

AKTIVITAS ANTAGONISTIK BAKTERI SELULOLITIK ASAL RHIZOSFER KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) TERHADAP *Ganoderma boninense* Pat.

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF CELLULOLYTIC BACTERIA FROM OIL PALM RHIZOSPHERE (*Elaeis guineensis* Jacq.) AGAINST *Ganoderma boninense* Pat.

Miratun Nisa, Fitratul Aini, Hasna Ul Maritsa*

Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi, Jl.Jambi-Ma. Bulian Km 15 Mendalo Darat Jambi 36361

*Corresponding author: hasnaul.maritsa123@gmail.com

Naskah Diterima: 02 Oktober 2019; Direvisi: 29 Maret 2020; Disetujui: 08 April 2020

Abstrak

Penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) disebabkan oleh *Ganoderma boninense* Pat. Bakteri selulolitik dari rizosfer kelapa sawit dapat dijadikan agen hayati dalam menghambat pertumbuhan *G. boninense*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri selulolitik dari rizosfer kelapa sawit dan menentukan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan *G. boninense*. Tahap penelitian meliputi pengambilan sampel dari rizosfer kelapa sawit, isolasi, pemurnian, uji aktivitas selulolitik, dan uji daya hambat terhadap *G. boninense* serta identifikasi isolat bakteri yang potensial. Indeks selulolitik bakteri ditentukan dengan pewarnaan *congo red* 0,1%. Aktivitas penghambatan dilakukan dengan menentukan persentase daya hambat bakteri dalam menghambat *G. boninense*. Uji efektivitas dengan membandingkan hasil uji T pada taraf 5%. Hasil menunjukkan bahwa dari rizosfer kelapa sawit diperoleh 19 isolat bakteri selulolitik dengan indeks selulolitik tertinggi 4,38 pada isolat LBS1. Berdasarkan uji T dari efektivitas bakteri selulolitik terhadap *G. boninense* menunjukkan 6 isolat bakteri (LBS3, LBS4, DBS1, DBS7, SBS2 dan SBS6) memiliki nilai efektif atau berpotensi sebagai antagonis dengan persentase daya hambat tertinggi sebesar 40,17% isolat DBS1 yang merupakan genus *Flavobacterium*. Bakteri selulolitik yang diperoleh diharapkan dapat dijadikan agen biokontrol terhadap *G. boninense* di masa depan

Kata kunci: Antagonis; *Flavobacterium*; Jamur patogen; Selulase

Abstract

Basal stem root disease in oil palm tree (Elaeis guineensis Jacq.) is caused by Ganoderma boninense Pat. infection. Cellulolytic bacteria from rhizosphere can be used as agents to inhibit growth of G. boninense as pathogenic fungi. Purpose of the research is to obtain cellulolytic bacteria from oil palm tree rhizosphere and to determine their effectiveness in inhibiting G. boninense growth. The research stages included sampling from the oil palm tree rhizosphere, isolation, purification, cellulolytic activity test and dual culture test against G. boninense and identification of effective isolates. The cellulolytic index of bacteria was determined by congo red 0.1%. The antagonistic test was conducted to determine presentation of isolate bacteria in inhibit G. boninense and effectiveness test by comparing the result of T-test at the level 5%. The results showed that there were 19 isolates of cellulolytic bacteria from oil palm tree rhizosphere with highest cellulolytic index 4.38 (isolates LBS1). Based on the T-test of the effectiveness cellulolytic bacteria against G. boninense, it showed 6 isolates (LBS3, LBS4, DBS1, DBS7, SBS2, and SBS6) had effective values or potential antagonists with highest percentage inhibition 40.17% isolate DBS1 genus of Flavobacterium. In the future, cellulolytic bacteria obtained can be used as biocontrol agents for G. boninense.

Keywords: Antagonist; Cellulase; *Flavobacterium*; Fungal Pathogen

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v13i1.11704>

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan salah satu tanaman yang menghasilkan minyak nabati. Produktivitas tanaman kelapa sawit dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang disebabkan oleh *Ganoderma boninense* Pat. Jamur patogen *G. boninense* merupakan salah satu spesies *Basidiomycota* yang dapat hidup pada sisa tanaman mati (saprofit fakultatif) dengan memanfaatkan sisa-sisa tanaman berupa selulosa. Sisa tanaman sawit dapat menjadi sumber nutrisi untuk jamur patogen dan menjadi sumber inokulum penyakit (Ali, Yaacob, Seman, & Wahid, 2004).

Upaya pengendalian hayati terhadap *G. boninense* dengan memanfaatkan agen antagonis berupa bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik ialah bakteri yang berperan dalam mendegradasi selulosa dengan melibatkan beberapa aktivitas enzim, yaitu endo- β 1.4-glukanase, ekso- β 1.4-glukanase, dan β -glukosidase sehingga dapat mempersingkat proses dekomposisi dari bahan organik berupa selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa (Rahayu, Yahyani, & Puspita, 2014). Pemanfaatan mikroba selulolitik mampu menjadi kompetitor langsung dari patogen, salah satunya *G. boninense* dalam hal kompetisi akan nutrisi berupa selulosa, sehingga dapat mencegah *G. boninense* tidak dapat memanfaatkan selulosa pada akar dan pangkal batang kelapa sawit (Wafa, 2017).

