



ISOLASI DAN UJI ANTIFUNGAL JAMUR ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN KARET (*Hevea brasiliensis*)

ISOLATION AND ANTIFUNGAL TEST OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM ROOTS OF RUBBER PLANTS (*Hevea brasiliensis*)

Widya Lestari¹ Aini Qomariah Manurung²

Dosen Program Studi Agroteknologi, Sekolah Tinggi
Ilmu Pertanian Labuhan Batu Aek Tapa Rantauprapat

Email: widya.chubby@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian mengenai jamur endofit dalam mengendalikan hama dan penyakit tanaman serta meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan metabolit sekunder telah banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan jamur endofit dari akar tanaman karet dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen. Isolasi jamur endofit dilakukan dengan sterilisasi permukaan akar dan mengkulturkannya pada media nutrisi agar. Lima isolat bakteri endofit diperoleh dari akar tanaman karet masing-masing: WL01, WL02, WL03, WL04 dan WL05. Isolat jamur diuji antagonis terhadap fungi patogen yaitu *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus microporus*. Dua isolat jamur, WL01 dan WL02 memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen *Rigidoporus microporus* dan *Ganoderma boninense*. Hasil pengamatan menyatakan bahwa pertumbuhan fungi patogen terhambat dan hifa bengkok.

Kata Kunci: Jamur endofit, *Ganoderma boninense*, *Rigidoporus microporus*, Tanaman karet (*Hevea brasiliensis*)

ABSTRACT

Researches on endophytic fungi in controlling plant pests and diseases and increasing plant growth by producing secondary metabolites has been widely reported. This study aims to determine the ability of endophytic bacteria from the roots of rubber plants in inhibiting the growth of pathogenic fungi. Endophytic fungi isolation was performed by root surface sterilization and cultured on nutrient agar medium. Five endophytic fungi isolates were obtained from the root of each rubber plant: WL01, WL02, WL03, WL04 and WL05. fungi isolates were tested antagonistically against pathogenic fungi, namely *Ganoderma boninense* and *Rigidoporus microporus*. Two fungi isolates, WL01 and WL02 had the ability to inhibit the growth of pathogenic fungi *Rigidoporus microporus* and *Ganoderma boninense*. The observations showed that the growth of pathogenic fungi was inhibited and hyphae were bent.

Keywords: Endophytic Fungi, *Ganoderma boninense*, *Rigidoporus microporus*, Rubber plant

PENDAHULUAN

Salah satu masalah utama dari budidaya tanaman pertanian di Indonesia ialah adanya serangan fungi patogen terhadap berbagai tanaman antara lain tanaman cabai, kacang kacangan, coklat, karet dan kelapa sawit. Serangan fungi patogen tersebut mengakibatkan kerugian yang sangat besar bagi para petani. Untuk itu diperlukannya suatu penanggulangan yang efektif. Selama ini telah banyak dilakukan pengendalian fungsi patogen pada tanaman secara



kimiawi, akan tetapi menimbulkan efek negatif terhadap lingkungan. Untuk itu perlu diupayakan suatu alternatif pengendalian secara biologi dengan menggunakan mikroba antagonis atau menggunakan metabolit antimikroba yang dihasilkan.

Menurut Cook dan Baker (1999), usaha penanggulangan penyakit tanaman secara biologis mempunyai peluang yang cukup besar karena organismenya telah tersedia di alam dan aktivitasnya dapat distimulasi dengan memodifikasi lingkungan maupun tanaman inang. Keuntungan dalam menggunakan mikroorganisme antagonis sebagai pengendalian biologis antara lain: aman terhadap lingkungan, tidak ada efek residu, aplikasinya bersifat berkelanjutan karena yang digunakan organisme hidup yang dapat memperbanyak diri sehingga dapat mengurangi aplikasi yang berulang-ulang.

Penelitian bakteri endofit telah dilakukan lebih dari 20 tahun yang lalu. Hampir setiap bagian tanaman ditemukan adanya jamur endofit, baik pada daun, akar maupun batang. Dalam beberapa tahun terakhir, pengaplikasian mikroba endofit sebagai pengendali biologis telah menjadi alternatif untuk menggantikan peran pengendali kimia seperti pestisida. Penggunaan agen biologis ini secara alami mampu mengendalikan populasi hama, meningkatkan produksi tanaman dan merupakan pilihan yang baik bagi resistensi penyakit dan juga ramah lingkungan (Procopio *et al.*, 2009).

