



**POTENSI BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI
BIOLOGIS CENDAWAN *Pestalotiopsis* sp. PENYEBAB PENYAKIT
GUGUR DAUN PADA TANAMAN KARET
(*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)**

**Vazza Navtra Tylova¹, Syamsul Bahri^{1*}, Boy Riza Juanda¹,
Alchemi Putri Juliantika Kusdiana²**

¹Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Samudra
Jalan. Prof. Dr. Syarif Thayeb, Meurandeh Langsa Lama, Kota Langsa, Aceh.

²Penelitian Unit Riset Sungei Putih, Pusat Penelitian Karet,
Jalan. Sei Putih Rispa, Kp. Klp. Satu, Kec. Galang, Kab. Deli Serdang, Sumatra Utara, 20585

*Corresponding Author: syamsulbahrimp@unsam.ac.id

ABSTRACT

[THE POTENTIAL OF ENDOPHYTIC BACTERIA AS A BIOLOGICAL CONTROLLER OF LEAF FALL DISEASE CAUSED BY *Pestalotiopsis* sp. IN RUBBER PLANTS (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). This study aims to explore endophytic bacteria and determine their effectiveness against the fungus *Pestalotiopsis* sp. which causes leaf fall on rubber plants. *Pestalotiopsis* sp. can attack all rubber clones resulting in decreased latex production. The presence of pathogen attacks can result in enormous economic losses. Therefore, it is very important to find an effective and efficient controlling method, one of which is through biological control of plant diseases, namely by using antagonistic microorganisms. The presence of endophytic bacteria as biological controllers has become an alternative method to reduce the practices of chemical control. This study used a Non-Factorial Completely Randomized Design (CRD) with 6 treatments and 4 replications, so that 24 experimental units were obtained, using *Potato Dextrose Agar* (PDA) media for the *in vitro* antagonist test using the *dual culture* method. Namely P₀ = Control, P₁ = *Pestalotiopsis* sp. 1 vs Bacteria P, P₂ = *Pestalotiopsis* sp. 2 vs Bacteria B, P₃ = *Pestalotiopsis* sp. 3 vs Bacteria C, P₄ = *Pestalotiopsis* sp. 4 vs Bacteria E, P₅ = *Pestalotiopsis* sp. 5 vs Bacteria F. The results indicated that antagonistic treatment of endophytic bacteria *in vitro* affected the percentage of inhibitory power of the mycelium of the fungus *Pestalotiopsis* sp. by endophytic bacteria at 1 - 6 Days After Incubation (DAI). The 3% KOH method and gram staining showed that samples P₁, P₂, P₅ did not produce mucus and were purple in colour (positive), but samples P₃, P₄, showed mucus and were pink in colour (negative). Hypersensitivity reactions to tobacco plants samples P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ did not show negative characteristics or did not cause changes in coloration and symptoms on leaves of tobacco plant.

Keyword: *Hevea brasiliensis* Muell. Arg., endophytic bacteria, *Pestalotiopsis* sp.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi bakteri endofit dan mengetahui efektifitas bakteri tersebut terhadap cendawan *Pestalotiopsis* sp. penyebab penyakit gugur daun pada tanaman karet. *Pestalotiopsis* sp. dapat menyerang semua klon karet sehingga mengakibatkan penurunan produksi lateks. Adanya serangan patogen dapat mengakibatkan kerugian secara ekonomi yang sangat besar. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode pengendalian yang efektif dan efisien, salah satunya melalui pengendalian penyakit tanaman secara biologis yaitu dengan menggunakan mikroorganisme yang bersifat antagonis. Keberadaan bakteri endofit sebagai pengendali biologis telah menjadi alternatif untuk menghentikan peran pengendalian secara kimiawi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga diperoleh 24 unit percobaan, menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Untuk uji antagonis secara *in vitro* menggunakan metode *dual culture*. Perlakuan yang diuji adalah P₀ = Kontrol, P₁ = *Pestalotiopsis* sp. 1 vs Bakteri P, P₂ = *Pestalotiopsis* sp. 2 vs Bakteri B, P₃ = *Pestalotiopsis* sp. 3 vs Bakteri C, P₄ = *Pestalotiopsis* sp. 4 vs Bakteri E, dan P₅ = *Pestalotiopsis* sp. 5 vs Bakteri F. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan antagonis bakteri endofit secara *in vitro* mempengaruhi persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit pada 1 - 6 Hari Setelah Inkubasi (HSI). Metode KOH 3% dan pewarnaan gram menunjukkan sampel P₁, P₂, P₅ tidak menghasilkan lendir dan berwarna ungu (positif), namun pada sampel P₃, P₄, menghasilkan lendir dan berwarna merah muda (negatif). Reaksi hipersensitivitas pada tanaman tembakau sampel P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ tidak menunjukkan ciri-ciri negatif atau tidak menimbulkan perubahan warna dan gejala pada daun tanaman tembakau.