Penelitian yang berkaitan dengan pemanfaatan bakteri selulolitik, diantaranya *Stenotrophomonas rhizophila* yang merupakan mikroba endofit mampu menghambat pertumbuhan *G. boninense* sebesar 63% dan menghasilkan enzim selulase dengan indeks selulase sebesar 0,46 (Rupaedah *et al.*, 2018). Selain itu, *Bacillus cereus* dan *B. thuringiensis* hasil isolasi tanah perkebunan kelapa sawit dan karet di sekitar kawasan hutan Nasional Bukit Duabelas Jambi mampu menghambat *Curvularia* sp. sebesar 57,5% dan *Colletotrichum* sp. sebesar 60% yang menginfeksi tanaman kelapa sawit, menyebabkan penyakit antraknosa dan hawar daun (Purnamasari, 2013). Penelitian bakteri selulolitik terhadap *G. boninense* yang berasal

dari rizosfer kelapa sawit belum banyak dilakukan, terutama penelitian dari perkebunan sawit di Provinsi Jambi. Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan bakteri selulolitik dari rizosfer kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq.) dan mengetahui efektivitasnya terhadap pertumbuhan *G. boninense*.

MATERIAL DAN METODE

Isolat *Ganoderma boninense* diperoleh dari Indonesian Oil Palm Research Institute (IOPRI), Medan.

Pengambilan Sampel Rizosfer Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Pengambilan sampel dilakukan bulan Juni dari sekitar perakaran kelapa sawit yang sehat di PT. Niaga Guna Kencana Sawit berumur 8 dan 11 tahun dan PT. Perkebunan Nusantara VI Jambi berumur 14 tahun pada kedalaman 0–15 cm dari permukaan tanah (*top soil*) (Wafa, 2017). Namun sebelumnya, diukur suhu tanah dengan *soil thermometer*, pengukuran pH tanah, dan kelembapan tanah dengan *soil tester* yang dianalisis langsung di lapangan.

Isolasi Bakteri dan Skrining Bakteri Selulolitik dari Rizosfer

Sebanyak 1 g tanah dan akar tanaman yang melekat di permukaan akar dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 10 mL akuades steril (pengenceran 10^{-1}) dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-5} , dari pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 mL dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi akuades steril sebanyak 9 mL. Diambil 0,1 mL dari masing-masing tabung 10^{-4} dan 10^{-5} untuk dikultur pada media *Carboxy Methyl Cellulose Agar* (CMCA) dengan 3 kali pengulangan, kemudian sampel disebar dengan menggunakan batang L dan diinkubasi pada suhu 30 °C (Modifikasi dari Seprianto, 2017).

Isolat diinokulasi menggunakan metode titik ke dalam media CMCA dan diinkubasi pada suhu 30 °C. Aktivitas selulolitik bakteri diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah sebanyak 2 mL larutan *congo red* 0,1% dituangkan ke dalam media yang berisi isolat, kemudian didiamkan

selama 15 menit. Larutan dibuang, kemudian dibilas dengan larutan NaCl 0,1 M, setelah itu diamati keberadaan zona bening. Indeks aktivitas selulase ditentukan pada rasio diameter zona bening dengan diameter koloni (Nurfitriani & Handayanto, 2017). Indeks selulolitik = diameter zona bening (mm) - diameter koloni (mm) / diameter koloni (mm)

Uji Daya Hambat Bakteri Selulolitik terhadap *Ganoderma boninense* secara *In Vitro*.

Inokulum *G. boninense* diinokulasikan pada media PDA + CMC (*Potato Dextrose Agar* 39 g dan *Carboxy Methyl Cellulose* 10 g dalam 1.000 mL) hingga berdiameter \pm 20 mm dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri berdiameter 9 cm. Sebanyak 1 ose isolat bakteri selulolitik digoreskan sepanjang 4 cm secara berlawanan dengan jarak 3 cm dari jamur patogen dan diinkubasi pada suhu 30 °C. Untuk kontrol, media hanya berisi inokulum *G. boninense* pada salah satu sisinya (Fokkema, 1973). Setiap jenis bakteri selulolitik diuji dengan pengulangan 3 kali. Pengamatan dilakukan selama 7 hari setelah inokulasi dengan mengukur diameter koloni *G. boninense* pada kontrol (R1) dan diameter koloni *G. boninense* pada perlakuan (R2). DH (daya hambat (%)) = R1 (diameter pertumbuhan patogen pada kontrol) - R2 (diameter patogen pada cawan uji) / R1 (diameter pertumbuhan patogen pada kontrol) x 100%.

Persentase penghambatan didasari oleh *growth inhibition category* (GIC), dengan skala 0–4 (Živković *et al.*, 2010). Kategori tersebut yaitu: Skala 0 = tidak ada penghambatan pertumbuhan patogen; Skala 1 = 1–25% penghambatan pertumbuhan patogen; Skala 2 = 26–50% penghambatan pertumbuhan patogen; Skala 3 = 51–75% penghambatan pertumbuhan pathogen; dan Skala 4 = 76–100% penghambatan pertumbuhan patogen.

Penentuan kategori kemampuan antagonis dikelompokkan menjadi empat kategori berdasarkan persentase zona penghambatan (Prastyo, Agung, & Endang, 2014) yaitu: Kuat (>40%) dengan simbol +++; Sedang (40% \times 30%) dengan simbol ++; Lemah (<30%) dengan simbol +; dan Tidak menghambat (0%) dengan simbol -.

