kuning (ABB), pisang mas (AA).

Tanaman yang terserang pada umumnya tidak mampu berbuah atau buahnya tidak terisi. Jamur penyebab penyakit ini adalah jamur yang dapat bertahan lama dalam tanah dan juga bertahan pada akar-akar tanaman sakit serta bermacam-macam akar rumputan. Penyebaran penyakit ini di lapangan yaitu melalui bibit, persinggungan akar tanaman yang sakit dengan tanaman yang sehat, melalui anakan yang sakit, aliran air dan alat-alat pertanian (Cao *et al*, 2005).

Untuk mengatasi serangan penyakit ini harus dilakukan dengan menerapkan prinsip Pengendalian Hama Terpadu (PHT) yang berbasis pada penggunaan agens hayati, dimana salah satu keunggulan dari pengendalian hayati adalah ramah

terhadap lingkungan (Balai Perlindungan Tanaman, 2004). Penggunaan agens hayati diarahkan sebagai tindakan pencegahan dengan aplikasi sebelum/saat tanam. Diharapkan agens hayati tersebut dapat mengkolonisasi daerah perakaran, sehingga menghambat perkembangan penyakit untuk menginfeksi akar.

Mikroba endofitik adalah mikroba yang seluruh atau sebagian hidupnya berada dalam jaringan tanaman (batang, cabang atau ranting tanaman), dimana diantara keduanya terjalin hubungan yang saling menguntungkan yang dikenal dengan simbiosis mutualisme (Carroll, 1986; Petrini dan Fisher, 1988; Sinclair, 1991).

Pada jaringan tanaman kemungkinan ditemukan beberapa jenis mikroba endofitik. Jumlah dan taksa isolat yang diperoleh dari suatu bagian tanaman inang biasanya amat banyak, akan tetapi hanya beberapa jenis yang dominan pada satu tanaman inang. Endofitik biasanya menghasilkan enzim yang penting untuk kolonisasi dalam jaringan tanaman. Hasil studi tentang penggunaan substrat menunjukkan bahwa endofitik mampu menggunakan sebagian besar komponen sel tanaman (Petrini, 1986). Selain menghasilkan enzim, endofitik juga menghasilkan faktor pemacu pertumbuhan dan metabolit yang berguna dalam farmasetika, industri dan pertanian. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh mikroba endofitik merupakan suatu senyawa yang mampu melindungi tanaman inang dari serangan hama insekta, mikroba patogen atau hewan pemangsanya. Tanaman yang terinfeksi oleh jamur endofitik ini lebih toleran pada musim kering dan lebih kompetitif dari pada tanaman yang tidak terinfeksi oleh jamur tersebut (Christensen dan Latch, 1985 dalam Labeda, 1990).

Masuknya mikroba endofitik pada jaringan tanaman inang tergantung pada keberhasilan mikroba endofitik menembus lapisan eksternal inangnya. Proses masuknya mikroba endofitik ini dicapai melalui mekanisme pemecahan atau degradasi jaringan pelindung pada lapisan kutikula dan epidermis. Pada proses ini biasanya mikroba endofitik menghasilkan enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa pada jaringan inang (Bacon dan Siegel, 1990).

Pada organ atau jaringan tanaman tertentu, ternyata dapat ditempati oleh beberapa jenis mikroba endofitik yang berbeda satu dengan yang lainnya. Hal ini merupakan mekanisme adaptasi dari mikroba endofitik terhadap mikroekologi dan kondisi fisiologis yang spesifik dari masing-masing tanaman. Walaupun jenis

endofitik dapat diisolasi dalam jumlah yang banyak dari tanaman inang, tetapi umumnya hanya beberapa jenis kehadirannya dalam jumlah yang berarti (Petrini dan Fisher, 1988). Dalam fenomena alam, terkadang dalam satu rumpun atau hamparan (klon/varietas, ekosistem, pemeliharaan sama), namun kejadian penyakitnya berbeda.

Oleh karena itu, dilakukan penelitian dalam skala laboratorium untuk memperoleh suatu konsorsium mikroba endofitik yang mempunyai aktivitas antimikroba sehingga berpotensi sebagai agen hayati untuk pengendalian penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang liar (*Musa* spp.).

III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian adalah untuk :

1. Memperoleh isolat jamur dan bakteri endofitik dari tanaman pisang budidaya dan tanaman pisang liar (*Musa* spp.)
2. Mendapatkan isolat jamur dan bakteri endofitik dari tanaman pisang liar yang mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman pisang
3. memperoleh suatu konsorsium mikroba endofitik yang berpotensi sebagai agen hayati pengendali patogen *Fusarium oxysporum*

Manfaat penelitian adalah untuk:

1. Mengisi kanzanah ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang mikrobiologi, fitopatologi dan bioteknologi
2. Memperoleh suatu konsorsium mikroba endofitik dari tanaman pisang liar (*Musa* spp.) baik jamur maupun bakteri yang berpotensi sebagai agen hayati untuk pengendalian penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang yang dibudidayakan
3. Menekan penggunaan bahan kimia yang mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan dengan memanfaatkan mikroba endofitik sebagai agensia hayati yang efektif, efisien dan ramah lingkungan dalam pengendalian penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang yang dibudidayakan

IV. METODE PENELITIAN

1. Pemilihan lokasi dan pengambilan sampel

Lokasi pengambilan sampel adalah pada tiga daerah sentra produksi pisang di Sumatera Barat, yaitu Padang Pariaman, Agam dan Batu Sangkar. Bagian tanaman pisang yang diambil adalah bonggol dan bagian akarnya.

Isolasi dan skrining mikroba endofitik serta pengujian aktivitas antimikroba terhadap patogen uji (*Fusarium oxysporum*) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Mikologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Padang.

2. Isolasi mikroba endofitik (jamur dan bakteri)

Isolasi jamur endofitik menggunakan medium Potato Dextrosa Agar (PDA) yang ditambahkan streptomisin 150 ppm dan medium Corn Meal – Malt extract Agar (CMM) yang ditambahkan kloramfenikol 50 ppm. Medium PDA mengandung ekstrak kentang, dekstrosa dan agar, sedangkan medium CMM mengandung corn meal agar, malt extract dan yeast extract.

Isolasi bakteri endofitik menggunakan medium Nutrien Agar (NA) yang ditambahkan nystatin 100 ppm. Medium NA mengandung meat extract, peptone, NaCl dan agar. Akar tanaman pisang dipotong memanjang, direndam dalam sodium hypochlorit 5 % selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air steril. Selanjutnya bagian luar dari akar dibuang dan bagian dalamnya dipotong 1 – 1,5 cm, lalu ditanamkan pada media PDA, CMM dan NA steril dalam cawan petri. Untuk bonggol, bagian yang diisolasi adalah kortek luar dan bagian silinder pusat yang dipotong 0,5 x 1 cm, sterilisasinya sama dengan akar. Biakan diinkubasi pada suhu 25°C. Jamur yang tumbuh kemudian dipindahkan ke media PDA dan CMM miring sedangkan bakteri pada media NA miring, untuk mendapatkan biakan murni.

3. Seleksi isolat mikroba endofitik

Kultur kocok isolat endofitik

Isolat mikroba endofitik yang telah diremajakan dipotong berukuran 5 mm x 5 mm, kemudian potongan tersebut diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 20 ml media Potato Dextrosa Yeast (PDY). Kultur dikocok pada kecepatan 150 rpm, suhu 28°C selama 7 hari dalam incubator pengocok (incubator shaker). Setelah 7 hari akan diperoleh kaldu kultur. Kaldu kultur lalu disentrifus pada kecepatan

3000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap patogen uji yaitu *Fusarium oxysporum*.

Pembuatan suspensi jamur patogen (*Fusarium oxysporum*)

Sebanyak 10 ml air steril dituangkan ke dalam media PDA pada cawan petri yang telah ditumbuhi oleh *Fusarium oxysporum*. Miselium jamur yang tumbuh pada permukaan agar digerus hati-hati dengan menggunakan jarum ose supaya mediana tidak ikut terambil. Suspensi jamur tersebut lalu disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit dan diperoleh supernatannya.

4. Seleksi isolat penghasil antimikroba

Untuk seleksi aktivitas antimikroba dilakukan pengujian aktivitas antimikroba/bioassay dari mikroba endofitik terhadap jamur patogen (*Fusarium oxysporum*) dengan metode Kirby – Bauer atau metode cakram kertas (paper disc method).

Sebanyak 1% supernatan jamur patogen uji (*Fusarium oxysporum*) dimasukkan ke dalam 20 ml medium PDA untuk menguji aktivitas antimikroba dari jamur endofitik dan medium NA untuk bakteri endofitik. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex, lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai membeku (padat). Cakram kertas dicelupkan dalam supernatan mikroba endofitik selama 1 menit. Cakram kertas dibiarkan mengering, lalu diletakkan diatas medium agar cawan petri uji yang telah padat, selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 – 72 jam.

Aktivitas antimikroba dari isolat mikroba endofitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram kertas, kemudian diukur diameternya.