Kata kunci: *tanaman karet, bakteri endofit, penyakit gugur daun*

PENDAHULUAN

Tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) merupakan pohon kayu tropis yang berasal dari hutan Amazon. Indonesia merupakan negara produsen karet terbesar kedua di dunia setelah Thailand (Kementerian Pertanian, 2015). Karet memiliki peran penting bagi perekonomian di Indonesia. Luas kebun karet pada tahun 2022 adalah 3,83 juta ha yang mampu memberikan lapangan kerja lebih dari 2,5 juta kepala keluarga. Pada tahun 2022 luas areal karet hanya meningkat 1,32% dari tahun sebelumnya 3,78 juta ha (Dirjenbun, 2022).

Proses budidaya karet sangat dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetik yang memiliki peranan penting dalam produksi lateks adalah umur tanaman serta jenis klon (Usodri *et al.*, 2021). Faktor lingkungan yang berperan penting adalah iklim yang tidak hanya berperan dalam proses budidaya karet saja, tetapi berpengaruh terhadap perkembangan penyakit. Secara umum, Indonesia memiliki kondisi iklim yang sangat mendukung bagi perkembangan penyakit tanaman karet (Febbiyanti, 2020).

Lebih dari 22 jenis penyakit yang berpotensi menimbulkan kerusakan pada tanaman karet yaitu pada bagian akar, bidang sadap, batang/cabang, dan daun. Saat ini, terdapat satu jenis penyakit daun yang serangannya meluas yaitu penyakit gugur daun *Pestalotiopsis* yang disebabkan oleh cendawan *Pestalotiopsis* sp. (Kusdiana, 2020). Penyakit gugur daun *Pestalotiopsis* sp. pertama kali ditemukan di perkebunan karet Malaysia pada tahun 1987. Pada tahun 2016, penyakit gugur daun *Pestalotiopsis* sp. menyebar dari pertanaman karet di Sumatera Utara sampai Sumatera Selatan. *Pestalotiopsis* sp. dapat menyerang semua klon karet sehingga mengakibatkan penurunan produksi lateks mencapai 45% (Febbiyanti & Fairuzah, 2019). Penyakit gugur daun ini menyerang hampir seluruh perkebunan karet di Indonesia dan negara-negara penghasil karet lainnya di Asia Tenggara (Oktavia & Kusdiana, 2021).

Penyakit gugur daun karet *Pestalotiopsis* sp. sebelumnya masih dianggap penyakit minor, namun perkembangannya cukup cepat sehingga serangan pada satu areal relatif merata. Penyakit ini menyerang tanaman karet belum menghasilkan dan tanaman menghasilkan baik daun muda maupun tua.

Adanya serangan patogen dapat mengakibatkan kerugian secara ekonomi yang sangat besar. Oleh karena itu, diperlukan suatu pengendalian yang efektif dan efisiensi. Pengendalian patogen banyak dilakukan dengan bahan kimiawi, tetapi bahan kimiawi dapat menimbulkan efek negatif terhadap lingkungan sekitar. Salah satu pengendalian penyakit tanaman secara biologis yaitu dengan menggunakan mikroorganisme yang bersifat antagonis.

Mikroorganisme telah tersedia di alam dan aktivitasnya dapat distimulasi dengan memodifikasi

lingkungan. Selain itu, penggunaan mikroorganisme antagonis sebagai pengendali biologi bersifat aman terhadap lingkungan, tidak adanya residu, aplikasi tidak berulang-ulang karena dapat memperbanyak diri sehingga mengurangi frekuensi aplikasi. Wahyuni (2020) menyatakan bahwa hampir setiap bagian tanaman dapat ditemukan bakteri endofit. Pada beberapa tahun terakhir, pengaplikasian mikroba endofit sebagai pengendali biologis telah menjadi alternatif untuk menghentikan peran pengendalian secara kimiawi.

Bakteri endofit adalah bakteri yang berada di dalam jaringan tumbuhan yang tidak menimbulkan gangguan pada tumbuhan itu sendiri. Mikroorganisme ini, biasanya ditemukan pada bagian tumbuhan yang terlindungi dan sehat seperti pada akar, batang, daun dan buah. Keberadaan bakteri endofit dapat memberikan banyak manfaat bagi tumbuhan inangnya. Manfaat bakteri endofit bagi tumbuhan inangnya antara lain membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman, menekan penyakit tanaman yang disebabkan oleh patogen, meningkatkan kompetisi ruang nutrisi dan ekologi, menghasilkan antimikroba, dan menghasilkan biostimulan seperti fitohormon dan peptida yang tidak memiliki efek negatif terhadap tanaman maupun lingkungannya (Harsono, 2021). Bakteri endofit juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap berbagai mikroorganisme patogen dengan cara menginduksi resistensi tanaman yang disebut dengan *Induced Systemic Resistance (ISR)* sehingga dapat menahan serbuan penyakit tanaman (Hallman & Berg, 2006).