Identifikasi Bakteri Selulolitik yang Efektif Menghambat *Ganoderma boninense*

Identifikasi bakteri berdasarkan pengamatan morfologis meliputi bentuk, tepi, permukaan, ukuran, elevasi, dan warna koloni. Sifat fisiologis meliputi pewarnaan gram bakteri, dan uji biokimia yaitu uji katalase, motilitas, TSIA, *Mac Conkey*, *Simmons Citrate*, dan uji urea (Kasana, Richa, Hena, Som, & Arvind, 2008). Data hasil pengujian bakteri disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Karakterisasi bakteri disesuaikan dengan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dari Holt, Krieg, Sneath, Staley, dan Williams (1994) berdasarkan karakter morfologi maupun fisiologi.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji daya hambat bakteri selulolitik dengan *G. boninense* dianalisis dengan uji T pada taraf 5% (0,05), bertujuan untuk membandingkan daya tumbuh *G. boninense* yang di uji dengan *G. boninense* kontrol sehingga dapat diketahui potensi antagonis bakteri selulolitik. Nilai efektif jika diameter koloni *Ganoderma boninense* pada media uji lebih kecil dibandingkan dengan kontrol (Tirtana, Sulistyowati, & Cholil, 2013).

HASIL

Isolasi Bakteri Selulolitik Rizosfer Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Hasil isolasi dari rizosfer kelapa sawit diperoleh sebanyak 19 isolat kandidat bakteri selulolitik. Perbedaan karakteristik morfologi meliputi bentuk, warna, ukuran koloni, elevasi, dan tepi, serta permukaan dari isolat bakteri tersebut. Masing-masing lokasi memiliki jumlah isolat kandidat bakteri selulolitik yang berbeda-beda ditunjukkan Tabel 1.

Keberadaan bakteri selulolitik di rizosfer dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, seperti pH, suhu, dan kelembapan tanah. Pada saat pengambilan sampel telah dilakukan pengukuran faktor fisik kimia tanah. Hasil pengukuran suhu, kelembapan, dan pH tanah masing-masing lokasi ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Karakteristik isolat bakteri selulolitik rizosfer *E. guineensis*

Lokasi pengambilan	Kode isolat	Morfologi koloni bakteri					
		Bentuk	Warna	Ukuran	Elevasi	Tepi	Permukaan
I	LBS1	Tidak beraturan	Putih susu	Kecil	Datar	Bergelombang	Kasar
	LBS2	Bulat	Putih kekuningan	Kecil	Cembung	Rata	Halus
	LBS3	Bulat	Putih kekuningan	Sedang	Cembung	Rata	Halus
	LBS4	Filiform	Putih susu	Besar	Datar	Bergelombang	Kasar
	LBS5	Bulat	Putih kekuningan	Titik	Cembung	Rata	Halus
II	DBS1	Bulat	Putih susu	Kecil	Datar	Rata	Halus
	DBS2	Tidak beraturan	Putih susu	Sedang	Timbul	Rata	Kering
	DBS3	Bulat	Putih susu	Kecil	Cembung	Rata	Halus
	DBS4	Bulat	Putih kekuningan	Titik	Cembung	Rata	Halus
	DBS5	Rizoid	Putih susu	Besar	Datar	Bergerigi	Halus
	DBS6	Bulat	Putih susu	Kecil	Datar	Rata	Halus
	DBS7	Bulat	Putih kekuningan	Kecil	Cembung	Rata	Halus
III	DBS8	Rizoid	Putih susu	Besar	Datar	Filamentous	Halus
	SBS1	Bulat	Putih susu	Kecil	Cembung	Rata	Halus
	SBS2	Bulat	Putih susu	Titik	Cembung	Rata	Halus
	SBS3	Bulat	Putih kekuningan	Kecil	Datar	Rata	Halus
	SBS4	Bulat	Putih kekuningan	Kecil	Cembung	Rata	Halus
	SBS5	Rizoid	Putih susu	Sedang	Datar	Berlekuk	Licin
	SBS6	Bulat	Putih susu	Sedang	Datar	Datar	Kasar

Tabel 2. Pengukuran faktor fisik kimia rizosfer kelapa sawit

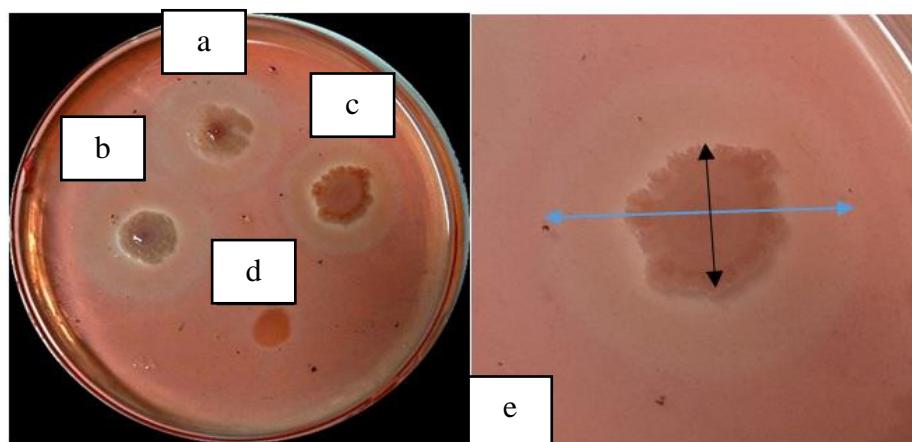
Lokasi pengambilan sampel	Suhu tanah (°C)	Kelembapan tanah (%)	pH tanah	Jumlah isolat
I (PT.NGKS)	29	70	6,2	5
II (PT.NGKS)	28,5	70	6,8	8
III (PTPN VI)	28	75	6,8	6

Keterangan: Lokasi I = sawit umur 8 tahun; Lokasi II = sawit umur 11 tahun; Lokasi III = sawit umur 14 tahun

Skrining Bakteri Selulolitik Rizosfer Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Adanya aktivitas selulolitik dari bakteri rizosfer ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media CMCA setelah diberi

pewarna *congo red* (Gambar 1). Zona bening yang terbentuk diakibatkan oleh proses degradasi selulosa oleh bakteri selulolitik. Aktivitas selulolitik tiap isolat dapat terlihat jelas diamati dan diukur dengan jangka sorong.