5. Identifikasi Bakteri dan Jamur endofitik

Untuk mengidentifikasi bakteri, secara mikroskopis diamati bentuk sel serta hasil reaksi pewarnaan Gram. Secara biokimia diamati reaksi-reaksi yang terjadi pada uji biokimia dan hasilnya dicocokkan dengan kunci identifikasi Cowan dan Steels (1973) serta Buchanan dan Gibbons (1974). Uji biokimia yang dilakukan meliputi : uji H₂S, katalase, uji pembentukan indol, reaksi perubahan urea, fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa dan manitol), gas, uji penggunaan sitrat, uji Metil Red (MR), uji Voges Proskauer (VP). Untuk mengidentifikasi jamur

endofitik digunakan buku acuan Gilman (1957), Tonessoun and Nelson (1969), Boot (1971), Barnett dan Hunter (1972), Alexopoulos and Mims (1979), Samson, Hoekstra and Vanoorschot (1981), Hawksworth and Pitt (1983), Gandjar, Samson, Vermeulen, Octari dan Santoso (1999).

6. Analisis Data

Dari hasil isolasi dan purifikasi yang dilakukan, isolat jamur dan bakteri endofitik yang diperoleh ditabulasi dan diberi nomor sebagai tanda koleksi. Untuk uji aktivitas antimikroba/bioassay, dilakukan pengukuran terhadap diameter zona bening. Diameter zona bening yang terbentuk dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilakukan uji Duncans New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5 %.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Isolasi mikroba endofitik

Setelah dilakukan isolasi terhadap bakteri dan jamur endofitik yang terdapat pada tanaman pisang yang dibudidayakan dan yang terdapat pada tanaman pisang liar, diperoleh beberapa isolat bakteri dan jamur seperti yang tertera pada Tabel I.

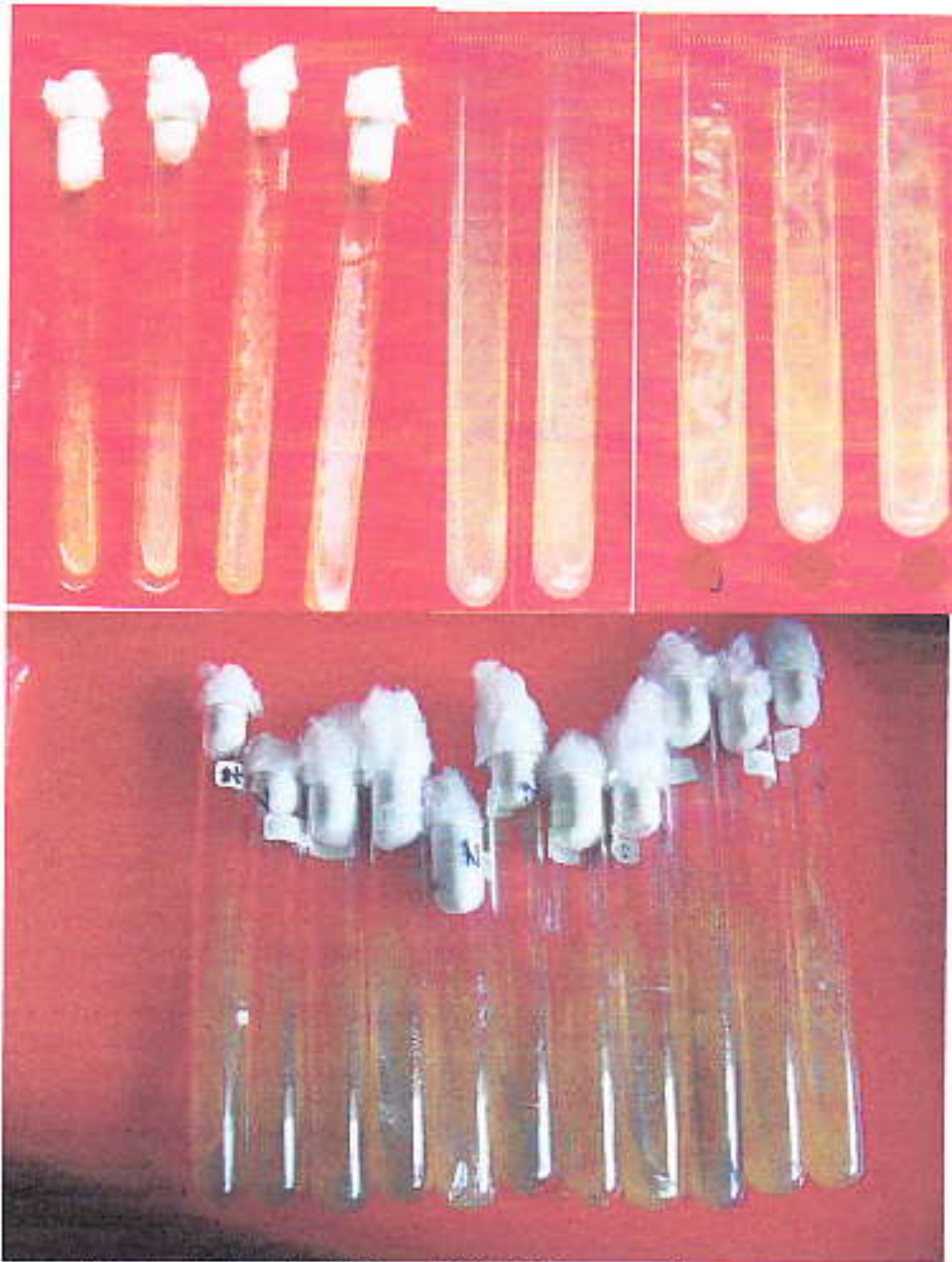
Tabel 1. Beberapa isolat bakteri dan jamur endofitik dari tanaman pisang

No	Kode Isolat	Lokasi Pengambilan Sampel					
		I		II		III	
		PB	PL	PB	PL	PB	PL
1.	FA 1	-	+	-	+	-	+
2.	FA 2	+	-	+	-	-	+
3.	FA 3	-	+	-	+	-	+
4.	FA 4	+	+	+	-	+	-
5.	FA 5	-	+	-	+	-	+
6.	FA 6	+	+	-	+	+	+
7.	FA 7	+	-	+	-	+	-
8.	FA 8	-	+	+	+	-	+
9.	FA 9	-	+	-	+	-	+
10.	FA 10	-	+	-	+	-	+
11.	FA 11	+	-	-	-	+	-
12.	FA 12	-	+	+	+	+	+
13.	FA 13	+	+	+	-	-	+
14.	FA 14	-	+	-	+	-	+
15.	FA 15	+	+	+	+	+	-
16.	FA 16	+	-	+	-	+	+
17.	FH 1	-	+	-	+	-	+
18.	FH 2	-	+	-	+	-	+
19.	FH 3	-	+	-	+	-	+
20.	FH 4	+	-	+	-	+	-
21.	FH 5	-	+	-	+	-	+
22.	FH 6	+	+	+	+	+	+

