

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI ENDOFIT UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT DARAH PADA TANAMAN PISANG

Husda Marwan¹, Meity S. Sinaga², Giyanto² dan Abdjad Asih Nawangsih²

¹Mahasiswa Program Doktor Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
e mail : husda04@yahoo.com

²Departemen Proteksi Tanaman Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Isolation and selection of endophytic bacteria to control blood disease on banana. Blood disease is one of the important diseases of banana in Indonesia. Endophytic bacteria have potencies as candidates of biocontrol agents to blood disease, because the bacteria colonized the same ecological niche with the plant pathogens. This research was conducted to isolate endophytic bacteria from banana root, and study their disease suppression ability to blood disease on banana. Ninety isolates of endophytic bacteria have been isolated from the root of banana. Average population densities of bacteria varied between $6,0 \times 10^3$ and $4,2 \times 10^5$ cfu/g fresh weight of root. Twenty seven isolates were positively produced inhibition zone toward blood disease bacterium. Based on plant growth and disease suppression test, ten isolates promoted the growth of banana plant and four isolates suppressed the incidence of blood disease with ranged from 66,67 to 83,33%.

Keywords : endophytic bacteria, blood disease, blood disease bacterium, banana

ABSTRAK

Isolasi dan seleksi bakteri endofit untuk pengendalian penyakit darah pada tanaman pisang. Penyakit darah merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman pisang di Indonesia. Bakteri endofit berpotensi sebagai kandidat agensia pengendalian hayati penyakit darah, sebab bakteri endofit melakukan kolonisasi pada relung ekologi yang sama dengan patogen tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari akar tanaman pisang, dan menganalisis kemampuan bakteri tersebut dalam penekanan penyakit darah pada tanaman pisang. Sebanyak 90 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari akar tanaman pisang. Rata-rata kerapatan populasi bakteri endofit bervariasi antara $6,0 \times 10^3$ - $4,2 \times 10^5$ cfu/g berat basah akar. Sebanyak 27 isolat bakteri endofit mempunyai kemampuan antibiosis terhadap BDB secara *in vitro*. Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan tanaman dan penekanan terhadap penyakit darah, sebanyak 10 isolat mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan 4 isolat mampu menekan kejadian penyakit darah sebesar 66,67 – 83,33%.

Kata kunci : bakteri endofit, penyakit darah, *blood disease bacterium*, pisang

PENDAHULUAN

Penyakit darah (*blood disease*) yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacterium* (BDB) merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman pisang di Indonesia (Supriadi, 2005). Infeksi BDB pada tanaman pisang dapat menyebabkan tanaman mati atau menghasilkan buah yang tidak dapat dikonsumsi. Daging buah pisang yang terinfeksi BDB menjadi berlendir yang mengandung massa bakteri.

Salah satu upaya untuk mengendalikan penyakit darah pada tanaman pisang adalah dengan aplikasi bakteri endofit. Menurut Kado (1992), bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa merugikan bahkan memberikan banyak manfaat bagi tanaman inangnya. Bakteri endofit melakukan kolonisasi pada relung ekologi yang sama dengan patogen tanaman (khususnya patogen layu pembuluh),

sehingga bakteri ini lebih cocok sebagai kandidat agensia pengendalian hayati (Hallmann *et al.*, 1997).

Bakteri endofit menimbulkan banyak pengaruh menguntungkan terhadap tanaman inangnya, antara lain menstimulasi pertumbuhan tanaman (Sturz *et al.*, 1997; Sessitsch *et al.*, 2004; Adeline *et al.*, 2007; Olmar *et al.*, 2007; Chandrashekhara *et al.*, 2007), memfiksasi nitrogen (Reinhold-Hurek & Hurek, 1998; Bashan & de-Bashan, 2005), dan menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen tanaman (Chen *et al.*, 1995; Kavino *et al.*, 2007; Chandrashekhara *et al.*, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian Hadiwiyono (2010), ditemukan perbedaan struktur komunitas bakteri endofit pada tanaman pisang terinfeksi BDB yang bergejala penyakit darah dengan pisang yang tidak bergejala. Dilaporkan ada bakteri endofit tertentu pada pisang yang tidak bergejala penyakit darah, tetapi bakteri endofit

tersebut tidak dijumpai pada pisang yang bergejala penyakit darah. Bakteri endofit ini diduga terlibat dalam menghambat infeksi BDB pada tanaman pisang.