Bakteri endofit juga dapat mengendalikan penyakit pada tanaman padi yang disebabkan oleh nematoda puru akar (NPA). Bakteri endofit yang digunakan mempunyai potensi yang baik sebagai agens biokontrol. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi antagonisme bakteri endofit terhadap cendawan *Pestalotiopsis* sp. penyebab penyakit gugur daun pada tanaman karet. Bakteri endofit yang efektif menghambat perkembangan cendawan *Pestalotiopsis* sp. dapat menjadi salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan dalam strategi pengendalian penyakit gugur daun *Pestalotiopsis* sp.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Unit Riset Sungei Putih, Pusat Penelitian Karet, Kecamatan Galang, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara, sejak Oktober sampai Desember 2022. Tempat pengambilan sampel dilakukan di kebun persilangan buatan dengan ketinggian 80 m dpl. Penelitian dilakukan pada skala Laboratorium.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan menggunakan bakteri endofit yang berada pada setiap perlakuan-nya. Perlakuan yang diuji secara berturut-turut : P_0 = Kontrol; P_1 = *Pestalotiopsis* sp. 1 vs Bakteri P; P_2 = *Pestalotiopsis* sp.2 vs Bakteri B; P_3 = *Pestalotiopsis* sp.

3 vs Bakteri C; $P_4 = Pestalotiopsis$ sp. 4 vs Bakteri E; dan $P_5 = Pestalotiopsis$ sp. 5 vs Bakteri F. Setiap perlakuan tersebut diulang sebanyak 4 kali. Perlakuan yang digunakan untuk uji antagonis secara *in Vitro* menggunakan metode *dual culture* hingga dapat dihitung persentase daya hambat pada uji antagonis terhadap *Pestalotiopsis* sp.

Data dari variabel pengamatan *Dual Culture* dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (ANOVA) dan kemudian dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

Pembuatan media PDA, NA, NB

Media Potato Dextrose Agar (PDA) terdiri dari kentang 250 g, 20 g dextrose, 15 g agar, dan 1.000 mL aquades. Kentang dikupas dan dicuci sampai bersih, kemudian dipotong kecil-kecil. Kentang yang sudah dipotong dimasukkan kedalam panci yang berisi 1000 mL aquades dan dimasak selama 20 menit. Kentang disaring menggunakan saringan dan diambil ekstraknya. Setelah itu, pada larutan kentang yang telah hangat ditambahkan agar 15 g dan 20 g dextrose, lalu dimasak hingga mendidih dan diaduk sampai homogen menggunakan spatula, setelah itu dituang media ke dalam erlenmayer dan disumbat dengan kapas. Media disterilisasi dengan *autoclave* suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian didinginkan.

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) yaitu dengan menggunakan bahan aquades 1 liter, NaCl 8 gram, pepton 5 g, yeast 2 g, dan agar 15 g, setelah seluruh bahan dilarutkan ke dalam aquades hingga 1.000 mL. larutan tersebut kemudian dimasak hingga mendidih dan diaduk sampai homogen menggunakan spatula. Kemudian larutan media dimasukkan ke dalam erlenmayer dan disumbat dengan kapas. Media disterilisasi dengan *autoclave* suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian didinginkan.

Media Nutrien Broth (NB) sebanyak 8 g ditambahkan aquades hingga satu liter, lalu dimasak hingga mendidih dan diaduk hingga homogen menggunakan spatula. Kemudian larutan media tersebut dituang ke dalam erlenmayer dan disumbat dengan kapas. Selanjutnya media disterilisasi dengan *autoclave* suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian didinginkan.

Penyediaan isolat cendawan Pestalotiopsis sp.

Isolat cendawan *Pestalotiopsis* sp. yang digunakan dalam pengujian merupakan isolat koleksi Unit Riset Sungei Putih, Pusat Penelitian Karet. Isolat cendawan *Pestalotiopsis* sp. tersebut berasal dari klon IRR 118.

Pemurnian cendawan Pestalotiopsis sp.

Pemurnian dilakukan pada Cendawan *Pestalotiopsis* sp. yang telah tersedia di Unit Riset Sungei Putih, Pusat Penelitian Karet. Isolat dimurnikan kembali ke

media PDA yang baru dengan jarum ose, jika pemurnian cendawan yang telah tumbuh masih terkontaminasi dengan cendawan lain maka harus dimurnikan kembali.

Isolasi bakteri endofit asal daun tanaman karet

Sampel daun yang di gunakan untuk eksplorasi bakteri endofit diambil dari daun tanaman karet tahun tanam 2002, daun tanaman karet yang digunakan yakni dau sehat diantara daun yang berpenyakit dengan tidak menunjukkan ciri gejala penyakit tanaman karet. Daun tanaman karet di dapat dari Kebun Persilangan Buatan Unit Riset Sungei Putih, asal klon IRR 220. Eksplorasi bakteri endofit dilakukan dengan mengisolasi bakteri endofit asal dari daun tanaman karet (*Hevea brasiliensis*).

Eksplorasi bakteri endofit dari daun tanaman diawali dengan proses sterilisasi permukaan. Sebelumnya, sampel daun tanaman karet dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dikering-anginkan. Sampel dipotong dengan ukuran ± 1 cm. Kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan direndam larutan NaOCl 1% selama 3 menit. Selanjutnya dilakukan perendaman ke dalam alkohol 70% selama 2 menit, lalu dibilas dengan menggunakan air steril sebanyak 3 kali. Setelah itu, sampel dikering-anginkan menggunakan tisu steril.