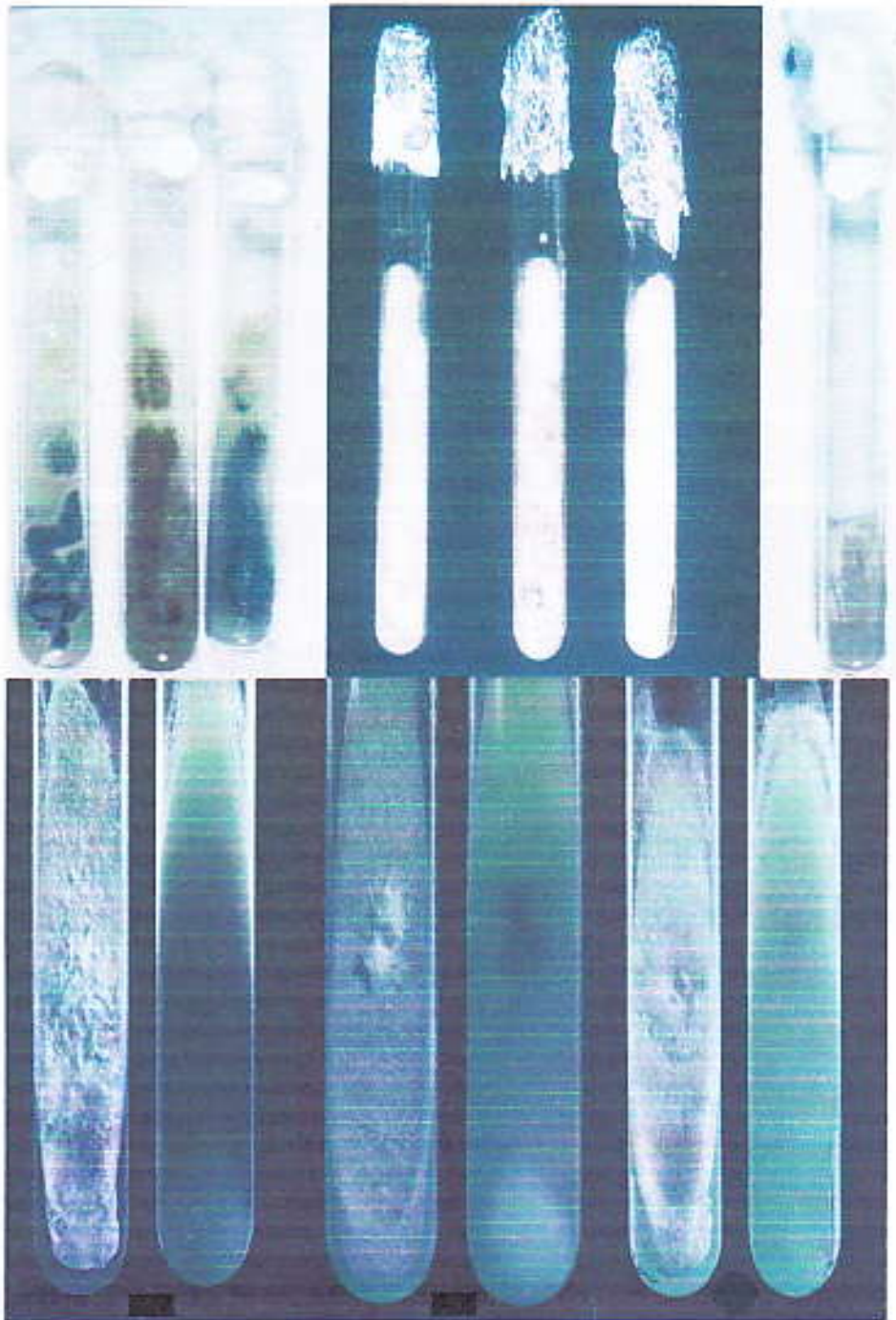
23.	FH 7	+	+	+	-	-	+
24.	FH 8	-	+	-	+	-	+
25.	FH 9	+	-	-	-	+	-
26.	FH 10	+	+	+	+	+	+
27.	FH 11	+	-	+	-	+	-
28.	FH 12	-	+	-	+	-	+
29.	FH 13	+	+	+	+	+	+
30.	FH 14	+	-	+	-	+	-
31.	FH 15	-	+	-	+	-	+
32.	FH 16	-	+	-	+	-	+
33.	FH 17	+	+	-	-	+	-
34.	FH 18	+	+	+	+	+	+

Keterangan: I = Padang Pariaman PB = Pisang Budidaya + : ditemukan
 II = Agam PL = Pisang Liar - : tidak ditemukan
 III = Batu Sangkar FA = Isolat bakteri FH : Isolat jamur

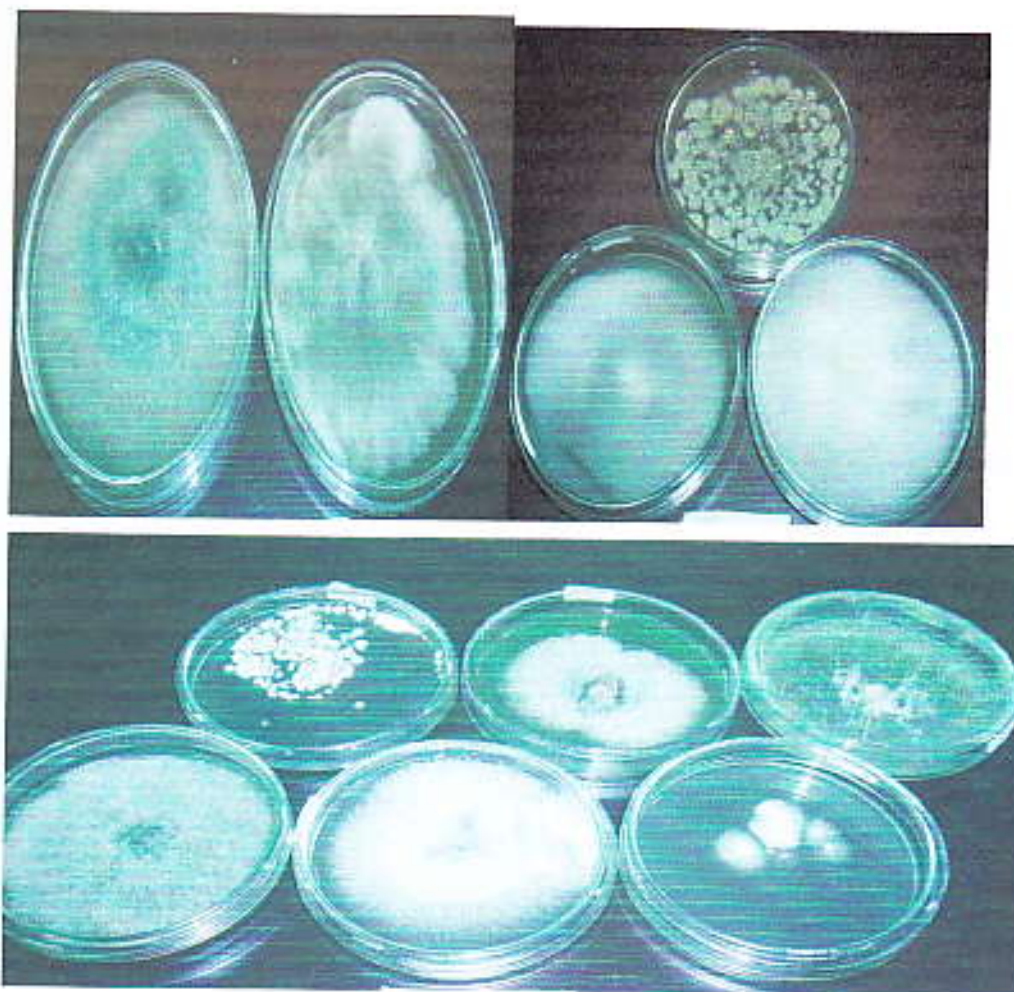
Dari Tabel 1 terlihat bahwa setelah diisolasi dari tanaman pisang ditemukan 16 isolat bakteri endofitik dan 18 isolat jamur endofitik yang mampu tumbuh pada media pembenihan. Pada lokasi Padang Pariaman ditemukan 8 isolat bakteri dan 10 isolat jamur endofitik hasil isolasi dari tanaman pisang budidaya, sedangkan dari tanaman pisang liar ditemukan 12 isolat bakteri dan 14 isolat jamur endofitik. Pada lokasi pengambilan sampel ke dua (Agam), ditemukan masing-masing 8 isolat bakteri dan jamur endofitik dari tanaman pisang budidaya, sedangkan dari tanaman pisang liar ditemukan 10 isolat bakteri dan 12 isolat jamur endofitik. Selanjutnya pada lokasi pengambilan sampel ke tiga (Batu Sangkar), isolat bakteri dan jamur endofitik yang ditemukan masing-masingnya ada 7 dan 13 isolat.



Gambar 1. Isolat bakteri endofitik dari tanaman pisang



Gambar 2. Isolat jamur endofitik dari tanaman pisang



Gambar 3. Isolat jamur endofitik dari tanaman pisang

Dari Tabel 1 terlihat bahwa isolat bakteri dan jamur yang ditemukan pada tanaman pisang liar lebih banyak dibandingkan dengan isolat yang ditemukan pada tanaman pisang budidaya. Hal ini memperkuat dugaan sebelumnya bahwa tanaman pisang liar mempunyai mikroba endofitik yang berbeda dengan mikroba endofitik pada tanaman pisang yang dibudidayakan, sehingga tanaman pisang liar lebih tahan terhadap serangan penyakit layu *Fusarium*. Untuk membuktikan dugaan tersebut, terhadap masing-masing bakteri dan jamur endofitik ini dilakukan seleksi dan pengujian aktivitas antimikroba/bioassay.

Menurut Lasota, Shetlar dan Waldvogel (1983), mikroba endofitik berperan penting di dalam jaringan tanaman. Kehadiran jamur endofitik di dalam tanaman inang berpengaruh dalam mengurangi kehadiran serangga perusak dan mikroba patogen sehingga hasil panen dapat dipertahankan. Hal ini disebabkan mikroba endofitik memproduksi senyawa antimikroba yang aktif melawan mikroba

patogen. Disamping itu mikroba endofitik juga menghasilkan enzim yang penting untuk kolonisasi dalam jaringan tanaman.