Gambar 1. Uji aktivitas selulolitik terhadap (a) isolat SBS1, (b) SBS2, (c) DBS8 menunjukkan adanya zona bening, (d) LBS5 tidak menunjukkan adanya zona bening. Perhitungan indeks selulolitik (e). Diameter koloni bakteri (↓) dan diameter zona bening (↔)

Kemampuan bakteri dalam menghidrolisis selulosa dinyatakan dalam bentuk indeks aktivitas selulolitik (IAS). Perhitungan nilai IAS dilakukan berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk dan diameter koloni isolat bakteri (Tabel 3). Hasil uji aktivitas selulolitik menunjukkan bahwa dari 19 isolat bakteri diperoleh 2 isolat menunjukkan aktivitas selulase yang tinggi dengan indeks selulolitik yaitu 4,38 pada isolat LBS1 dan 2,81 isolat DBS6. Untuk 10 isolat lainnya menunjukkan aktivitas selulase yang sedang dan 7 isolat memiliki indeks selulolitik yang rendah.

Uji Daya Hambat Bakteri Selulolitik Rizosfer Kelapa Sawit terhadap *Ganoderma boninense*

Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa dari 16 isolat bakteri selulolitik diantaranya sebanyak 15 isolat memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *G. boninense* dengan aktivitas yang berbeda. Persentase penghambatan tinggi ditunjukkan oleh isolat DBS1 dengan penghambatan sebesar 40,17%, sedangkan persentase penghambatan pertumbuhan rendah ditunjukkan oleh isolat SBS6 sebesar 13,35% (Tabel 4).

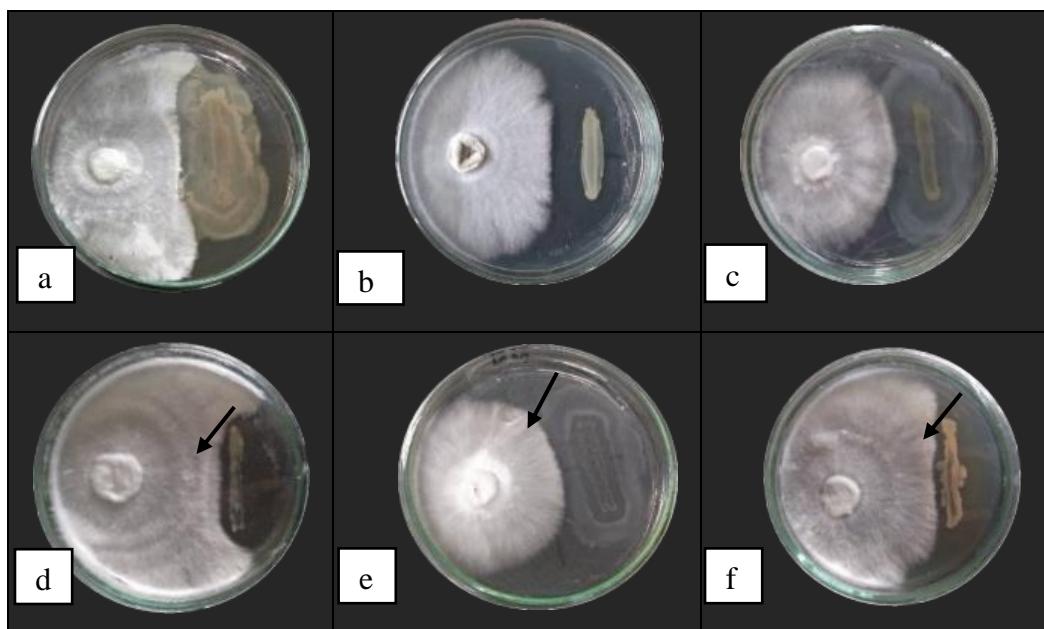
Tabel 3. Hasil indeks aktivitas selulolitik bakteri rizosfer sawit

No	Kode isolat	Indeks aktivitas selulolitik	Kategori
1	LBS1	4,38	Tinggi
2	LBS2	0,73	Rendah
3	LBS3	1,26	Sedang
4	LBS4	1,08	Sedang
5	LBS5	0,00	Rendah
6	DBS1	0,71	Rendah
7	DBS2	0,25	Rendah
8	DBS3	1,46	Sedang
9	DBS4	1,43	Sedang
10	DBS5	1,47	Sedang
11	DBS6	2,81	Tinggi
12	DBS7	1,41	Sedang
13	DBS8	1,87	Sedang
14	SBS1	1,89	Sedang
15	SBS2	1,59	Sedang
16	SBS3	0,00	Rendah
17	SBS4	0,00	Rendah
18	SBS5	1,57	Sedang
19	SBS6	0,98	Rendah