Tanaman tingkat tinggi mengandung beberapa mikroba endofit yang menghasilkan metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan terhadap mikroba patogen (Radji, 2005). Tanaman karet memiliki bakteri endofit, karet merupakan pohon yang tumbuh tinggi dan memiliki batang yang cukup besar. Tinggi pohon dewasa dapat mencapai 15-25 m dengan diameter . Batang karet tumbuh lurus ke atas dan cenderung miring ke arah utara. Bagian batang inilah yang mengandung getah atau lateks. Lingga (2013) telah mengisolasi jamur endofit dari tumbuhan mentigi. Penelitian ini diperlukan untuk mengetahui manfaat bakteri endofit yang ada pada akar tanaman karet sebagai agen pengendalian hayati.



METODE PENELITIAN

Isolasi Jamur Endofit Dari Akar Tanaman Karet

Isolasi jamur endofit dari akar dilakukan dengan metode sterilisasi permukaan menurut metode Radu & Kqueen (2002). Sampel yang diambil dari lokasi dimasukkan ke dalam plastik diletakkan di dalam termos yang berisi es batu, kemudian sampel dibawa ke laboratorium mikrobiologi untuk isolasi jamur endofit. Tahap awal yang dilakukan adalah mencuci akar dengan air mengalir selama 20 menit. Sterilisasi bagian permukaan akar dilakukan dengan cara merendamnya di dalam larutan secara berturut-turut: etanol 75% selama 2 menit, larutan sodium hipoklorit 5,3% selama 5 menit dan etanol 75% selama 30 detik. Selanjutnya akar dibilas dengan akuades steril, setelah kering bagian ujung kiri dan kanan akar dipotong 1 cm, kemudian masing-masing akar dipotong membujur dan diletakkan di permukaan media PDA yang telah dicampur dengan antibiotik kloramfenicol dengan posisi bekas potongan ke arah media, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Koloni yang muncul disubkultur ke media PDA yang baru untuk dimurnikan.

Karakterisasi Jamur Endofit Akar Tanaman Karet

Isolat Jamur yang diperoleh dari akar dikarakterisasi secara morfologi meliputi warna hifa dan spora jamur.

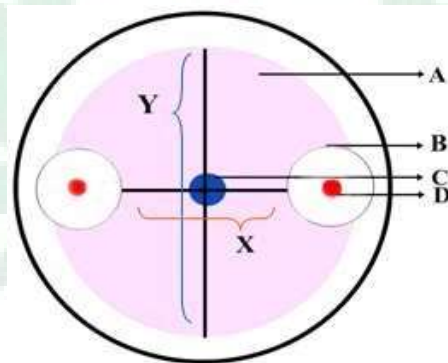
Uji Antifungal Jamur Endofit Akar Tanaman Karet

Uji antagonis dilakukan untuk melihat kemampuan jamur endofit dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus microporus*. Biakan kultur jamur patogen yang sudah diremajakan diambil dengan *cork borer*, lalu diinokulasikan pada bagian tengah media PDA dengan jarak 3,5 cm dari cakram tempat inokulum isolat bakteri lalu biakan tersebut diinkubasi selama 72 jam pada suhu ruang. Pengujian daya hambat isolat jamur endofit terhadap jamur patogen, menggunakan metode ujiantang antara jamur endofit dan jamur patogen.

Jamur patogen yang berdiameter 0,6 cm diambil dengan menggunakan



cork borer. Diletakkan di atas media PDA yang akan digunakan untuk uji antagonis. Selanjutnya uji antagonis dilakukan dengan cara meletakkan jamur endofit tersebut pada 2 titik di tepi media PDA kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Isolat jamur endofit yang berpotensi antagonis ditunjukkan dengan adanya zona hambatan terhadap pertumbuhan miselium beberapa fungi patogen. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Pengamatan dilakukan terhadap pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar jamur patogen yang menunjukkan adanya aktivitas antifungi (Lechevalier, 2000). Pengujian dilakukan terhadap jamur *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus microporus*.



Gambar 1. Metode pengukuran zona hambat jamur endofit terhadap koloni jamur patogen; A. Koloni jamur Patogen, B. Zona hambat jamur endofit terhadap koloni fungi patogen, C. Titik tengah jamur endofit diletakkan, D. Koloni jamur endofit, X. Diameter koloni jamur patogen yang terhambat pertumbuhannya, Y. Diameter koloni jamur patogen normal (Suryanto, 2006).