2. Seleksi Isolat Penghasil Antimikroba

Setelah dilakukan pengujian aktivitas antimikroba/bioassay dari masing-masing bakteri dan jamur endofitik terhadap jamur patogen *Fusarium oxysporum*, didapatkan 6 isolat bakteri dan 8 isolat jamur yang mempunyai aktivitas antimikroba, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media pertumbuhan. Diameter zona bening yang terbentuk dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona bening dari metabolit sekunder bakteri dan jamur endofitik terhadap patogen *Fusarium oxysporum*

No	Kode Isolat	Diameter zona bening (mm)
1.	FH 12	39,7 a
2.	FH 3	39,3 ab
3.	FH 16	38,3 b
4.	FH 15	35,7 c
5.	FH 5	34,7 c
6.	FH 8	32,3 d
7.	FA 10	26,7 e
8.	FA 5	23,3 f
9.	FA 3	21,7 g
10.	FA 14	20,7 g
11.	FH 2	19,3 h
12.	FA 9	16,3 i
13.	FH 1	16,3 i
14.	FA 1	15,3 i

Keterangan: FA= isolat jamur

FH= isolat bakteri

Dari ke 14 isolat mikroba endofitik yang didapatkan, isolat jamur dengan kode FH 12 dan FH 3 termasuk kelompok jamur yang mempunyai aktivitas antimikroba patogen yang tinggi dibandingkan isolat lainnya. Isolat FH 12 mempunyai aktivitas antimikroba yang sama dengan isolat FH 3, karena diameter

zona bening yang dihasilkannya berbeda tidak nyata setelah dianalisis dengan statistik. Diameter zona bening yang dihasilkannya masing-masing adalah 39,7 mm dan 39,3 mm. Mikroba endofitik yang mempunyai aktivitas antimikroba yang rendah ditemukan pada bakteri dengan kode isolat FA 1 yang berbeda tidak nyata dengan isolat FA 9 dan isolat jamur FH 1 dengan diameter zona bening 15,3 mm dan 16,3 mm. Wahyudi (1997) menyatakan bahwa tingkat aktivitas zat atau senyawa antimikroba diukur berdasarkan besar diameter zona penghambatan yang dihasilkan. Semakin besar diameter zona bening semakin aktif zat antimikroba tersebut. Mikroba yang menghasilkan diameter zona bening yang lebih dari 15 mm mempunyai potensi yang besar dalam menghambat keberadaan patogen. Berdasarkan hal tersebut ke 14 isolat bakteri dan jamur yang didapatkan berpotensi menghambat patogen *Fusarium oxysporum*.

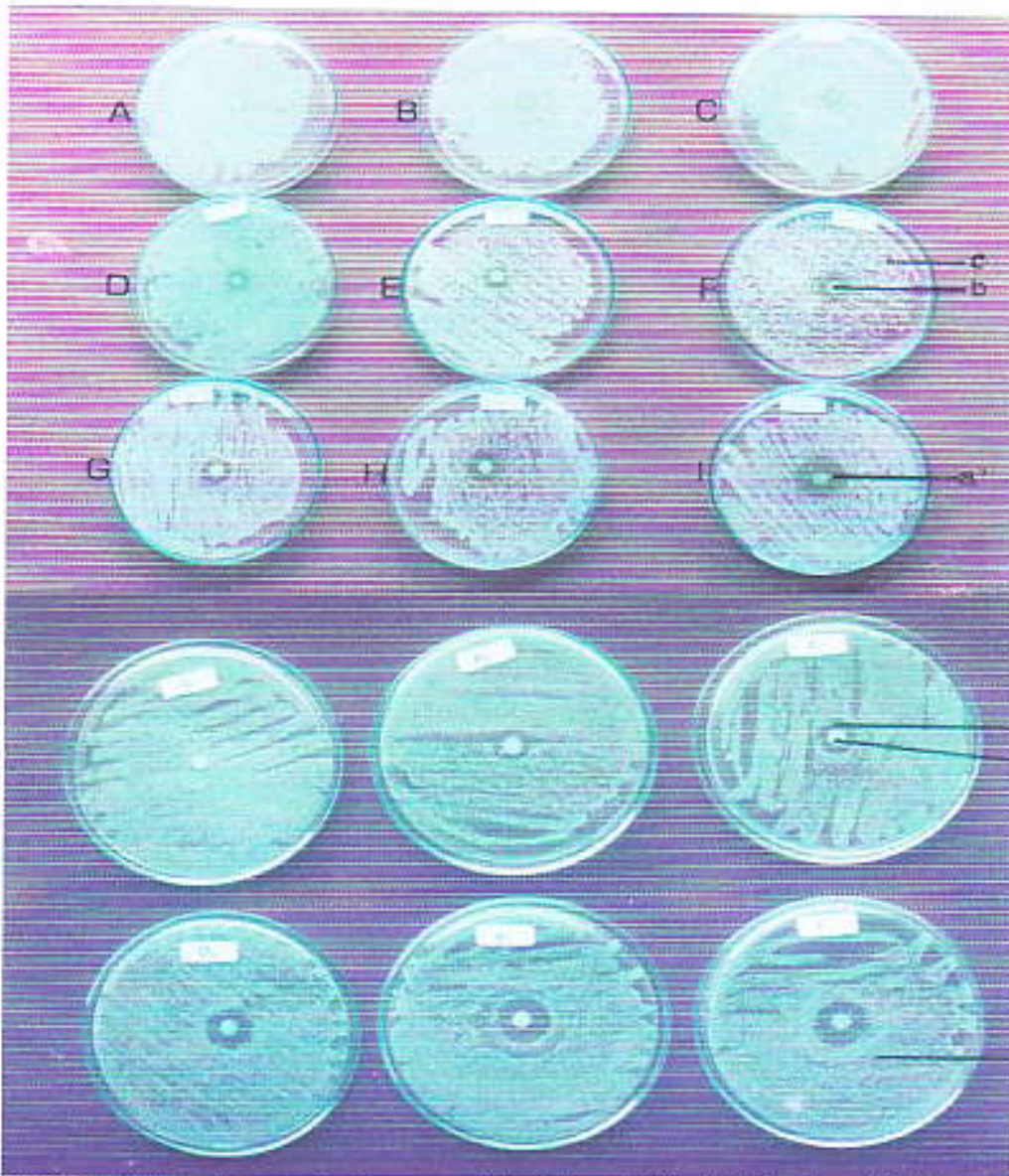
Jika dihubungkan dengan Tabel 1, ternyata semua isolat yang mempunyai aktivitas antimikroba berasal dari tanaman pisang liar. Hal ini mendukung asumsi awal bahwa tanaman pisang liar mempunyai mikroba endofitik yang berbeda dengan tanaman pisang budidaya, sehingga lebih tahan terhadap patogen penyebab penyakit pada tanaman pisang. Berdasarkan hal ini maka mikroba endofitik dari tanaman pisang liar tersebut dapat digunakan sebagai agen hayati untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang budidaya. Inokulum mikroba endofitik dari tanaman pisang liar diinokulasikan pada tanaman pisang budidaya, sehingga tanaman pisang budidaya akan tahan terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Dari Tabel 1 juga ditemukan isolat endofitik yang tidak menghasilkan aktivitas zona bening, hal ini mungkin disebabkan tidak ada atau sedikit zat antibiotika yang dihasilkan oleh mikroba tersebut sehingga kemampuannya dalam menghambat keberadaan jamur patogen rendah. Menurut (Cao, *et al*, 2004), walaupun mikroba endofitik dapat diisolasi dalam jumlah yang banyak dari tanaman inang, tetapi umumnya hanya beberapa jenis kehadirannya dalam jumlah yang berarti. Setiap jenis endofitik mempunyai kemampuan yang berbeda dalam beradaptasi.

Menurut Sigh (1967), terhambatnya pertumbuhan jamur patogen di sekitar cakram kertas yang telah menyerap filtrat antibiotika terjadi karena senyawa antibiotika yang dihasilkan oleh mikroba endofitik ini dapat merusak dinding sel dari jamur patogen dan merusak sistem yang berlangsung dalam sel jamur. Hal

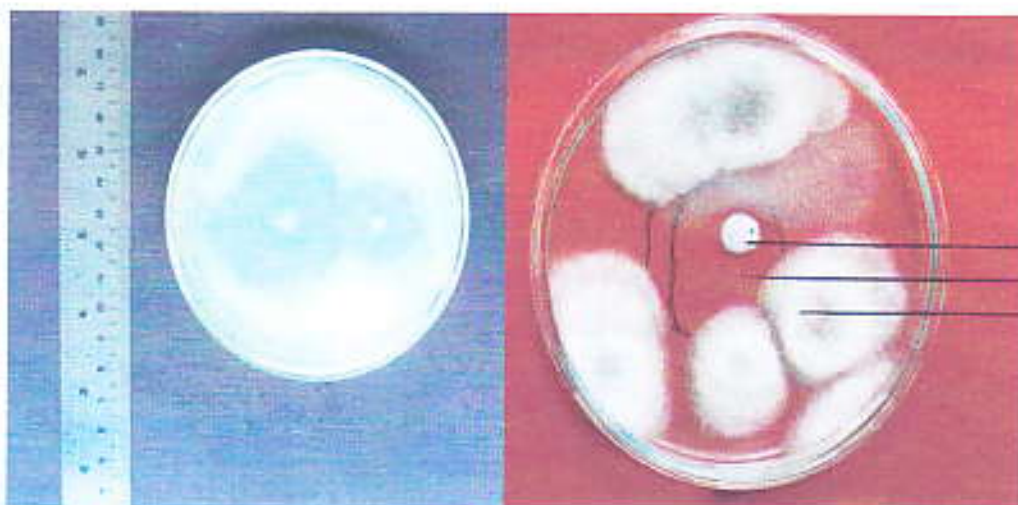
tersebut mengakibatkan sel jamur akan terhambat pertumbuhannya atau bahkan bisa mati.