Sebanyak 1 g sampel daun tanaman karet digerus menggunakan mortar lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL air steril, kemudian dilakukan pencampuran menggunakan vortex. Sebanyak 1 mL dari campuran tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL air steril yang disebut dengan pengenceran 10^{-1} . Kemudian pengenceran tersebut dilanjutkan ke seri 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Lalu diambil 0,1 mL dari masing-masing seri pengenceran dan dicawankan pada media NA lalu dihomogenkan/dicampurkan, selanjutnya cawan diinkubasi selama 48 jam. Isolat bakteri yang tumbuh dan mempunyai karakteristik morfologi yang berbeda kemudian dimurnikan pada media NA.

Pemurnian bakteri

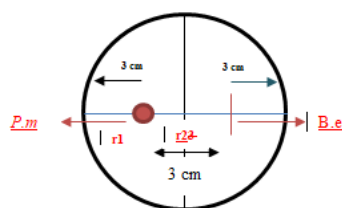
Pemurnian dilakukan pada semua koloni bakteri yang tumbuh dan dianggap berbeda berdasarkan morfologi makroskopis yang meliputi warna dan bentuk koloni. Masing-masing bakteri tersebut diambil dan dipisahkan ke dalam media NA steril baru menggunakan jarum ose. Jika bakteri yang tumbuh masih bercampur dengan bakteri lain maka dipurifikasi kembali. Hal ini berfungsi untuk memperoleh isolat bakteri endofit yang murni.

Uji antagonisme bakteri endofit secara in vitro terhadap Pestalotiopsis sp.

Pengujian antagonisme antara bakteri endofit terhadap cendawan patogen *Pestalotiopsis* sp. dilakukan

menggunakan metode uji ganda (*dual culture*) pada cawan petri berisi media PDA. Isolat *Pestalotiopsis* sp. (diameter 0,5 cm) diletakkan pada bagian kanan cawan petri kemudian pada sisi kiri digoreskan biakan bakteri endofit. Sebagai kontrol, dilakukan inokulasi *Pestalotiopsis* sp. tanpa diinokulasikan bakteri endofit. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari. Kemudian pengamatan dilakukan dengan mengukur pertumbuhan *Pestalotiopsis* sp. ke arah bakteri endofit serta jarak kedua inokulum. Pengamatan interaksi antagonisme dilakukan setiap hari sampai enam hari setelah inokulasi (hsi). Pengukuran menghitung persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit mulai dari 1-6 hari setelah inkubasi, dilakukan menggunakan penggaris lurus. Daya efikasi (penghambatan) ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$P (\%) = \frac{r1 - r2}{r1} \times 100 \%$$



P = Daya efikasi (penghambatan); r1 = Luas pertumbuhan jamur berlawanan dengan mikroorganisme endofit (cm); r2 = Luas pertumbuhan jamur ke arah mikroorganisme endofit (cm) (Seema & Devaki, 2012); P.m = Cendawan *Pestalotiopsis* sp. B.e = Bakteri endofit

Uji gram dan bentuk sel (Metode KOH 3% dan Metode Perwarnaan Gram)

Pengamatan reaksi gram menggunakan dua metode pengujian yaitu uji KOH dan pewarnaan gram. Uji KOH dilakukan dengan meneteskan larutan KOH 3% pada preparat kaca, kemudian satu oose koloni bakteri dicelupkan pada tetesan KOH lalu dihomogenkan. Bila suspensi menjadi seperti lendir dan saat oose diangkat terdapat lendir yang terangkat maka bakteri tersebut termasuk kelompok bakteri negatif, namun apabila tidak terjadi perubahan maka termasuk kelompok bakteri gram positif.

Pengamatan reaksi gram lainnya ialah prewarnaan gram dilakukan dengan memanaskan preparat kaca di atas bunsen, kemudian diberi satu tetes aquades dan diberi satu oose bakteri lalu diletakkan di atas bunsen sebentar agar bakteri menempel dan dikering-anginkan. Setelah kering, diberi tetesan kristal violet blue dan dibiarkan selama 1 menit, lalu bilas dengan aquades. Selanjutnya ditetaskan iodine dengan meng-

gunakan suntikan dan dibiarkan selama 1 menit, lalu bilas kembali dengan aquades. Setelah itu, preparat kaca tersebut dicelupkan pada alkohol selama 30 detik dan dibilas dengan aquades. Kemudian ditetaskan safranin selama 10 detik dan dibilas dengan aquades, lalu dikering-anginkan. Setelah kering, dilakukan pengamatan warna bakteri di bawah mikroskop cahaya. Apabila bakteri berwarna merah muda maka bakteri tersebut termasuk kelompok bakteri gram negatif, dan apabila bakteri berwarna ungu maka bakteri termasuk kelompok bakteri gram positif, selain pengamatan warna, dapat dilakukan pengamatan bentuk sel bakteri pada preparat kaca tersebut.