Pengukuran diameter zona hambat bakteri dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambat isolat jamur endofit dihitung dengan rumus uji antagonis $(Y-X)/2 = \text{hasil}$ (Suryanto *et al.*, 2006). Masing-masing ekstrak metanol dan etil asetat dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi masing-masing 40, 60, 80 dan 100%. Pengujian daya hambat isolat terhadap jamur patogen menggunakan metode difusi cakram kertas sesuai dengan metode Kirby-Bauer (Drew *et al.*, 1971; Mishra *et al.*, 2006; Kulsunti Wong *et al.*, 2008). Uji antagonis dilakukan dengan cara meletakkan cakram yang berisi dengan metabolit sekunder jamur endofit tersebut, di tepi media PDA kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Aktivitas antifungal ditunjukkan dengan adanya zona hambatan



pertumbuhan organisme uji di sekitar koloni penghasil antibiotik (Lechevalier, 2000).

Pengamatan Miselium Jamur Patogen Setelah Uji Antagonis

Pengamatan dilakukan dengan 2 cara yaitu secara visual dan mikroskopis. Pengamatan secara visual dilakukan dengan cara melihat zona pertumbuhan. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengamati ujung miselium pada zona hambat beberapa jamur patogen. Ujung miselium fungi patogen yang tumbuh pada permukaan media PDA dipotong berbentuk *block square*, kemudian diletakkan pada objek gelas. Selanjutnya diamati adanya abnormalitas pertumbuhan miselium fungi patogen berupa pembengkokan ujung miselium dan miselium pecah, miselium berbelah, miselium bercabang, miselium lisis dan miselium tumbuh kerdil (Lorito *et al.*, 1992).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Karet

Dari hasil isolasi yang telah dilakukan dari bagian akar tanaman karet (*Hevea brasiliensis*), diperoleh 5 (lima) isolat jamur endofit yang diberi kode: WL01, WL02, WL03, WL04 dan WL05 yang merupakan total jamur endofit yang didapat dari tanaman karet perkebunan swasta dan perkebunan rakyat. Karakterisasi yang dilakukan pada isolat bakteri meliputi bentuk morfologi sel, bentuk koloni dan penataannya serta beberapa uji biokimia sederhana. Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia sederhana terhadap isolat dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Isolat Jamur Endofit Akar Tanaman Karet.

NO	Kode Isolat	Diameter (mm)	Tekstur Miselium/Koloni	Penampakan Koloni Atas	Penampakan Koloni Bawah (media)
1	WL01	14	Tepung	Putih Kusam	Putih
2	WL02	22	Tepung	Hitam	Putih
3	WL03	15	Tepung	Putih Kehitaman	Hitam
4	WL04	10	Tepung	Abu Abu	Putih
5	WL05	-	Memgkilat	Krem	Krem



Kemampuan Antagonis Jamur Endofit terhadap Fungi Patogen

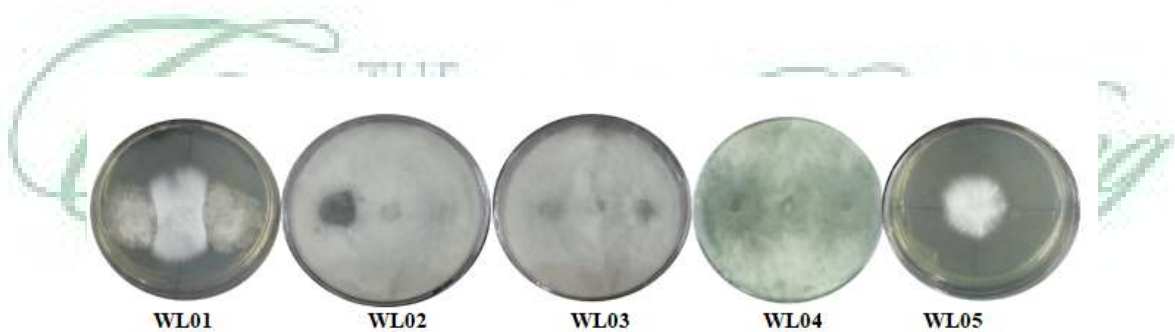
Isolat jamur endofit yang berpotensi menghambat jamur patogen pada tahapan isolasi, selanjutnya digunakan pada asai antagonis, untuk melihat kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur. Jamur patogen yang digunakan *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus microporus*. Dasar pemilihan sampel yaitu mewakili beberapa jamur patogen penyebab penyakit pada tanaman.