Diameter zona bening yang dihasilkan oleh bakteri dan jamur endofitik dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Diameter zona bening yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofitik

- Ket: a. zona bening
b. cakram kertas
c. pertumbuhan bakteri



Gambar 5. Diameter zona bening yang dihasilkan oleh isolat jamur endofitik

3. Identifikasi bakteri dan jamur endofitik yang mempunyai aktivitas antimikroba

3.1. Identifikasi bakteri

Bakteri endofitik yang mempunyai aktivitas antimikroba selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui jenis isolat tersebut. Hasil identifikasi dari isolat bakteri yang dilakukan secara pengamatan mikroskopis dan reaksi biokimia, didapatkan beberapa bakteri seperti yang terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data pengamatan mikroskopis dan reaksi biokimia dari bakteri endofitik yang diidentifikasi

No	Mikroskopis		Uji biokimia													Jenis bakteri
	Gram	Bentuk sel	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	
1	P	Basil	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	<i>Bacillus brevis</i>
2	P	Basil	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	<i>Bacillus sp</i>
3	N	Basil	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	<i>Klebsiella sp</i>
4	N	Basil	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>
5	P	Basil	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>
6	N	Basil	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Achromobacter sp</i>

Keterangan:

A : H₂S D : Urea G : Glukosa J : Gas : Voges Proskauer (VP)

B : Katalase E : Manitol H : Sukrosa K : Sitrat

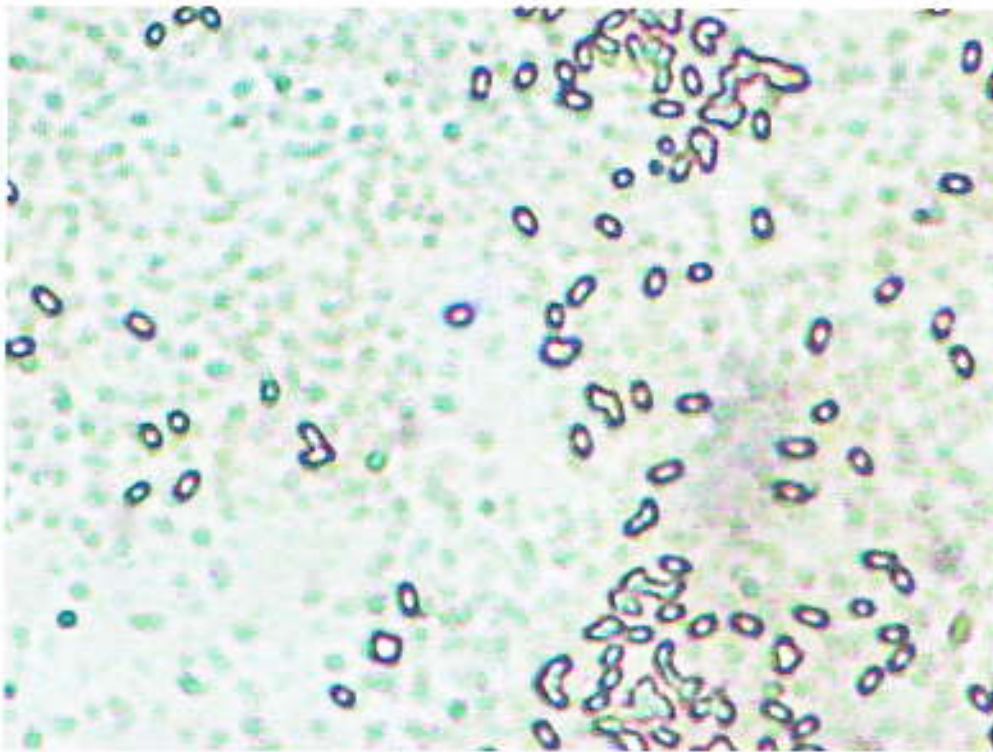
C : Indol F : Laktosa I : Motilitas L : Metil Red (MR)

+ : Reaksi positif - : Reaksi negatif P : Gram positif N : Gram negatif

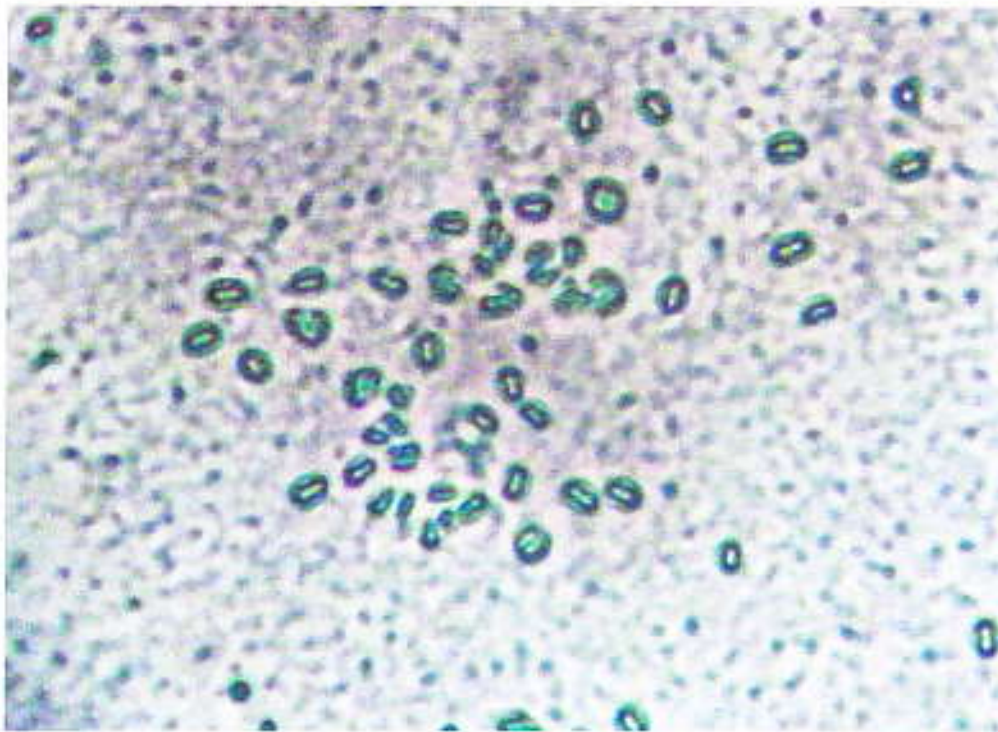
1. Kode isolat: FA 10
2. Kode isolat: FA 5
3. Kode isolat: FA 3
4. Kode isolat: FA 14
5. Kode isolat: FA 9
6. Kode isolat: FA 1

Setelah dilakukan identifikasi, ke 6 isolat bakteri endofitik dari tanaman pisang liar yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah *Bacillus brevis* (kode isolat FA 10), *Bacillus sp* (Kode isolat: FA 5), *Klebsiella sp* (Kode isolat: FA 3), *Proteus mirabilis* (Kode isolat: FA 14), *Bacillus pumilus* (Kode isolat: FA 9), *Achromobacter sp* (Kode isolat: FA 1).

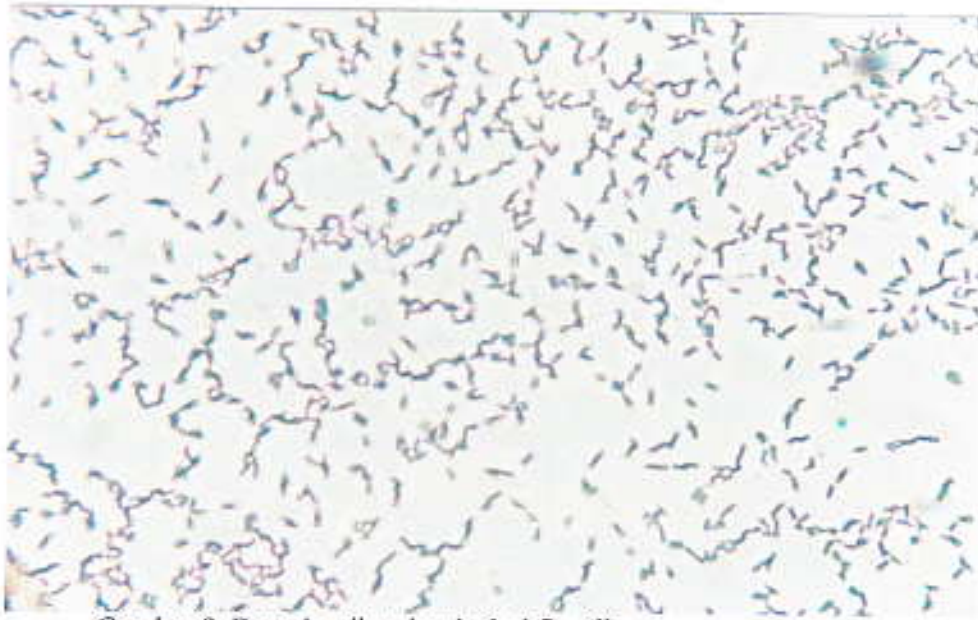
Bentuk mikroskopis dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Gambar 6, 7, 8, 9, 10 dan 11