Tabel 4. Daya hambat bakteri selulolitik terhadap *G. boninense*

No	Kode isolat	Daya hambat (%)	Nilai aktivitas	Mekanisme	Hasil mekanisme secara makroskopis
1	LBS1	27,92	+	Kompetisi	Diameter <i>G. boninense</i> mengecil
2	LBS2	1,13	+	Tidak ada	-
3	LBS3	29,45	+	Kompetisi	Diameter <i>G. boninense</i> mengecil
4	LBS4	18,85	+	Antibiosis	Adanya zona bening
5	DBS1	40,17	+++	Kompetisi	Diameter <i>G. boninense</i> mengecil
6	DBS2	0,89	+	Antibiosis	Adanya zona bening
7	DBS3	1,37	+	Antibiosis	Adanya zona bening
8	DBS4	22,04	+	Antibiosis	Adanya zona bening
9	DBS5	14,20	+	Kompetisi	Diameter <i>G. boninense</i> mengecil
10	DBS6	1,16	+	Antibiosis	Terlihat adanya zona bening
11	DBS7	19,68	+	Kompetisi - Antibiosis	Adanya pengurangan diameter dan zona bening
12	DBS8	12,24	+	Antibiosis	Adanya zona bening
13	SBS1	17,56	+	Antibiosis	Adanya zona bening
14	SBS2	21,69	+	Kompetisi	Diameter <i>G. boninense</i> mengecil
15	SBS5	0,00	-	Tidak Ada	-
16	SBS6	13,35	+	Antibiosis	Adanya zona bening

Keterangan: +++ = kuat; ++ = sedang; + = lemah; - = tidak menghambat



Gambar 2. Mekanisme antagonis isolat bakteri selulolitik; (a) LBS1, (b) DBS1, (c) DBS7 terjadi kompetisi, (d) DBS3, (e) DBS7, (f) DBS8 terjadi antibiosis (Dok.pribadi, 2018)

Pada uji antagonis terlihat bahwa adanya aktivitas dari masing-masing bakteri selulolitik terhadap *G. boninense*. Mekanisme penghambatan secara makroskopis dari isolat

bakteri selulolitik bersifat kompetisi dan antibiosis. Hasil mekanisme yang berbeda-beda dari tiap isolat ditunjukkan pada Gambar 2.

Daya Hambat Isolat Bakteri Selulolitik Rizosfer Kelapa Sawit terhadap *Ganoderma boninense* (*In Vitro Assay*)

Untuk menentukan nilai efektivitas bakteri selulolitik terhadap *G. boninense* dari

nilai persentase penghambatan dan hasil uji T, membandingkan diameter kontrol dengan diameter pada uji antagonis pada taraf kesalahan 5% (0,05). Hasil uji T dari isolat bakteri selulolitik ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji T penghambatan bakteri selulolitik terhadap *G. boninense*

No	Kode isolat	Rata-rata diameter koloni <i>G. boninense</i> pada 7 hsi (mm)	T hitung	Nilai efektivitas
1	Kontrol	98,75 ± 0,38		
2	LBS1	71,18 ± 13,73	-3,479 ⁿ	Tidak efektif
3	LBS2	89,08 ± 8,19	-2,043 ⁿ	Tidak efektif
4	LBS3	69,67 ± 6,12	-8,226*	Efektif
5	LBS4	80,13 ± 5,08	-6,342*	Efektif
6	DBS1	59,08 ± 9,39	-7,320*	Efektif
7	DBS2	97,89 ± 7,36	-,202 ⁿ	Tidak efektif
8	DBS3	97,39 ± 1,013	-2,319 ⁿ	Tidak efektif
9	DBS4	76,98 ± 11,44	-3,296 ⁿ	Tidak efektif
10	DBS5	88,64 ± 20,77	-,843 ⁿ	Tidak efektif
11	DBS6	97,60 ± 7,54	-,265 ⁿ	Tidak efektif
12	DBS7	79,32 ± 3,83	-8,785*	Efektif
13	DBS8	89,48 ± 12,93	-1,241 ⁿ	Tidak efektif
14	SBS1	86,61 ± 28,06	-,749 ⁿ	Tidak efektif
15	SBS2	77,33 ± 7,04	-5,267*	Efektif
16	SBS6	85,57 ± 2,73	-8,371*	Efektif

Keterangan: * = signifikan; n = tidak signifikan

Identifikasi Isolat Potensial Bakteri Selulolitik

Bakteri selulolitik yang dikategorikan efektif terhadap *G. boninense*, diidentifikasi dengan pengamatan ciri morfologis dilanjutkan karakterisasi berdasarkan pewarnaan gram dan uji sifat biokimia (fisiologi) untuk mengetahui genus dari bakteri tersebut. Berdasarkan kunci determinasi *Bergey's* isolat LBS3, DBS7 dan

SBS6 merupakan genus *Lactobacillus*. Isolat LBS4 memiliki kesamaan dengan genus *Acinetobacter*. DBS1 memiliki kesamaan karakteristik dengan genus *Flavobacterium*. Isolat SBS2 merupakan genus *Alcaligenes*. Hasil identifikasi yang telah dilakukan, maka diperoleh empat genus bakteri selulolitik yaitu *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, dan *Alcaligenes*.

Tabel 6. Hasil uji fisiologis bakteri selulolitik

No	Kode isolat	Uji fisiologis									
		Mot	Kat	Glu	Suk	Lak	SC	MC	Gas	H ₂ S	Urea
1	LBS3	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
2	LBS4	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
3	DBS1	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
4	DBS7	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
5	SBS2	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+
6	SBS6	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+

Keterangan: Mot = motilitas; Kat = katalase; Glu = glukosa; Suk sukrosa; Lak = laktosa; SC = simon sitrat; MC = mac conkey. + = hasil uji positif ; - = hasil uji negatif

PEMBAHASAN

Bakteri selulolitik yang ditemukan dari ketiga lokasi termasuk bakteri aerob. Wafa (2017) menyebutkan bahwa kebanyakan

bakteri yang hidup di rizosfer tanaman merupakan bakteri aerob. Kisaran suhu tanah 27–36 °C mendukung untuk pertumbuhan bakteri selulolitik (Indriani, 2008) sehingga

tergolong bakteri mesofil. Kelembapan tanah memengaruhi aktivitas bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa yang berkisar antara 45–79% (Wahyuni, Siti, & Riza, 2015) dengan rentang pH 4–9 (Khairiah, Khotimah, & Mulyadi, 2013). Sehingga dari hasil pengukuran menandakan keberadaan bakteri selulolitik cukup baik.