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi isolat bakteri endofit dari tanaman pisang, menganalisis kemampuan antibiosis isolat bakteri endofit terhadap BDB, menganalisis pengaruh bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman pisang, dan menyeleksi bakteri endofit yang berpotensi untuk mengendalikan penyakit da darah pada tanaman pisang.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Bakteriologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman IPB dan Rumah Kaca Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika (BB-BIOGEN) Bogor dari bulan Maret 2009 sampai September 2010.

Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Pisang. Bakteri endofit diisolasi dari akar beberapa jenis tanaman pisang yang tumbuh sehat dari sekitar pertanaman pisang yang terserang BDB dan akar tanaman pisang yang terserang BDB di daerah Bogor. Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan metode pencawan (*plating*). Akar pisang dicuci dengan air mengalir untuk *membersihkannya dari partikel lain yang menempel*, dikeringkan dengan kertas tissue, dan ditimbang masing-masing sebanyak 5 gram. Akar pisang disterilisasi permukaannya berdasarkan metode Sessitsch *et al.* (2004) yang dimodifikasi. Sterilisasi permukaan dilakukan secara berurutan dengan merendam akar pisang dalam *Natrium hipoklorit 5% + 0,25% Tween 20* selama 5 menit, dicuci sebanyak 4 kali dengan akuades steril dan dilewatkan (*flaming*) pada lampu bunsen.

Akar yang sudah disterilkan dipotong kecil-kecil menggunakan pisau skalpel steril dan dihaluskan dalam lumpang menggunakan mortar steril. Akar yang sudah dihaluskan dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi 45 ml akuades steril, kemudian dilakukan pengenceran secara berseri sampai 10^{-3} . Sebanyak 100 μ l dari pengenceran 10^{-1} dan 10^{-3} dibiakkan dalam media *Tryptic Soy Agar (TSA) 50%* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 - 96 jam.

Pengujian keefektifan dari sterilisasi permukaan dilakukan dengan membiakkan sebanyak 100 μ l akuades pencucian akar yang ke-4 pada media TSA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 - 96 jam. Sampel akuades pencucian akar yang menunjukkan adanya

pertumbuhan mikroorganismenya tidak dapat digunakan sebagai sampel isolat bakteri endofit.

Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri endofit dilakukan pada 24, 48, dan 96 jam setelah inkubasi. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan tipe morfologi koloni (Habazar & Rivai, 2004). Koloni tunggal dari masing-masing sampel akar tanaman pisang yang menunjukkan perbedaan tipe morfologi dimurnikan kembali dalam media TSA 100% dan disimpan sebagai isolat. Masing-masing isolat dilakukan pengujian reaksi hipersensitif pada daun tembakau.

Uji Kemampuan Antibiosis Isolat Bakteri Endofit terhadap BDB. Pengujian dilakukan pada media Sukrosa Pepton Agar (SPA) dengan metode Difusi Kertas Cakram-Agar (Madigan *et al.*, 1997). Masing-masing isolat bakteri endofit dibiakkan pada media TSA selama 48 jam, kemudian disuspensikan dalam 10 ml akuades steril dan dihitung populasinya sehingga mencapai $10^8 - 10^9$ cfu/ml ($OD_{600} = 0,16$). Sedangkan BDB dibiakkan pada media SPA selama 76 jam, kemudian disuspensikan dalam 10 ml akuades steril dan dihitung populasinya sehingga mencapai $10^8 - 10^9$ cfu/ml ($OD_{600} = 0,1$). Sebanyak 100 μ l suspensi BDB disebar pada permukaan media SPA secara merata dan dikeringanginkan. Selanjutnya, 5 potongan kertas saring steril dengan diameter 5 mm diletakkan secara teratur pada permukaan media. Sebanyak 5 potongan kertas saring ditetesi dengan 7,5 μ l suspensi bakteri endofit yang berbeda dan 1 potongan kertas saring ditetesi dengan 7,5 μ l akuades steril sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan terhadap adanya zone bening di sekitar kertas saring yang merupakan reaksi penghambatan dari bakteri endofit terhadap BDB.