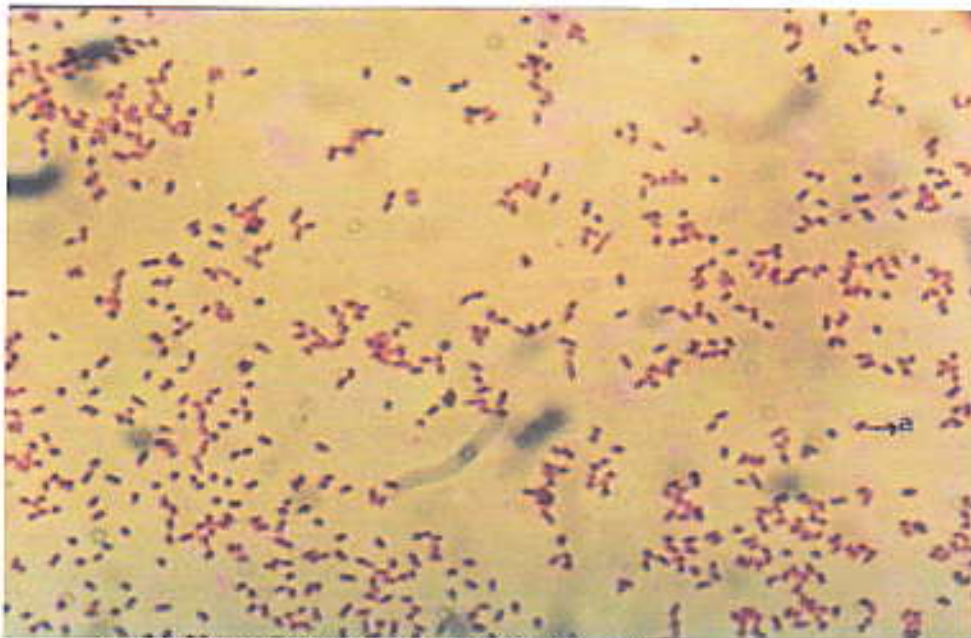
Gambar 6. Bentuk mikroskopis dari *Bacillus brevis*



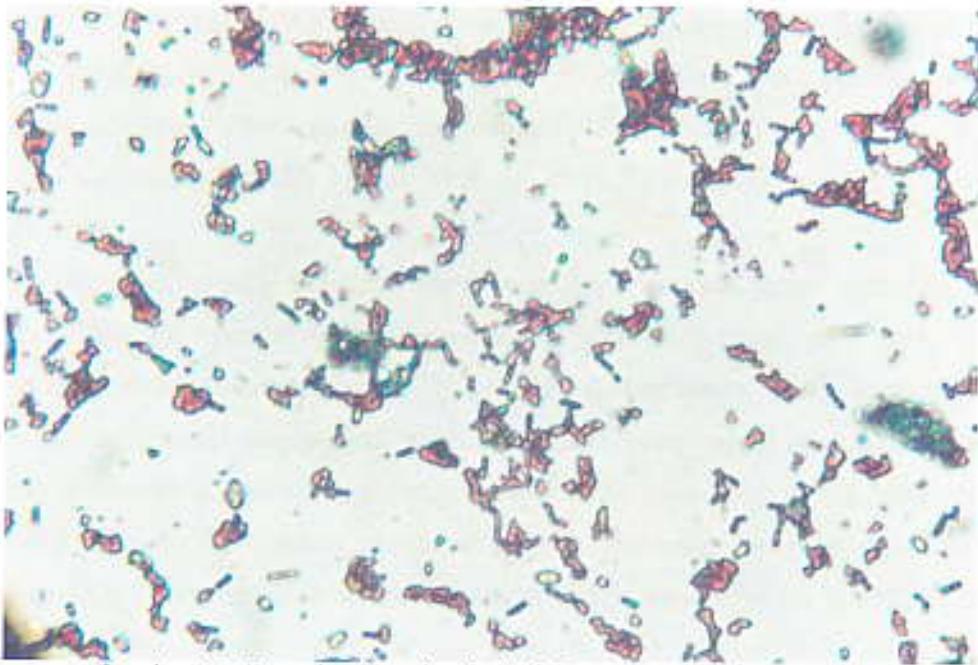
Gambar 7. Bentuk mikroskopis dari *Bacillus pumilus*



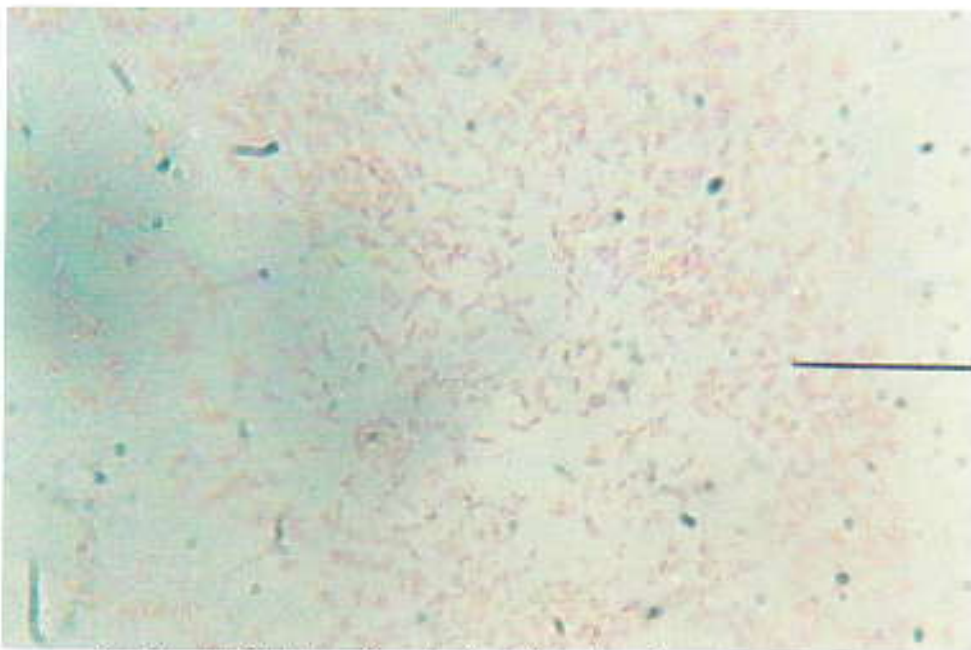
Gambar 8. Bentuk mikroskopis dari *Bacillus sp*



Gambar 9. Bentuk mikroskopis dari *Klebsiella sp*



Gambar 10. Bentuk mikroskopis dari *Proteus mirabilis*



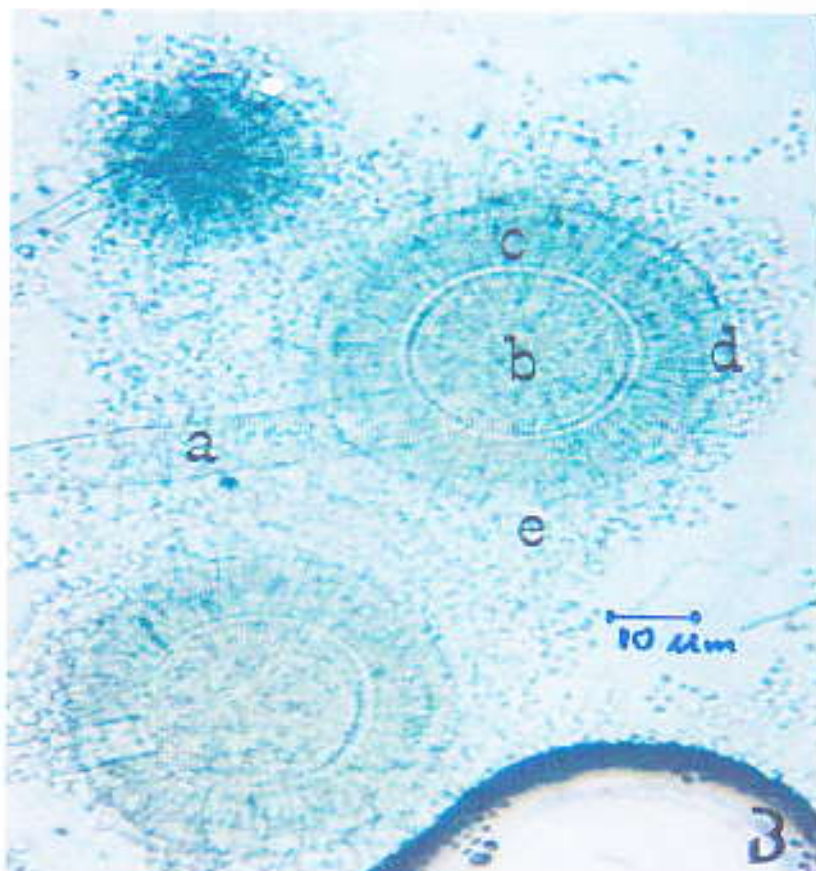
Gambar 11. Bentuk mikroskopis dari *Achromobacter sp*

3.1. Identifikasi Jamur

Jamur endofitik yang mempunyai aktivitas antimikroba selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui jenis isolat tersebut. Dari hasil identifikasi, didapatkan beberapa jenis jamur yaitu dari Kelas Deuteromycetes dan Zygomycetes. Dari Kelas Deuteromycetes yang didapatkan adalah dari ordo Moniliales yaitu *Aspergillus niger* (kode isolat FH 16), *Aspergillus clavatus* (kode

isolat FH 5), *Aspergillus oryzae*, (kode isolat FH 8), *Aspergillus fumigatus* (kode isolat FH 2), *Penicillium sp* (kode isolat FH 15), *Trichoderma harzianum* (kode isolat 12), dan *Trichoderma sp* kode isolat FH 3, (Gambar 12, 13, 14, 15, 16, 17). Dari Kelas Zygomycetes adalah *Rhizopus oligosporus* kode isolat FH 1, (Gambar 18).