Uji reaksi hipersensitivitas

Reaksi hipersensitivitas pada tanaman daun tembakau

Uji reaksi hipersensitivitas dilakukan untuk mengetahui bakteri yang diisolasi termasuk kelompok patogen atau non-patogen. Pengujian dilakukan pada daun tanaman tembakau dengan menyuntikkan 1 mL suspensi bakteri pada bagian bawah permukaan daun menggunakan *syringe* (tanpa jarum). Suspensi bakteri dibuat dengan membiakkan satu oose koloni bakteri ke dalam media NB dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm. Pengamatan dilakukan hingga 48 jam setelah penyuntikan dan dilihat apakah terdapat gejala nekrosis atau lesi lokal pada daun tanaman tembakau.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit

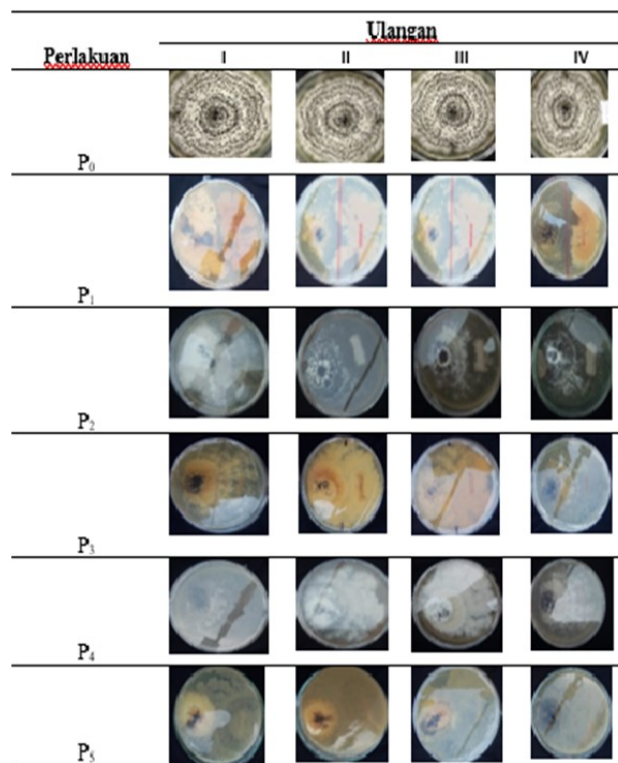
Perlakuan antagonis bakteri endofit Secara *In Vitro* Terhadap *Pestalotiopsis* sp. berpengaruh sangat nyata terhadap persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit pada 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 HSI. Rata-rata persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit pada 1-6 Hari Setelah Inkubasi (HSI) disajikan pada Tabel 1.

Perlakuan P₅ pada umur 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 HSI berbeda nyata dengan perlakuan P₀, P₁, P₂, P₃, P₄. Persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit tertinggi pada perlakuan P₅. Baker & Cook (1974) menyatakan perbedaan antar isolat persentase hambatan disebabkan karena isolat bakteri diuji berbeda, sehingga menghasilkan penghambatan aktivitas metabolit yang berbeda. Strain bakteri yang berbeda akan menghasilkan metabolit yang berbeda sehingga efek yang dihasilkan juga berbeda untuk setiap isolat bakteri yang digunakan sebagai bahan uji.

Tabel 1. Persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis sp.* oleh bakteri endofit pada 1-6 Hari Setelah Inkubasi (HSI)

Perlakuan	Daya hambat bakteri endofit (%) pada hari ke- setelah inokulasi					
	1	2	3	4	5	6
P ₀	2,87a	2,87a	2,87a	2,87a	2,87a	2,87a
P ₁	19,73b	18,19b	16,37b	17,56b	14,53b	15,18b
P ₂	21,74b	21,60c	20,00b	22,07c	22,97cd	21,14c
P ₃	21,42b	19,77bc	25,04c	21,71c	25,71d	21,05c
P ₄	21,42b	19,77bc	17,96b	16,92b	18,93bc	21,50c
P ₅	28,20c	32,40d	36,73d	37,16d	37,16e	35,80d
BNT	4,05	2,75	3,69	3,53	4,96	5,35

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf sama pada kolom yang sama, berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT taraf 0,05



Gambar 1. Pengamatan 7 HSI uji antagonis bakteri endofit secara *in vitro* terhadap *Pestalotiopsis microspora* dengan menggunakan metode *dual culture* pada media PDA. Pada sisi kanan cawan petri *Pestalotiopsis microspora* kemudian pada sisi kiri digoreskan biakan bakteri endofit

Dharmawan *et al.* (2009) menyatakan bahwa terdapat variasi yang besar, kemungkinan zona hambat yang diperoleh disebabkan oleh perbedaan sifat bakteri uji yang digunakan baik secara morfologis dan fisiologis. Kemampuan endofit dalam menunjukkan bahwa bakteri endofit mampu menghambat cendawan *Pestalotiopsis sp.* melalui produksi senyawa antimikrob, meka-

nisme kerja bakteri endofit dalam pengendalian hayati meliputi : mengeluarkan antimikroba, kompetisi ruang dan nutrisi (Marsaoli *et al.*, 2020). Beberapa bakteri didapatkan bertindak sebagai agen hayati yang berasosiasi dengan tanaman inangnya, dalam penelitian ini isolat bakteri endofit terpilih menunjukkan antibiosis terhadap *Pestalotiopsis sp.*, mekanisme antibiosis berkaitan erat dengan kemampuan isolat bakteri endofit menghasilkan enzim seperti kitinase, protease, dan selulase maupun senyawa sekunder lainnya yang sangat berperan dalam degradasi dinding sel cendawan patogen (Hallmann *et al.*, 1997).