Seleksi Bakteri Endofit Antagonis terhadap Penyakit Darah. Seleksi dilakukan terhadap 30 isolat bakteri endofit yang memperlihatkan kemampuan antibiosis terhadap BDB dan isolat bakteri endofit yang dominan dalam satu komunitas berdasarkan frekuensi kemunculan isolat. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 ulangan, tiap satuan perlakuan terdiri dari 4 bibit pisang. Inokulasi BDB pada tanaman yang telah diberi perlakuan dengan isolat bakteri endofit menggunakan 2 metode (Rustam, 2007) yaitu : (1) Penginjeksian suspensi BDB pada bonggol tanaman pisang, (2) Pelukaan akar dan penyiraman suspensi BDB.

Bibit pisang yang digunakan adalah jenis pisang cavendish hasil perbanyakan dengan kultur jaringan dari

BIOTROP Bogor yang telah diaklimatisasi selama 2 bulan. Bibit pisang diseleksi untuk mendapatkan bibit dengan ukuran tinggi dan jumlah daun tanaman yang seragam. Bibit dibersihkan perakarannya dari kotoran media pembibitan dengan air mengalir dan dikeringanginkan.

Bakteri endofit yang digunakan dalam pengujian ini diperbanyak pada media TSA dalam cawan petri dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang, kemudian ditambahkan 10 ml akuades steril. Suspensi bakteri dihitung populasinya dan diencerkan sehingga populasinya mencapai 10^8 - 10^9 cfu/ml.

Bibit yang telah diseleksi direndam dalam 750 ml suspensi bakteri endofit selama 6 jam (modifikasi Kavino *et al.*, 2007), sedangkan tanaman kontrol direndam dalam akuades steril. Bibit yang telah diinokulasi dengan bakteri endofit ditanam dalam pot plastik (diameter 17 cm) dengan media tanam berupa campuran tanah humus steril dan sekam bakar (perbandingan 2 : 1 v/v). Media tanam disiram dengan sisa suspensi bakteri endofit hasil perendaman. Bibit dipelihara selama 8 minggu untuk proses kolonisasi bakteri endofit pada bibit pisang. Selama proses kolonisasi bakteri endofit dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan tanaman (pertambahan tinggi dan jumlah daun tanaman) untuk mengetahui pengaruh perlakuan bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman pisang.

Inokulasi BDB dilakukan pada bibit pisang 8 minggu setelah introduksi bakteri endofit (Kasutjaningati, 2004). Metode inokulasi BDB pada bonggol pisang dilakukan dengan cara menginjeksikan 2 ml suspensi BDB 10^8 - 10^9 cfu/ml menggunakan jarum injeksi steril (5 ml) ke bonggol tanaman pisang. Metode penyiraman suspensi BDB pada akar dilakukan dengan cara melukai akar tanaman pisang dengan pisau skalpel steril, kemudian 25 ml suspensi BDB 10^8 - 10^9 cfu/ml disiramkan ke tanah sekitar akar yang dilukai. Pengamatan dilakukan terhadap periode inkubasi penyakit darah dan persentase kejadian penyakit darah. Persentase kejadian penyakit dihitung menggunakan rumus :

$$KjP = (a/b)100\%$$

$$KjP = \text{Kejadian penyakit layu (\%)}$$

$$a = \text{Jumlah tanaman yang menunjukkan gejala penyakit darah pada satu perlakuan}$$

$$b = \text{Jumlah tanaman yang diinokulasi dengan BDB pada perlakuan yang sama}$$

Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dan perlakuan yang berpengaruh nyata dilakukan uji lanjut Dunnett pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Pisang. Hasil isolasi bakteri endofit dari akar tanaman pisang diperoleh 90 isolat bakteri endofit yang terdiri dari 33 isolat dari pisang kepok, 31 isolat dari pisang raja, dan 26 isolat dari pisang ambon. Kerapatan populasi bakteri masing-masing tanaman sampel berkisar antara $6,0 \times 10^3$ sampai $4,2 \times 10^5$ cfu/g berat basah akar (Tabel 1).