Sebanyak 19 isolat kandidat selulolitik berhasil diisolasi dari rizosfer kelapa sawit pada media CMCA. Kemampuan bakteri untuk tumbuh pada media CMCA menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu memanfaatkan selulosa sebagai salah satu sumber karbon dan nutrisi bagi pertumbuhannya (Murtianingsih & Hazmi, 2017). Adanya aktivitas selulolitik dapat dideteksi dengan keberadaan zona bening di sekitar koloni setelah diwarnai dengan *congo red*.

Menurut Choi, Hodgkiss, dan Hyde (2005) isolat yang memiliki aktivitas selulolitik didasarkan dari nilai Indeks Aktivitas Selulolitik (IAS). IAS dikatakan rendah apabila memiliki nilai ≤ 1 , IAS sedang jika nilainya >1 dan <2 serta tinggi apabila ≥ 2 . Terdapat 3 isolat yang tidak menunjukkan adanya zona bening, yaitu LBS5, SBS3, dan SBS4. Selain itu, pertumbuhan koloni ketiga isolat pada media CMCA hanya berukuran kecil. Hal ini disebabkan perbedaan kemampuan adaptasi isolat dengan medium atau lingkungan hidupnya antara lain suhu, pH, dan sumber nutrisi yang digunakan. Kemampuan tersebut ditentukan oleh gen yang dimilikinya (Soeka & Triana, 2016).

Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri mempunyai karakteristik yang berbeda-beda, hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, pH tempat enzim bekerja, konsentrasi substrat dan waktu inkubasi (Saropah, 2012). Isolat DBS1 dan DBS2 memiliki nilai IAS yang tinggi pada inkubasi 24 jam, sedangkan DBS4 dengan waktu inkubasi 120 jam serta isolat lainnya pada 48 jam. Waktu inkubasi yang menunjukkan aktivitas tertinggi merupakan kondisi saat enzim bekerja secara maksimal pada jangka waktu inkubasi tersebut (Rahayu *et al.*, 2014).

Sebanyak 16 isolat terpilih yang memiliki potensial selulolitik pada uji IAS diujikan kemampuannya dalam menghambat

jamur patogen *G. boninense* dengan menggunakan metode *dual culture*. Jika dilihat dari persentase penghambatan berdasarkan *growth inhibition category* (GIC) Živković *et al.* (2010) bakteri selulolitik rizosfer sawit umumnya berada pada skala 0 sampai 2, dimana isolat DBS2 dan SBS5 termasuk skala 0, karena tidak mampu menghambat jamur patogen *G. boninense*.

Isolat DBS1 memiliki daya antagonis tertinggi dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *G. boninense* yaitu sebesar 40,17%, namun memiliki indeks selulolitik yang rendah. Berbeda dengan LBS1 dan DBS6 memiliki indeks selulolitik yang tinggi, yaitu 4,38 dan 2,81, namun memiliki persentase penghambatan yang lemah (27,92% dan 1,16%). Khaeruni, Satrah, dan Mariadi (2011) bahwa aktivitas enzim selulase yang tinggi tidak menunjukkan adanya korelasi positif dengan kemampuan menghambat patogen tanaman. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Harni dan Amaria (2012), bahwa nilai aktivitas enzim yang tinggi tidak selalu berkorelasi positif dengan kemampuan menghambat pertumbuhan jamur patogen. Hal ini dimungkinkan karena adanya mekanisme dalam menekan patogen yang terlibat dalam proses antagonis bakteri, salah satunya dengan menghasilkan senyawa yang dapat berfungsi sebagai inhibitor suatu enzim.

Menurut Novitasari (2013), perbedaan aktivitas penghambatan jamur patogen dengan bakteri selulolitik dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya: kespesifikasi spesies, perbedaan aktivitas selulase bakteri, komposisi selulosa dari dinding sel jamur, dan keberadaan metabolit anti jamur. Wulandari, Zakiyatulyaqin, dan Supriyanto (2012), menyatakan bahwa perbedaan daya antagonis yang dihasilkan diduga karena adanya perbedaan jenis dan jumlah metabolit yang dihasilkan oleh masing-masing isolat bakteri selulolitik yang berfungsi sebagai antifungi terhadap *G. boninense*.

Hasil uji T menunjukkan bahwa isolat bakteri selulolitik yang memiliki *t* hitung yang signifikan dari *T* tabel (4,303) yaitu isolat LBS3, LBS4, DBS1, DBS7, SBS2 dan SBS6, sedangkan nilai *T* hitung untuk isolat lainnya tidak signifikan. Menurut Tirtana *et al.* (2013), agen hayati yang memiliki nilai *t* lebih

besar dari tabel, maka berpotensi sebagai antagonis jamur patogen. Keenam isolat dapat dijadikan sebagai antagonis terhadap *G. boninense*. DBS1 memiliki persentase daya hambat yang tertinggi yaitu 40,17 dan berdasarkan uji T efektif atau berpotensi sebagai antagonis dari *G. boninense*. Hidayah dan Yulianti (2015) menambahkan bahwa bakteri yang memiliki daya antagonis $\geq 35\%$ juga mampu dan berpotensi untuk digunakan sebagai agens pengendalian hayati.