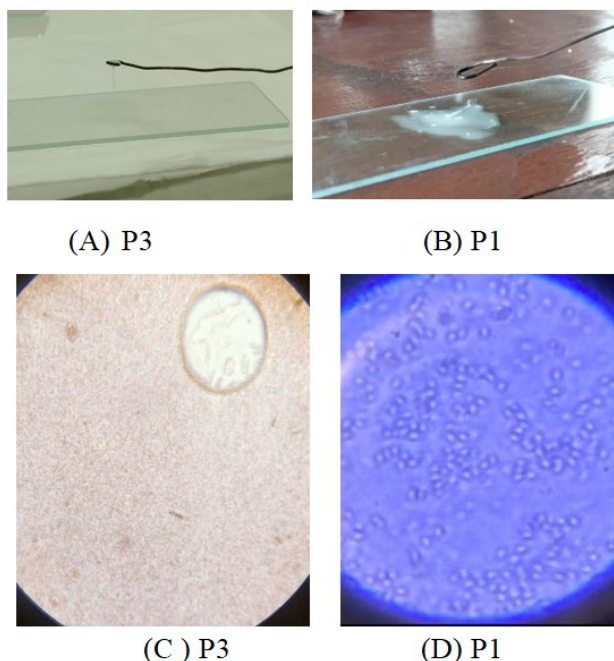
Reaksi gram dengan menggunakan Metode KOH 3% dan Metode perwarnaan gram

Hasil pengujian reaksi gram dengan menggunakan metode KOH 3% dan metode perwarnaan gram yaitu dengan mengetahui jenis gram pada bakteri endofit daun tanaman karet, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji gram dan bentuk sel bakteri endofit daun tanaman karet

Isolat	Bentuk	Warna	Gram
P ₁	Bulat (Kokus)	Ungu	+
P ₂	Bulat (Kokus)	Ungu	+
P ₃	Bulat (Kokus)	Merah Muda	-
P ₄	Bulat (Kokus)	Merah Muda	-
P ₅	Batang (Basil)	Ungu	+

Hasil uji reaksi gram dengan menggunakan metode uji KOH 3% dan metode pewarnaan gram menunjukkan bahwa sampel P₁, P₂, P₅ saat pengujian reaksi gram dengan KOH 3% tidak menunjukkan lendir (positif) dan tidak terjadi perubahan warna yaitu ungu (positif), namun pada sampel P₃ dan P₄ menunjukkan lendir (negatif) dan terjadi perubahan warna merah muda (negatif), pada metode pewarnaan gram hanya P₅ yang berbentuk batang (Basil) dan pada P₁, P₂, P₃, P₄ terlihat berbentuk bulat (Kokus).



Gambar 2. (A) P₃ Reaksi gram negatif (berlendir) pada metode KOH 3%; (B) P₁ Reaksi gram positif (tidak berlendir) pada metode KOH 3% ; (C) Reaksi gram negatif (berwarna merah muda) pada metode pewarnaan gram ; (D) Reaksi gram positif (berwarna ungu) pada metode pewarnaan gram

Terbentuknya lendir tersebut dikarenakan pecahnya dinding sel bakteri akibat berada dalam larutan alkali tinggi ketika diberi larutan KOH 3% (Hardiansyah *et al.*, 2020). Sedangkan bakteri gram positif tidak membentuk lendir dikarenakan dinding sel bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal.

Tes string kalium hidroksida (KOH) digunakan untuk membedakan isolat bakteri (Kurnia *et al.* (2015). Lingkaran pertumbuhan dari koloni bakteri bercampur dalam suspensi 3% KOH berair pada kaca slide. Tes ini dianggap positif jika suspensi seperti gel atau menjadi kental dan keluar ketika loop diangkat, maka isolat adalah gram negatif. Sel-sel gram-positif tidak membentuk gel kental atau tali keluar (Kurnia *et al.*, 2015). Tes string KOH cepat dan dapat membedakan bakteri menjadi Gram positif dan Gram negatif. Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan (90%), sedangkan

bakteri gram negatif memiliki kandungan lipid yang tinggi pada dinding selnya dalam bentuk liposakarida dan lipoprotein (Aminulloh, 2011). Pada bakteri gram negatif, dinding sel hanya setebal 1-3 lapis, di hadapan kalium hidroksida, dinding sel gram negatif mudah terganggu, melepaskan bahan kromosom viskid, yang menyebabkan suspensi bakteri menjadi tebal dan berserat. Dinding sel bakteri gram positif tidak terpengaruh oleh 3% KOH (Madigan *et al.*, 2012; Kurnia *et al.*, 2015).