Menurut Hallmann (2001) dan Zinniel *et al.* (2002), kerapatan populasi bakteri endofit tergantung pada jenis tanaman, umur tanaman, tipe jaringan (akar, batang, dan daun), habitat, dan faktor lingkungan. Pengaruh jenis tanaman pisang terhadap kerapatan populasi bakteri endofit dapat dilihat pada sampel tanaman pisang raja bulu dan ambon lumut yang berasal dari kebun PKBT IPB (Tabel 1). Kerapatan rata-rata populasi bakteri endofit dari sampel tanaman pisang raja bulu (RB1, RB2, dan RB3) lebih tinggi dibandingkan dengan ambon lumut (AL1, AL3, AL4, dan AL5).

Berdasarkan jenis tanaman pisang, kerapatan populasi bakteri endofit pada pisang raja ($1,09 \times 10^5$ cfu/g berat basah akar) lebih tinggi dari pisang kepok kuning ($5,15 \times 10^4$ cfu/g berat basah akar) dan pisang ambon ($4,09 \times 10^4$ cfu/g berat basah akar). Hal ini sama dengan Harni (2010) yang melaporkan bahwa kerapatan populasi bakteri endofit pada tanaman nilam dipengaruhi varietas nilam. Selanjutnya Hung & Annapurna (2004) menemukan variasi bakteri endofit pada spesies tanaman kedelai *Glycine max* dan *G. soja*.

Uji Kemampuan Antibiosis Isolat Bakteri Endofit terhadap BDB. Hasil pengujian antibiosis 90 isolat bakteri endofit terhadap BDB menunjukkan bahwa sebanyak 27 isolat (30%) mempunyai kemampuan antibiosis terhadap BDB dengan diameter penghambatan yang bervariasi. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman pisang bersifat antagonis terhadap BDB. Hasil penelitian Long *et al.* (2004) menunjukkan bahwa 13 isolat bakteri endofit (35%) dari tanaman *Solanum sp.* bersifat antibiosis terhadap *Ralstonia solanacearum* pada pengujian *in vitro*. Berdasarkan hasil pengujian *in vitro* aktivitas antibakteri, beberapa isolat bakteri endofit dari tanaman kentang bersifat antibiosis terhadap *Streptomyces sp.* dan *Xanthomonas sp.* (Sessitsch *et al.*, 2004) Nawangsih (2007) juga melaporkan bahwa isolat bakteri endofit CA8 (genus *Bacillus*) dan PK5 (genus *Pseudomonas*) yang diisolasi dari sampel tanaman pisang mampu menekan perkembangan BDB secara *in vitro*.

Tabel 1. Data hasil isolasi bakteri endofit dari akar beberapa jenis tanaman pisang

Tanaman sampel	Lokasi tanaman sampel	Jumlah koloni/ gram akar	Jumlah isolat bakteri endofit
Kepok Kuning-1	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$1,06 \times 10^4$	10
Kepok Kuning-2	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$8,60 \times 10^3$	6
Kepok Kuning-3	Pasir Muncang/Kebun Petani	$1,57 \times 10^5$	6
Kepok Kuning-4	Pasir Muncang/Kebun Petani	$6,06 \times 10^4$	6
Kepok Tanjung	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$2,07 \times 10^4$	5
Raja Bulu-1	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$4,20 \times 10^5$	7
Raja Bulu-2	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$1,53 \times 10^4$	7
Raja Bulu-3	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$1,40 \times 10^4$	5
Raja Nangka	Pasir Muncang/Kebun Petani	$7,60 \times 10^4$	5
Raja Uli	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$1,73 \times 10^4$	7
Ambon Lumut-1	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$2,0 \times 10^4$	6
Ambon Lumut-2	Pasir Muncang/Kebun Petani	$2,66 \times 10^4$	6
Ambon Lumut-3	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$6,0 \times 10^3$	4
Ambon Lumut-4	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$6,5 \times 10^4$	4
Ambon Lumut-5	Pasir Kuda/Kebun PKBT IPB	$8,73 \times 10^4$	6

Keterangan : PKBT IPB (Pusat Kajian Buah Tropika IPB Bogor).

Senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri antagonis dapat berperan langsung sebagai bakterisida terhadap bakteri patogen dan agens penginduksi (*elicitor*) ketahanan tanaman terhadap penyakit (Lyon, 2007). Pada bakteri endofit, senyawa antibiotik yang dihasilkannya diduga lebih banyak berperan sebagai *elicitor* untuk menginduksi ketahanan tanaman dibandingkan berperan langsung sebagai bakterisida dimana bakteri endofit memerlukan kontak langsung dengan patogen tanaman. Hal ini disebabkan karena bakteri endofit yang berada dalam jaringan tanaman populasinya lebih sedikit dibandingkan dengan populasi patogen sehingga kemampuan dari bakteri endofit yang dapat melakukan kontak langsung dengan patogen lebih sedikit. Disamping itu, antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri endofit dalam jumlah banyak pada jaringan tanaman dapat berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan tanaman. Mourhofer *et al.* (1995) melaporkan bahwa antibiotik pyoluteorin dan 2,4-diacetylphloroglucinol (DPAG) yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* spp. bersifat fitotoksik pada konsentrasi tinggi.

Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Pertumbuhan Tanaman Pisang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi bakteri endofit berpengaruh nyata terhadap pertambahan tinggi dan jumlah daun tanaman pisang cavendish (Tabel 2). Berdasarkan hasil analisis terhadap pertambahan tinggi dan jumlah daun tanaman pisang, diketahui bahwa sebanyak 11 isolat bakteri endofit (36,7%) mampu meningkatkan pertambahan tinggi tanaman dan 12 isolat (40%) mampu meningkatkan pertambahan jumlah daun.

Sessitsch *et al.* (2004) melaporkan bahwa 40% bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kentang mampu memacu pertumbuhan *plantlet* tanaman kentang. Hasil penelitian Adeline *et al.* (2007) menunjukkan bahwa bakteri endofit *Serratia* sp. yang diisolasi dari pisang liar mampu meningkatkan pertumbuhan *plantlet* pisang barangan kultivar Intan. Harni (2010) juga melaporkan bahwa 26 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman nilam mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman nilam (berat tajuk tanaman dan berat akar). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa 20 isolat bakteri endofit (66,7%) yang diinokulasikan pada tanaman pisang cavendish

tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman pisang (bersifat netral). Menurut Bacon & Hinton (2007), interaksi antara tanaman inang dan bakteri endofit dapat bersifat netralisme (tidak ada pengaruh terhadap tanaman inang), mutualisme

(menguntungkan terhadap tanaman inang dan bakteri endofit), atau komensalisme (menguntungkan terhadap tanaman inang atau bakteri endofit).

Tabel 2. Pengaruh bakteri endofit terhadap pertambahan tinggi dan jumlah daun tanaman pisang cavendish pada 8 minggu setelah introduksi bakteri endofit

Isolat bakteri endofit ^a	Pertambahan tinggi tanaman (cm)	Pertambahan jumlah daun tanaman (helai)	Efek bakteri endofit terhadap pertumbuhan ^b
EAL02	10,58	3,67*	-
EAL09	12,53*	3,38*	+
EAL11	12,66*	3,07*	+
EAL14	10,52	2,07	-
EAL15	12,18*	3,08*	+
EAL20	12,13*	3,25*	+
EAL26	10,64	2,05	-
EKK04	9,59	2,48	-
EKK07	8,94	2,40	-
EKK08	9,60	2,00	-
EKK10	10,37	2,62	-
EKK11	12,15*	3,67*	+
EKK13	10,26	2,27	-
EKK15	11,72*	4,27*	+
EKK20	9,63	2,13	-
EKK22	11,93*	3,23*	+
EKK26	9,93	2,28	-
EKT02	11,27	4,43*	-
EKT03	11,73*	2,53	-
EKT04	9,22	2,40	-
EKT05	8,85	2,57	-
ERB04	8,70	2,60	-
ERB05	12,99*	3,07*	+
ERB06	11,76*	3,07*	+
ERB08	10,07	2,53	-
ERB10	8,71	2,47	-
ERB16	12,07*	3,58*	+
ERN01	11,38	2,32	-
ERN05	8,40	2,07	-
ERU06	8,59	1,98	-
Kontrol	9,41	1,53	-

^a Isolat bakteri endofit : EAL (Endofit Ambon Lumut), EKK (Endofit Kepok Kuning), EKT (Endofit Kepok Tanjung), ERB (Endofit Raja Bulu), ERN (Endofit Raja Nangka), ERU (Endofit Raja Uli).

^b Efek pertumbuhan : + bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan berdasarkan variabel pertambahan tinggi dan jumlah daun tanaman, - perlakuan bakteri endofit tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman dibandingkan tanaman kontrol.