Uji Antifungal Jamur Endofit Akar Tanaman Karet

Berdasarkan hasil uji antagonis kelima isolat menunjukkan potensi 2 (dua) isolat terhadap *Ganoderma boninense* dan *Rigidoporus microsporus* yang mana kedua isolat tersebut akan digunakan untuk produksi senyawa antifungal melalui prosedur ekstraksi. Keseluruhan hasil ujiantang dapat dilihat pada Tabel di bawah ini

Tabel 2. Zona Hambat Uji Antagonis Isolat Jamur Endofit dengan Jamur Patogen

Kode Isolat	Rerata Zona Hambat (mm)					
	<i>Ganoderma boninense</i>			<i>Rigidoporus microsporus</i>		
	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari-7	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7
WL01	16,02	17,04	18,08	7,06	8,01	9,29
WL02	14,01	15,06	16,16	9,35	10,03	11,58
WL03	13,07	14,00	14,49	6,98	7,83	8,97
WL04	15,07	16,06	17,07	1,20	1,98	2,14
WL05	0,36	0,44	0,50	0,00	0,00	0,00



Gambar 2. Uji Antagonis Isolat Jamur Endofit Dengan *Ganoderma boninense*



Gambar 3. Uji Antagonis Isolat Jamur Endofit terhadap *Rigidoporus microsporus*

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa zona hambat dari hasil uji antagonis antara jamur endofit dengan jamur patogen berbeda beda. Hal ini mungkin disebabkan karena jamur endofit menghasilkan senyawa metabolit sekunder berbeda, selain itu konsentrasi zat bioaktif dan jenis zat yang dihasilkan oleh bakteri berbeda beda pula dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen.

Mikroba khususnya jamur memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba lain disebabkan karena jamur dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa antimikroba, antibiotik (Wright *et al.*, 2001), enzim pelisis (Zhang & Yuen 2000; Kim *et al.*, 2008), antivirus, antiparasit dan protein penghambat lain (Berdy 2005; Borodina *et al.*, 2005; Lestari 2001; Price *et al.*, 1999). Pembentukan senyawa metabolit sekunder ini dikode oleh sejumlah gen yang terdapat pada DNA kromosom atau DNA plasmid (Demain, 1998).

Isolat jamur yang diujikan menunjukkan kemampuan menghambat jamur patogen *Rigidoporus microsporus* dan *Ganoderma boninense*. Hal ini mungkin disebabkan karena pengaruh media yang digunakan dan perbedaan dinding sel penyusun dari jamur yang digunakan dalam uji antagonis. Ketika nutrisi mulai berkurang jamur akan memasuki fase stasioner dan pada fase ini diduga terjadi pembentukan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antifungi.

Jamur endofit yang memiliki kemampuan yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan jamur *Rigidoporus microsporus* dan *Ganoderma boninense* adalah bakteri WL01 dan WL02. Menurut Bakri (2009), Isolat Jamur tersebut memiliki kemampuan antagonistik yang ditandai dengan adanya



penghambatan miselium jamur patogen tanaman dan pada akhirnya pertumbuhan hifa menipis, mengering dan mengalami abnormalitas.

Tabel 3. Deskripsi Gejala Antagonis Yang Terjadi Antara Isolat Fungi

<u>Kode Isolat</u>	<u>Fungi patogen yang dihambat</u>	<u>Gejala Antagonis</u>
WL01	<i>R. microsporus</i>	<u>Pertumbuhan fungi patogen terhambat. hifa bengkok</u>
WL02	<i>G. boninense</i> <i>R. microsporus</i>	<u>Pertumbuhan fungi patogen terhambat</u>
WL03	<i>R. microsporus</i>	<u>Pertumbuhan fungi patogen terhambat</u>
WL04	<i>R. microsporus</i>	<u>Pertumbuhan fungi patogen terhambat</u>
WL05	<i>R. microsporus</i>	<u>Pertumbuhan fungi patogen tidak terhambat</u>

Mekanisme penghambatan agen hayati dalam menekan pertumbuhan patogen adalah melalui mekanisme mikoparasitisme. Proses mikoparasitik terdiri atas empat tahap yaitu pertumbuhan kemotropis, pengenalan (rekognisi), pelekatan dan pelilitan, dan lisis (Soesanto *et al.*, 2008).