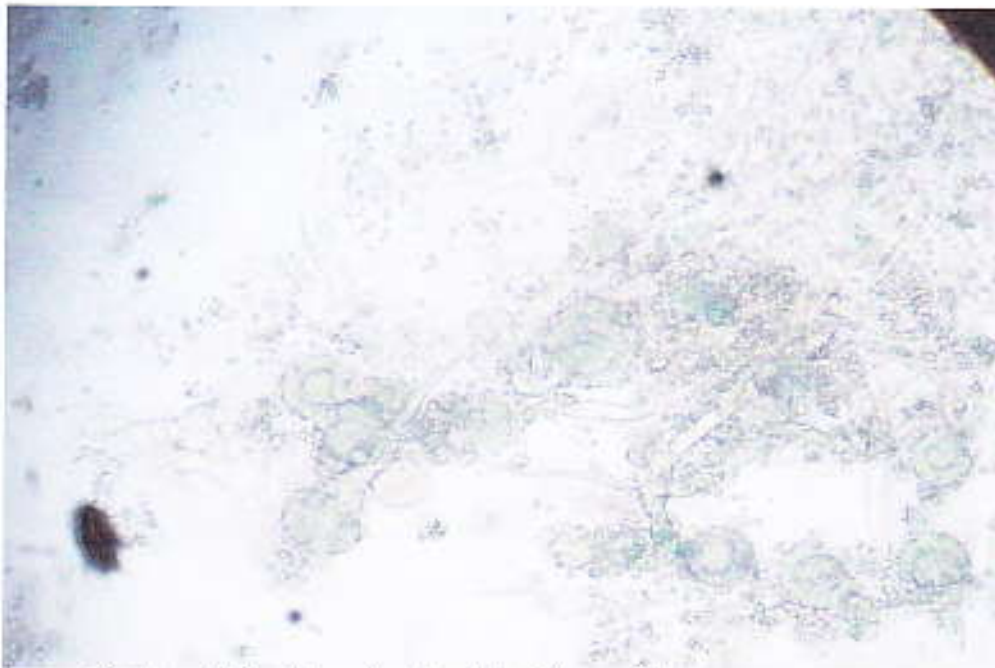
Dibandingkan dengan bakteri endofitik, ternyata jamur endofitik yang ditemukan mempunyai aktivitas antimikroba yang lebih tinggi, yang dapat dilihat pada Tabel 2. Menurut Azevedo *et al* (2000), dari beberapa kajian, ternyata jamur endofitik terbukti mempunyai potensi ekonomi yang cukup besar dibandingkan bakteri endofitik, baik sebagai penghasil antibiotika maupun metabolit sekunder lain yang berguna. Oleh sebab itu dalam perkembangannya perhatian para ilmuwan kepada mikroba endofitik ini lebih banyak tertuju kepada jamur endofitik. Jamur endofitik dari tanaman pisang liar yang mempunyai aktivitas antimikroba yang lebih besar adalah *Trichoderma harzianum* (kode isolat 12), dan *Trichoderma sp* (kode isolat FH 3).



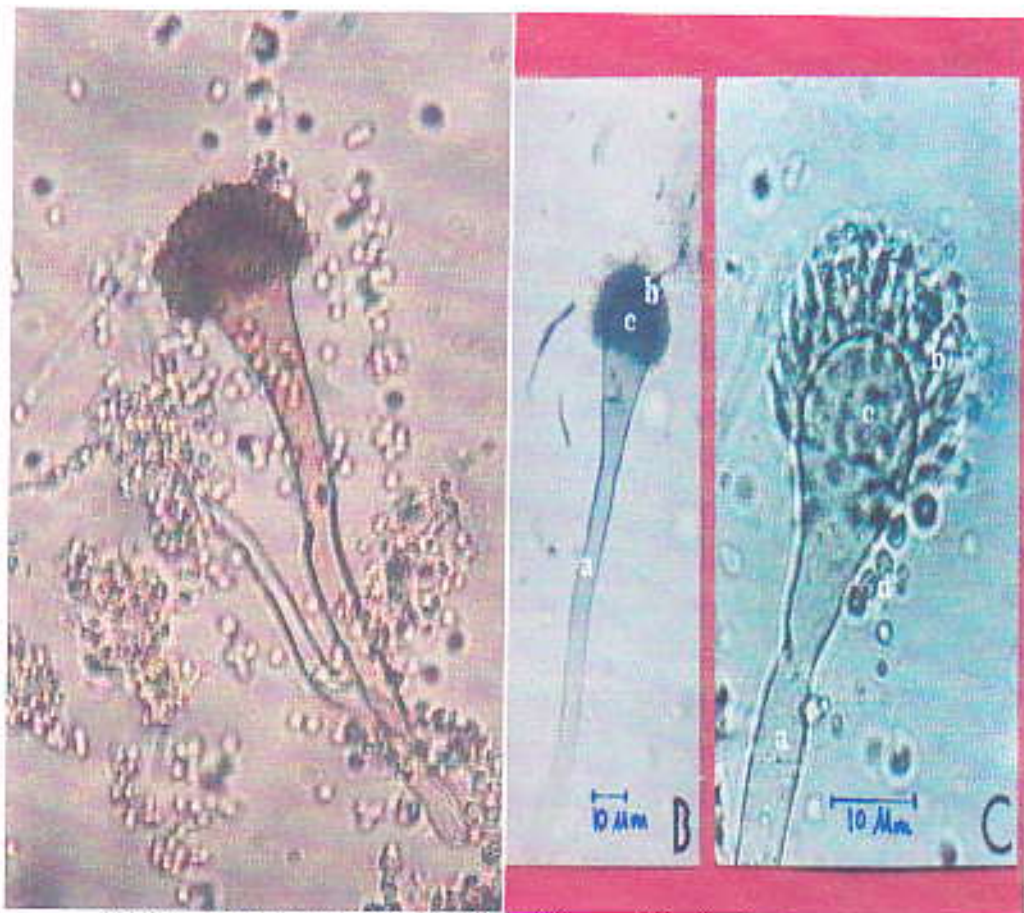
Gambar 12. Bentuk mikroskopis dari *Aspergillus niger*



Gambar 13. Bentuk mikroskopis dari *Aspergillus clavatus*



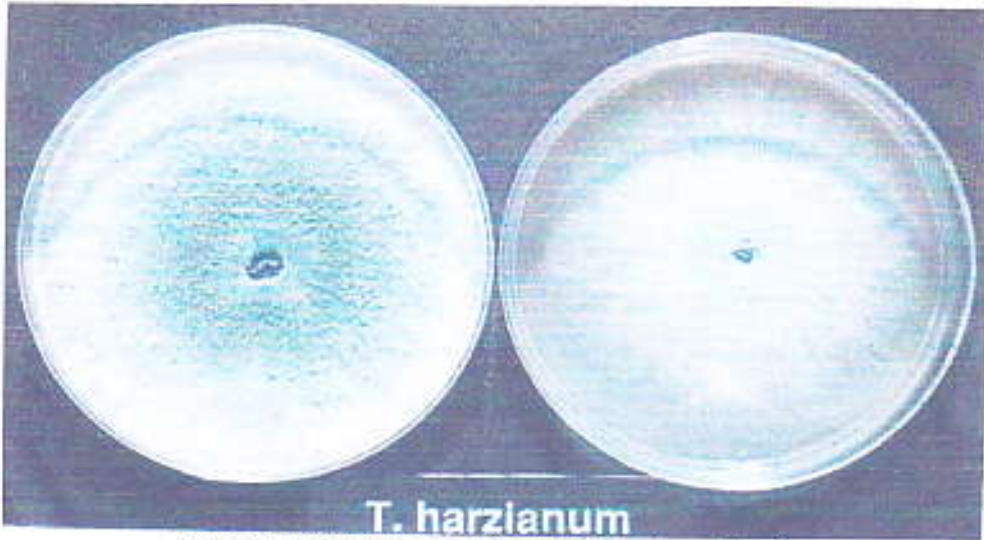
Gambar 14. Bentuk mikroskopis dari *Aspergillus oryzae*