* Rataan selajur berbeda nyata dengan kontrol berdasarkan uji Dunnett pada taraf nyata 5 %.

Berdasarkan variabel penambahan tinggi dan jumlah daun tanaman pisang, sebanyak 10 isolat bakteri endofit (EAL09, EAL11, EAL15, EAL20, EKK11, EKK15, EKK22, ERB05, ERB06, dan ERB16) berpotensi sebagai agensia pemacu pertumbuhan tanaman pisang, karena isolat-isolat tersebut secara konsisten mampu meningkatkan penambahan tinggi dan jumlah daun tanaman pisang cavendish. Hal ini diduga karena bakteri endofit dapat meningkatkan ketersediaan unsur hara tertentu dan menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman seperti auksin dan sitokinin. Menurut Bacon & Hinton (2007), bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan cara meningkatkan ketersediaan nutrisi tanaman seperti nitrogen, fosfat, dan mineral lainnya, serta merangsang pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auksin, dan sitokinin.

Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Penyakit Darah pada Tanaman Pisang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan bakteri endofit berpengaruh nyata terhadap periode inkubasi dan kejadian penyakit darah pada tanaman pisang dari kedua metode inokulasi (Tabel 3). Pada metode inokulasi BDB dengan penginjeksian pada bonggol tanaman diketahui bahwa 15 isolat bakteri endofit mampu memperlambat munculnya gejala penyakit dan 7 isolat menekan kejadian penyakit dengan persentase penekanan 8,33 - 75,00%, sedangkan pada metode inokulasi BDB dengan pelukaan akar dan penyiraman suspensi BDB diketahui bahwa 27 isolat bakteri endofit mampu memperlambat munculnya gejala penyakit dan 26 isolat menekan kejadian penyakit dengan persentase penekanan 16,67 - 83,33%.

Perbedaan pengaruh metode inokulasi BDB terhadap kemampuan antagonis bakteri endofit terjadi karena metode inokulasi BDB pada tanaman pisang mempengaruhi fase patogenesis yang dilalui patogen, sehingga berpengaruh terhadap kemampuan antagonis bakteri endofit dalam menekan munculnya gejala dan kejadian penyakit darah. Menurut Sinaga (2006), fase patogenesis dimulai dengan kontakannya inokulum pada permukaan jaringan inang (inokulasi), masuknya patogen ke dalam jaringan inang (penetrasi), infeksi patogen dalam jaringan inang, kolonisasi patogen dalam jaringan-jaringan inang, dan penyebaran (diseminasi) inokulum ke jaringan/tanaman lain.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode inokulasi BDB mempengaruhi kemampuan bakteri endofit dalam menekan kejadian penyakit darah, terutama terlihat dari perbedaan jumlah isolat bakteri

endofit yang mampu menekan kejadian penyakit. Hal ini disebabkan karena metode inokulasi BDB pada tanaman pisang mempengaruhi fase patogenesis yang dilalui patogen, sehingga berpengaruh terhadap kemampuan antagonis bakteri endofit dalam menekan munculnya gejala dan kejadian penyakit darah. Menurut Sinaga (2006), fase patogenesis dimulai dengan kontakannya inokulum pada permukaan jaringan inang (inokulasi), masuknya patogen ke dalam jaringan inang (penetrasi), infeksi patogen dalam jaringan inang, kolonisasi patogen dalam jaringan-jaringan inang, dan penyebaran (diseminasi) inokulum ke jaringan/tanaman lain.

Metode inokulasi dengan penginjeksian suspensi BDB pada bonggol menyebabkan fase patogenesis BDB tidak berlangsung secara alami, karena patogen langsung melakukan infeksi dalam jaringan tanaman dan mengkolonisasi jaringan tersebut dengan populasi BDB yang diinjeksikan pada bonggol. Pada percobaan metode inokulasi ini, kemampuan bakteri endofit memperlambat munculnya gejala penyakit diduga disebabkan oleh adanya kemampuan antibiosis bakteri endofit terhadap BDB.