Hasil uji reaksi gram dengan menggunakan metode pewarnaan gram dilihat dari komposisi dinding sel bakteri, bakteri gram negatif mengandung lipid atau zat serupa seperti lemak dan presentasi lebih tinggi dari pada kandungan bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih banyak dan lebih tipis dari dinding sel positif. Selama prosedur pewarnaan, perlakuan dengan alkohol terhadap bakteri gram negatif menyebabkan reaksi lipid, sehingga meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri gram negatif. Jadi kompleks kristal ungu yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan dapat diabsorpsi. Karena itu, bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut (Pelczar & Chan, 1986).

Reaksi hipersensitivitas pada daun tembakau

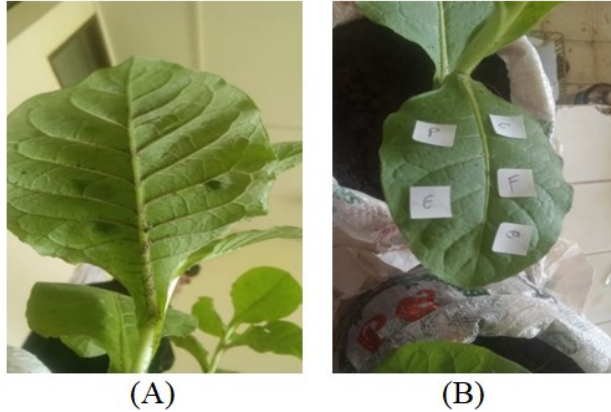
Hasil pengujian reaksi hipersensitivitas pada daun tembakau setelah 48 jam injeksi dari 5 isolat bakteri P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ yang diinokulasikan ke tanaman tembakau tidak menunjukkan ciri-ciri reaksi negatif atau tidak menimbulkan perubahan warna dan gejala pada daun tembakau (Tabel 3). Menurut Kerr & Gibb (1997) apabila bakteri yang diuji berupa bakteri patogen (positif) maka akan terjadi nekrosis pada daun tembakau yang bermakna terjadi hubungan yang kompatibel antara patogen dan tembakau. Namun apabila yang diuji berupa bakteri tidak patogen (negatif) maka tidak menunjukkan ciri-ciri nekrosis dan gejala patogenik pada tembakau.

Tabel 3. Data pengamatan uji reaksi hipersensitivitas tanaman tembakau terhadap bakteri endofit

Perlakuan	Reaksi	
	Timbul bercak nekrotik (+)	Tidak Timbul bercak nekrotik (-)
P ₁	×	✓
P ₂	×	✓
P ₃	×	✓
P ₄	×	✓
P ₅	×	✓

Hipersensitif pada tembakau adalah pengujian yang sangat penting (Suwanto, 1996). Terjadinya nekrosis atau berwarna kuning pada bekas suntikan

mengindikasikan bahwa terjadi respon hipersensitif. Reaksi pertahanan yang cepat dari tanaman ini dalam menghadapi patogen yang tidak kompatibel disertai dengan kematian sel yang cepat pada jaringan di daerah yang disuntik bakteri sehingga keberadaanya tidak mempengaruhi inang.



Gambar 3. Respon hipersensitivitas daun tembakau terhadap bakteri endofit menunjukkan pada isolat P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ menghasilkan reaksi negatif ; (A) Baru diaplikasikan bakteri endofit ; (B) Setelah 48 jam pengaplikasian

KESIMPULAN

Jenis bakteri seperti *Pseudomona flourecens* dan *Bacillus* sp. merupakan salah satu bakteri antagonis yang mampu berpotensi untuk menghambat perkembangan penyakit sehingga menjadi pengendalian hayati atau *biological control* yang sekarang banyak diterapkan. Perlakuan antagonis bakteri endofit secara *in vitro* terhadap *Pestalotiopsis* sp. pada sampel P₀, P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ sangat nyata terhadap persentase daya hambat miselium cendawan *Pestalotiopsis* sp. oleh bakteri endofit pada 1 - 6 Hari Setelah Inkubasi (HSI). Penggunaan metode uji KOH 3% dan metode pewarnaan gram menunjukkan pada sampel P₁, P₂, P₅ tidak menunjukkan lendir dan berwarna ungu (positif), namun pada sampel P₃ dan P₄ menunjukkan lendir dan berwarna merah muda (negatif). Pada reaksi Hipersensitivitas sampel P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ tidak menunjukkan reaksi negatif atau gejala pada daun tembakau.

DAFTAR PUSTAKA

Amaria, W., Efi, T. & Rita, H. (2013). Seleksi dan identifikasi jamur antagonis sebagai agens hayati jamur *Rigidoporus microporus* pada tanaman karet. *Journal of Industrial and Beverage Crops*, 4(1), 20-31.

Aminulloh, F. (2011). Analisis Bahan Organik dan Nitrogen Total pada Sistem Budidaya Ikan pada Skala Laboratorium. *Program Keahlian*

Analisis Kimia Institut Pertanian Bogor, Bogor

Baker, K.F. & Cook, R.J. (1974). *Biological Control of Pathogen*. WH Freeman and Company, San Fransisco.