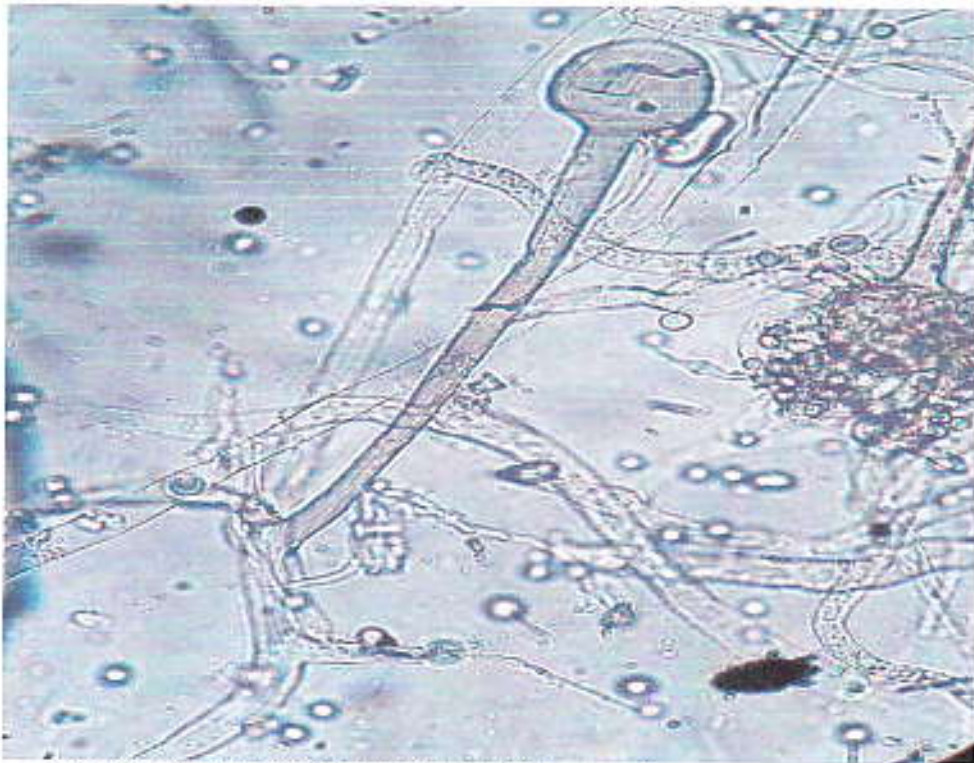
Gambar 15. Bentuk mikroskopis dari *Aspergillus fumigatus*



Gambar 16. Bentuk mikroskopis dari *Penicillium sp*



Gambar 17. Bentuk koloni dari *Trichoderma harzianum*



Gambar 18. Bentuk mikroskopis dari *Rhizopus oligosporus*

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat bakteri dan jamur endofitik yang ditemukan pada tanaman pisang liar berbeda dengan tanaman pisang budidaya
2. Isolat bakteri dan jamur endofitik yang ditemukan pada tanaman pisang liar mempunyai aktivitas antimikroba terhadap patogen *Fusarium oxysporum*
3. Semua isolat bakteri dan jamur endofitik yang ditemukan berpotensi sebagai agen hayati untuk mengendalikan penyakit layu Fusarium
4. Diperoleh suatu konsorsium mikroba endofitik sebagai agen hayati yang efektif dan ramah lingkungan

SARAN:

Untuk aplikasi di lapangan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti:

1. Perendaman + Penyiraman dengan suspensi antagonis
2. Penyuntikan dengan konsorsium mikroba endofit
3. Kompos + antagonis

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsjah, F. 2003. Isolasi jamur endofitik pada tanaman Akasia. Laporan Penelitian Fakultas MIPA Unand, Padang. (unpublished report).
- Azevedo, J.L., J.O. Pireire, W.L. Araujo de. 2000. Plant Biotechnology. Environmental Biotechnology, Endophytic microorganism; A Review on Insect control and Recent Advances on Tropical. *Electronic Journal of Biotechnology*, Universidad Catolica De Valparaiso, Chile. ISSN: 0717-3458. Vol.3. No.1
- Bacon, C.W. dan Siegel, M.R. 1990. Isolation of Biotechnology organism from nature. Mc Graw-Hill Environmental Biotechnology Series, US, 259-279 p.
- Balai Perlindungan Tanaman Pangan dan Hortikultura Sumatera Barat. 2004. Laporan kegiatan implementasi Pengendalian Hama Terpadu pada tanaman pisang di Sumatera Barat. Padang
- Cao, L., Qiu, Z., Dai, X., Tan, H., Lin, Y. Dan Zhou, S. 2004. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of banana (*Musa acuminata*) plants and their activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*. *World Journal of Microbiology & nBiotechnology* . 20: 501-504.
- Cao, L., Qiu, Z., You, J., Tan, H., Lin, Y. Dan Zhou, S. 2005. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonist of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 247: 147-152
- Carol, G.C. dan O. Petrini. 1983. Patterns of substrate utilization by some endophyte from Coniferous foliage. *Mycologia*. 75: 53-63
- Carroll, G. C. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiotic. *Ecology* 69: 2 – 9
- Djatnika, I., C. Hermanto & Eliza. 2003. Pengendalian hayati layu Fusarium pada tanaman pisang dengan *Pseudomonas fluorescens* dan *Gliocladium* sp. *Jurnal Hortikultura*. 13 (3): 205 – 211
- Fitria, H. 2002. Pengaruh konsentrasi bahan alternatif pengganti yeast extract sebagai sumber nitrogen terhadap aktivitas jamur endofitik sebagai antijamur patogen. Skripsi sarjana Biologi. FMIPA, Unand. Padang.
- Funk, C.R., P. M. Halisky, & S. Ahamat. 1985. How endophytes modify turfgrass performance and response to insect pests in turfgrass breeding and evaluation trials. In Lemaire, F (ed). Proc. 5 th Inf. Turf Res. Conf Aavignon. INRA. Versailles. France. 137 – 145 p.
- Jumjunidang, Nasir, Riska & Handayani. 2004. Identifikasi cendawan endofit tanaman pisang dan pemanfaatannya mengendalikan nematode parasit pemicu serangan layu Fusarium. Lap. Hasil Penelitian Balitbu, Solok.
- Labeda, D.P. 1990. Isolation of biotechnological organisms from nature. Mc Graw-Hill Publishing Company. New York. 259 – 282
- Lasota, J.A., M.G. Waldvogel dan D.J. Shetlar. 1983. Fungus found in galls of *Sdelges abietis* (L) (Homoptera: Adelgidae): Identification within tree distribution and possible impact on insect survival. *Environmental Entomology*, 12: 245-246
- Latch, G.C. dan M. J. Christensen. 1985. Artificial infection of Grasses with endophyte. *Animals of Applied Biology*. 107: 17-24
- Nasir, N. & Jumjunidang. 2003. Karakterisasi ras *Fusarium oxysporum* F. sp. *cubense* dengan metode Vegetative Compatibility Group Test dan

identifikasi kultivar pisang yang terserang. *Jurnal Hortikultura* 13 (4): 267 – 284

- Nurhadi, M. Rais & Harlion. 1994. Serangan bakteri dan cendawan pada tanaman pisang di propinsi Dati I Lampung. *Info Hort.* Vol. 2 (1): 37 – 40
- Petrini, O. 1986. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. In Fokkema, N. J., Van den Heuvel (eds): *Microbiology of the Phyllosphere*, Cambridge. Cambridge University Press. 175-187 p
- Petrini, O. & P. J. Fisher. 1988. A Comparative study of fungal endophytes in Xylem and whole stems of *Pinus silvestris* dan *Fagus sylvatica*. Dalam Petrini, O. dkk. 1992. Ecology metabolite production, en substrate utilization in endophytic fungi. Willey Liss Inc, Swiss natural toxins I: 185 – 196 p
- Petrini, O., T. N. Sieber, & L. Toty. 1992. Ecology, Metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. Willey liss Inc. Swiss. Natural toxins I : 185 – 196 p.
- Ploetz, R. 2003. Fusarium wilt in the Western Hemisphere: A current history of the disease and summary of ongoing research.
- Prihatini, R. & Alamsjah, F. 2004. Produksi senyawa ajmalisin pada kultur jaringan tapak dara (*Catharanthus roseus*(L.) G.Don) dan bioassay terhadap beberapa jamur patogen tanaman. Laporan Hasil Penelitian Dosen Muda.
- Radu, S. & C. Y. Kqueen. 2002. Preliminary screening of endophytic fungi from medicinal plants in Malaysia for antimicrobial and antitumor activity. *Malaysian Journal of Medical Science*. Vol. 9. No.1. 23-33
- Sinclair, J.B. 1991. Latent infection of soybean plant and seed by fungi. *Plant Disease*. 75: 220-224
- Sigh, J. 1967. Patulin. Dalam: Golllieb, D. dan P. D. Shaw (ed). 1967. *Antibiotics.I. Mechanism of action*. Springer-Verlag. Berlin.
- Wahyudi. 1997. Tehnik skrining mikroba endofit penghasil antibiotik. Subdirektorat Bioteknologi. BPPT. Jakarta