Persentase daya hambat pada SBS6 yaitu 13,35% tergolong lemah namun memiliki nilai t hitung signifikan yaitu -6,342 dengan mekanisme berupa antibiosis yang diduga dapat menekan pertumbuhan *G. boninense*. Hal ini pernah dilaporkan pada penelitian Nasahi, Widiani, Yulia, Meliansyah, dan Rasisetyo (2017), persentase penghambatan 8,13% pada *Actinobacteria* isolat BEK2 secara signifikan ($P<0,05$) bersifat antagonis terhadap *G. boninense*. Mekanisme antibiosis dengan terbentuknya zona bening diperkirakan karena adanya senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen *G. boninense*.

Genus *Flavobacterium* merupakan bakteri selulolitik yang mampu memproduksi berbagai enzim ekstraseluler yang berperan dalam degradasi polimer seperti selulosa, kitin, dan polisakarida (Bernardet & Bowman, 2006). Salah satu senyawa metabolit sekunder dari *Flavobacterium* berupa senyawa alkaloid yang berkaitan dengan kemampuan dalam mengaktifkan sistem enzim dan merubah permeabilitas dinding sel jamur (Safriani, Syamsuddin, & Marlina, 2016). Rizobakteria *Flavobacterium* sp. mampu menghambat patogen terbawa benih yaitu *Phytophthora capsica* dan *Colletotrichum capsici* dengan aktivitas penghambatan sangat tinggi $>75\%$.

Selain *Flavobacterium*, diperoleh bakteri selulolitik lain diantaranya *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, dan *Alcaligenes* yang memiliki sifat penghambatan terhadap *G. boninense*. *Lactobacillus* mampu menjadi agen pengendali dengan menghasilkan senyawa metabolit berupa senyawa anti jamur (asam benzeneasetat dan 2-propenil ester) (Wang, Yan, Wang, Zhang, & Qi, 2012). *Acinetobacter* mampu menekan pertumbuhan jamur patogen disebabkan adanya senyawa

iturin sebagai antijamur (Liu *et al.*, 2007). Adanya kemampuan menghasilkan zat pemacu tumbuh IAA, *Alcaligenes* berpotensi dijadikan agen biofertilizer (Fauziah, Setiawati, & Susilowati, 2016).

Bakteri selulolitik sebagai biokontrol alami diharapkan mampu dalam menghambat pertumbuhan cendawan patogen *G. boninense*. Berdasarkan keseluruhan percobaan, perlakuan dengan menggunakan bakteri selulolitik menunjukkan aktivitas penghambatan. Isolat bakteri potensial sebagai agens biokontrol terpilih perlu dilakukan uji lanjut dalam penentuan konsentrasi formulasi enzim optimum.

SIMPULAN

Sebanyak 19 isolat bakteri selulolitik diperoleh dari rizosfer kelapa sawit dengan indeks selulolitik (IS) tertinggi yaitu 4,38 pada isolat LBS1. Berdasarkan uji T dari efektivitas bakteri selulolitik terhadap *G. boninense* menunjukkan 6 isolat (LBS3, LBS4, DBS1, DBS7, SBS2 dan SBS6) memiliki nilai efektif atau berpotensi sebagai antagonis dengan persentase daya hambat tertinggi sebesar 40,17% pada DBS1 yang merupakan genus *Flavobacterium*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) UI atas HIBAH PITTA 2017 atas nama Dr. Andi Salamah (Nomor: 619/UN2.R3.1/HKP.05.00/2017) yang telah mendanai penelitian ini.

REFERENSI

- Ali, S. R. A., Yaacob, N. S., Seman, I. A. & Wahid, M. B. (2004, May 18-19). *Oil palm cellulose and lignin degradation of different Ganoderma sp. based on ASTM standard rotting experiment*. Paper presented at the International Conference on Pests and Diseases of Importance to the oil palm Industry, Malaysian Oil Palm Board, Kuala Lumpur, Malaysia, Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/263093934_Oil_Palm_Cellulose_and_Lignin_Degradation_of_Different_Ganoderma_sp_Based_on_ASTM_Standard_Rotting_Experiment.