Uji Antifungi Ekstrak Jamur Endofit Dengan Pelarut Etil Asetat Dan Metanol

Ekstraksi metabolit sekunder dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etil asetat dan metanol. Ekstrak metanol berupa pasta kemudian dibuat variasi konsentrasinya dalam DMSO hingga mendapatkan konsentrasi 0 (DMSO), 20, 40, 60, 80 dan 100%. Sementara ekstrak etil asetat tidak didapatkan karena maserat yang sangat sedikit dihasilkan. Persentase penghambatan (%) didapat dengan rumus:

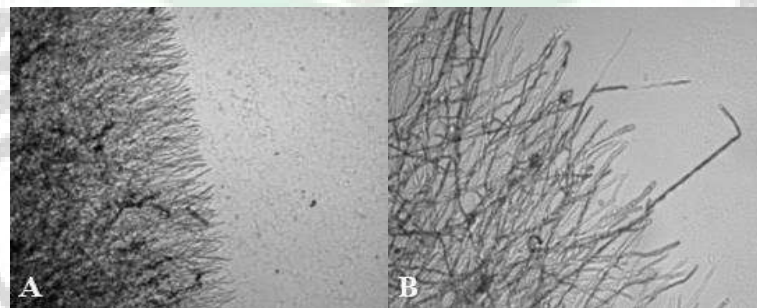
$$PP (\%) = \frac{\text{Tepi miselium (kontrol)} - \text{Tepi miselium}}{\text{Tepi miselium (kontrol)}} \times 100\%$$

Hasil uji daya hambat ekstrak terhadap *G. boninense* dan *R. microsporus* dapat dilihat pada tabel di bawah ini:



Tabel 3 Persentase penghambatan jamur patogen *G. boninense* dan *R. microsporus* menggunakan ekstrak metanol isolat jamur endofit WL01 dan WL02

No.	Isolat	Konsentrasi (%)	Persentase Penghambatan (%)	
			<i>G. boninense</i>	<i>R. microsporus</i>
1.	WL01	100	1,68	0,22
		80	2,19	0,88
		60	2,15	0,11
		40	1,48	3,03
		20	2,15	0,59
		0 (Kontrol)	0,00	0,00
2.	WL02	100	2,15	0,51
		80	6,06	0,07
		60	13,89	0,85
		40	2,15	0,48
		20	21,72	0,70
		0 (Kontrol)	0,00	0,00



KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa diperoleh 5 isolat jamur endofit dari akar tanaman karet (*Hevea brasiliensis*). Isolat WL01 dan WL02 memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Rigidoporus microporus* dan *Ganoderma boninense* dengan rata rata zona hambat paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakri, M. 2009. Isolasi dan uji kemampuan antifungal fungi endofit dari tanaman Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) terhadap fungi perusak makanan. Skripsi. USU. Medan.
- Cook, R.J. and Baker, K.F. 1983. The Nature of Practice of Biological Control of Plant Pathogens. The APS Press, St. Paul, Minnesota. 53 p.



- Demain AL. 1998. Induction of Microbial Secondary Metabolism. Review Article. *Int Microbiol* 1: 259-264.
- Kim YC, Jung H, KIM KY, Park SK. 2008. An effective biocontrol bioformulation against *Phytophthora* blight of pepper using growth mixtures of combined chitinolytic bacteria under different field conditions. *Eur J Plant Pathol* 120:373–382.
- Lingga, R. 2013. Keragaman Jamur Endofit Pada Mentigi (*Vaccinium varingaefolium*) Di Kawah Gunung Sinabung Sumatera Utara. Tesis Magister Biologi Departemen Biologi FMIPA USU. Medan.
- Lorito, M., Harman, G. E., Hayes, C. K., Broadway, R. M., Tronsmo, A., Woo, S. L. and de Pietro, A. 1992. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum* antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopath.* 83: 302- 307.
- Procopio, R.E.L., Araujo, W., Maccheroni Jr, and Azevedo, J.L. 2009. Characterization of an endophytic bacterial community associated with Eucalyptus spp. *Genet Mol Res* 8 (4): 1408-1422.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 2 (3): 118-121.
- Radu, S. and Kqueen, C.Y. 2002. Preliminary screening of endophytic fungi from medicinal plants in malaysia for antimicrobial and antitumor activity. *Malaysian Journal of Medical Science,* 9 (2): 23-33.
- Soesanto, L, Rokhlani, dan Nur Prihatiningsih. 2008. Beberapa mikroorganisme antagonis terhadap penyakit layu *fusarium gladiol.* *Agrivita.* 30(1):76-83.
- Suryanto, D., Siti K.N. and Erman M. 2012. Antimicrobial Activity of Some Bacterial Isolates natural Recreational Park of North Sumatera, Indonesia. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences.*1(11). 1-7.
- Suryanto, D. and Munir, E. 2006. Potensi isolat bakteri kitinolitik lokal untuk pengendalian hayati jamur. Prosiding seminar hasil-hasil penelitian USU 2006. Medan : 15-25.
- Zhang Z, Yuen GY. 2000. Effects of culture fluids and preinduction of chitinase production on biocontrol of bipolaris leaf spot by *Stenotrophomonas maltophilia* C3. *Biol Contr* 18: 277–286.