Dharmawan, I.W.E., Kawuri, R., Parwanayoni, M.S. (2009). Isolasi *Streptomyces* spp. pada kawasan hutan Provinsi Bali serta uji daya hambatnya terhadap lima strain diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi*, 13(1), 1-6. <https://doaj.org/article/393ae49a65cc4ffc91a23c471251339f>.

Direktorat, J. P. (2022). *Statistik Perkebunan Unggulan Nasional. 2020-2022*. Kementerian Pertanian, Jakarta.

Febbiyanti, T. R. (2020). Pengaruh faktor abiotik terhadap perkembangan penyakit karet dan metode peramalan epidemi. *Warta Perkaretan*, 39(2), 95-114. <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/2423316>.

Febbiyanti, T.R. & Fairuzah, Z. (2019). Identifikasi penyebab kejadian luar biasa penyakit gugur daun karet di Indonesia. *Jurnal Penelitian Karet*, 37(2), 193-206. DOI:[10.22302/ppk.jpk.v37i2.616](https://doi.org/10.22302/ppk.jpk.v37i2.616).

Hallman, J. & Berg, G. (2006). Spectrum and Population Dynamics Of Bacterial Root Endophytes. *Microbial Root Endophytes*, 15-31. DOI:[10.1007/3-540-33526-9_2](https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_2).

Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffe, W.F., Kloepper, J.W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crop. *Can J Microbiol.*, 43, 895-914. DOI:[10.1139/m97-131](https://doi.org/10.1139/m97-131).

Hardiansyah, M. Y., Musa, Y. & Jaya, A. M. (2020). Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bambu duri dengan gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*, 4(1), 41-46. DOI: <https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i1.40875>.

Harsono, E. S. (2021). Uji Hipersensitif Bakteri Endofit Dari Akar Kaktus (*Cereus repandus* Mill.) Terhadap Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) . Sebagai Materi Pengayaan Praktikum Mikrobiologi Terapan (Doctoral dissertation), Universitas Jambi, Jambi.

Kementrian, P. (2015). Outlook Karet-Komoditas Pertanian Subsektor Perkebunan. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Sekretariat Jendral.

Kerr, A. & Gibb, K. (1997). Bacteria and phytoplasma as plant parasites. In : Plant Pathogens and Plant Disease, J.F. Brown and H.J. Ogle (eds), *Australian Plant Pathology Society*, Armidale, 86 – 103 p. <https://researchers.cdu.edu.au/en/publications/bacteria-and-phytoplasmas-as-plant-parasites>.

- Kusdiana, A, P, J. (2020). Diagnosis penyakit gugur daun karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Jurnal Penelitian Karet*, 165-178.
- Kurnia K., Sadi N.H., Jumianto, S. (2015). Isolation and characterization of Pb resistant bacteria from Cilalay Lake, Indonesia. *Aceh Int. J. Sci. Technol.*, 4(3), 83-87. DOI: <https://doi.org/10.13170/aijst.4.3.3016>.
- Madigan M.T., Martinko, J.M., Stahl D.A. & Clark D.P. (2012). Brock: *Biology of Microorganisms*. Pearson, San Fransisco
- Marsaoli, F., Matinahoru, J. M. & Leiwakabessy, C. (2020). Isolasi, seleksi, dan uji antagonis bakteri endofit diisolasi dari salawaku (*Falcataria mollucana*) dalam menekan pertumbuhan cendawan patogen *Cercospora* spp. *Agrologia*, 8(2). DOI: [10.30598/A.V8I2.1009](https://doi.org/10.30598/A.V8I2.1009).
- Oktavia, F. & Kusdiana, A. P. J. (2021). Evaluasi resistensi dan analisis kuantitatif *trait loci* yang berhubungan dengan resistensi terhadap penyakit utama pada tanaman karet. *Jurnal Penelitian Karet*, 37-50. DOI: [10.22302/ppk.jpk.v39i1.757](https://doi.org/10.22302/ppk.jpk.v39i1.757).
- Pelczar & Chan. (1986). Dasar-dasar Mikrobiologi jilid 2. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Seema, M. & Devaki, N. S. R. (2012). In vitro evaluation of biological control agent againsts *Rhizoctonia solani*. *Journal of Agricultural Technology* (8), 233-240. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/IJAT/10841058.pdf>.
- Suwanto, A., Friska, H. & Sudirman, I. (1996). Karakterisasi *Pseudomonas fluorescens* B29 dan B39: Profil DNA genom, uji hipersensitivitas, dan asai senyawa bioaktif. *Hayati*. 3(1), 15-20.
- Usodri, K. S., Widiyanti, D. P. & Supriyatdi, D. (2021). Identifikasi beberapa unsur iklim mikro pada perbedaan umur tanaman karet (*Hevea brasiliensis*). *Plantropica: Journal Of Agricultural Science*, 6(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jpt.2021.006.2.3>.
- Wahyuni, S. (2020). Isolasi dan Uji Antagonis Bakteri Endofit dari Patogen Akar Tanaman Karet. In *Prosedur Hasil Seminar Nasional*, 3 (1), 676-680. <https://www.e-prosiding.umnaw.ac.id/index.php/penelitian/article/view/617>.