- Bernardet, J. F., & Bowman, J. P. (2006). The genus *Flavobacterium*. *Prokaryotes*, 7, 481-531.
- Choi, Y. W., Hodgkiss, I. J., & Hyde, K. D. (2005). Enzyme production by endophytes of *Brucea javanica*. *Journal of Agricultural Technology*, 1, 55-66
- Fauziah, F., Setiawati, M. R., & Susilowati, D. N.. (2016). Potensi mikroba indigen tanaman teh terhadap pertumbuhan dan ketahanan terhadap penyakit cacar daun (*Exobasidium vexans* Massee). *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 19(1), 115-123.
- Fokkema, N. J. (1973). The role of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. *Physiological Plant Pathology*, 3(1), 195-205.
- Harni, R., & Amaria, W. (2012). Potensi bakteri kitinolitik untuk pengendalian penyakit busuk pangkal batang lada (*Phytophthora capsici*). *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri*, 3(1), 7-12.
- Hidayah, N., & Yulianti, T. (2015). Uji antagonisme *Bacillus cereus* dan *Rhizoctonia solani* terhadap *Sclerotium rolfsii*. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri*, 7(1), 2406-8853.
- Holt, G. H., Krieg, R. N., Sneath, A. H. P., Staley, T. J., & Williams, T. S. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology ninth edition*. USA: McGraw-Hill Book.
- Indriani, Y. (2008). Produksi dan laju dekomposisi serasah daun mangrove api-api (*Avicennia marina* Forssk.Vierh) di Desa Lontar, Kecamatan Kemiri, Kabupaten Tangerang, Provinsi Banten (Skripsi sarjana). Prodi Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Petanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Kasana, S. C., Richa, S., Hena, D., Som, D., & Arvind, G. (2008). A rapid and esay method for the detection of microbial cellulases on agar plates using gram's iodine. *Current Microbiology*, 57(5), 503-507
- Khaeruni, A., Satrah, V. N., & Mariadi. (2011). Isolasi, karakterisasi dan uji antagonis bakteri selulolitik terhadap *Phytophthora capsici* asal tanaman lada (*Piper ningrum* L.) secara *in-vitro*. *Jurnal Agroteknologi*, 1(3), 156-162.
- Khairiah, E., Khotimah, S., & Mulyadi A. (2013). Karakterisasi dan kepadatan bakteri pendegradasi selulosa pada tanah gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak. *Protobiont*, 2(2): 87-92.
- Liu, C. H., Chen, X., Liu, T. T., Lian, B., Gu, Y., Caer, V., ... Wang, B. T. (2007). Study of the antifungal activity of *Acinetobacter baumannii* LCH001 in vitro and identification of its antifungal components. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(2), 459-466.
- Murtianingsih, H., & Hazmi, M. (2017). Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik asal tanah sampah. *Jurnal of Agricultural Science*, 15(2), 293-308.
- Nasahi, C., Widiantini F., Yulia, E., Meliansyah, R., & Rasisetyo, P. (2016, August 27). *Isolasi dan deteksi potensi Actinobacteria endofit dalam mengendalikan penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kelapa sawit (Ganoderma boninense Pat.)*. Paper presented at the Seminar Nasional Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan II, Yogyakarta, Indonesia. Retrieved from <http://repository.lppm.unila.ac.id/17364/1/5.%20Prosiding%20Seminar%20Nasional%20Joglosemar%20mahfut.pdf>
- Novitasari, P. (2013). Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik penghambat pertumbuhan cendawan patogen asal kokon *Cricula trifenestrata* (Skripsi sarjana). Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Nurfitriani, S., & Handayanto, E. (2017). Dekomposisi kulit kopi oleh bakteri selulolitik yang diisolasi dari timbunan kulit kopi di Perkebunan Kalibendo, Jawa Timur. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 4(2), 503-514.

- Purnamasari, D. (2013). Isolasi dan seleksi bakteri selulolitik penghambat pertumbuhan cendawan pada tanaman kelapa sawit (Skripsi sarjana). Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Prastyo, M. E., Agung, S., & Endang, K. (2014). Eksplorasi *rhizobakteri indigenous* tanaman cabai rawit (*Capsicum frustescens* Linn.) dari pertanian semi organik Desa Batur Kabupaten Semarang sebagai agen hayati pengendali pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici*. *Jurnal Biologi*, 3(3), 18-31.
- Rahayu, A. G., Yahyani, Y., & Puspita, F. (2014). Uji aktivitas selulolitik dari tiga isolat bakteri *Bacillus* sp. galur lokal Riau. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Unri*, 1(2), 19-27.
- Rupaedah, B., Amanda, D. V., Indrayanti, R., Asiani, N., Sukmadi, B., Ali, A., Wahid, A., ... Sugianto, M. (2018). Aktivitas *Stenotrophomonas rhizophila* dan *Trichoderma* sp. dalam menghambat pertumbuhan *Ganoderma boninense*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 5(1), 53-63.
- Safriani., Syamsuddin., & Marlina. (2016). Daya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan koloni patogen terbawa benih cabai merah secara *in vitro* dan pengaruhnya terhadap viabilitas benih. *Jurnal Kawista*, 1(1), 50-58.
- Saropah, D. A. (2012). Penentuan kondisi optimum ekstrak kasar selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul (Skripsi sarjana). Univeritas Islam Negeri Malang, Malang, Indonesia.
- Seprianto. (2017). Isolasi dan penapisan bakteri selulolitik dari berbagai jenis tanah sebagai penghasil enzim selulase. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 1(2), 64-70.
- Soeka, Y. S., & Triana, E. (2016). Pemanfaatan limbah kulit udang untuk menghasilkan enzim kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 91-101.
- Tirtana, Z. Y. G., Sulistyowati, L., & Cholil, A. (2013). Eksplorasi jamur endofit pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) serta potensi antagonismenya terhadap *Phytophthora infestans* (Mont.) De Barry penyebab penyakit hawar daun secara *in vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman*, 1(3), 91-101.
- Wafa, A. (2017). Sebaran vertikal mikroba fungsional pada perakaran kelapa sawit dan potensinya sebagai agens pengendalian hayati *Ganoderma boninense* Pat (Tesis master). Prodi Fitopatologi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Wahyuni, D., Siti, K., & Riza, L. (2015). Eksplorasi bakteri selulolitik pada tingkat kematangan gambut yang berbeda di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont*, 4(1), 69-76.
- Wang, H. K., Yan, Y. H., Wang, J. M., Zhang, H. P., & Qi, W. (2012). Production and characterization of antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. *Journals Public Library of Science*, 7(1), 1-7.
- Wulandari, H., Zakiyatulyaqin., & Supriyanto. (2012). Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper ningrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar beludru (*Septobasidium* sp.). *Jurnal Perkebunan dan Lahan Tropika*, 2(2), 23-31.
- Živković, S., Stojanović, S., Ivanović, Ž., Gavrilović, V., Popović, T., & Balaž, J. (2010). Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum Acutatum* and *Colletotrichum Gloeosporioides*. *Archives Biological Science Belgrade*, 62(3), 611-623.