Metode inokulasi dengan pelukaan akar dan penyiraman suspensi BDB menyebabkan fase patogenesis BDB menimbulkan infeksi secara alami, karena patogen melalui fase patogenesis secara bertahap dan kontiniu sampai munculnya gejala penyakit. Hal ini memungkinkan bakteri endofit yang telah berada dalam jaringan tanaman dapat melakukan berbagai kemampuan antagonisnya (antibiosis, kompetisi, dan induksi ketahanan sistemik) terhadap BDB, dimulai dari tahap awal fase patogenesis BDB. Aktivitas antagonis bakteri endofit pada percobaan metode inokulasi ini dapat dilihat dari perbedaan periode inkubasi penyakit dan persentase kejadian penyakit darah dengan metode inokulasi sebelumnya.

Berdasarkan kemampuan dalam menekan kejadian penyakit darah melalui metode inokulasi BDB yang telah dilakukan, diketahui bahwa isolat EAL15, EKK10, EKK20, EKK22 mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai agensia pengendalian hayati penyakit darah pada tanaman pisang dengan tingkat penekanan kejadian penyakit sebesar 66,67 - 83,33%. Harish *et al.* (2008) melaporkan bahwa perlakuan kombinasi isolat bakteri endofit dan PGPR pada *plantlet* tanaman pisang mampu menekan kejadian penyakit *Banana bunchy top virus* sebesar 20 - 80%.

Tabel 3. Pengaruh bakteri endofit terhadap periode inkubasi penyakit, persentase kejadian penyakit, dan penekanan kejadian penyakit darah pada tanaman pisang Cavendish

Isolat Bakteri Endofit ^a	Metode inokulasi : Penginjeksian suspensi BDB pada bonggol			Metode inokulasi : Pelukaan akar dan penyiraman suspensi BDB		
	Periode inkubasi (hsi)	Kejadian penyakit (%)	Penekanan penyakit (%)	Periode inkubasi (hsi)	Kejadian penyakit (%)	Penekanan penyakit (%)
EAL02	6,83	100,00	0,00	11,97*	83,33	16,67
EAL09	6,33	100,00	0,00	14,17*	66,67	33,33
EAL11	8,00	100,00	0,00	14,00*	66,67	33,33
EAL14	7,25	100,00	0,00	13,44*	66,67	33,33
EAL15	10,50*	25,00*	75,00	11,00	16,67*	83,33
EAL20	7,00	100,00	0,00	11,11	83,33	16,67
EAL26	6,83	100,00	0,00	11,78*	75,00	25,00
EKK04	8,67*	100,00	0,00	12,67*	75,00	25,00
EKK07	9,50*	100,00	0,00	13,10*	83,33	16,67
EKK08	8,83*	100,00	0,00	12,75*	100,00	0,00
EKK10	10,00*	100,00	0,00	12,00*	33,33*	66,67
EKK11	6,94	91,67	8,33	11,86*	83,33	16,67
EKK13	8,83*	100,00	0,00	13,33*	66,67	33,33
EKK15	7,17	100,00	0,00	14,00*	66,67	33,33
EKK20	8,33	66,67*	33,33	12,40*	33,33*	66,67
EKK22	6,67	50,00*	50,00	15,17*	25,00*	75,00
EKK26	8,58*	100,00	0,00	13,28*	83,33	16,67
EKT02	6,00	100,00	0,00	12,22*	75,00	25,00
EKT03	7,58	100,00	0,00	12,22*	75,00	25,00
EKT04	8,42*	75,00*	25,00	12,44*	41,67*	58,33
EKT05	8,58*	100,00	0,00	13,81*	75,00	25,00
ERB04	8,67*	100,00	0,00	11,75*	100,00	0,00
ERB05	6,78	83,33	16,67	11,80*	66,67	33,33
ERB06	8,67*	100,00	0,00	10,89	75,00	25,00
ERB08	6,67	100,00	0,00	12,67*	75,00	25,00
ERB10	8,67*	100,00	0,00	13,33*	75,00	25,00
ERB16	9,42*	100,00	0,00	13,50*	66,67	33,33
ERN01	10,33*	100,00	0,00	14,17*	100,00	0,00
ERN05	9,67*	75,00*	25,00	12,06*	58,33*	41,67
ERU06	8,33	100,00	0,00	12,50*	100,00	0,00
Kontrol	6,33	100,00		9,80	100,00	

^a Isolat bakteri endofit : EAL (Endofit Ambon Lumut), EKK (Endofit Kepok Kuning), EKT (Endofit Kepok Tanjung), ERB (Endofit Raja Bulu), ERN (Endofit Raja Nangka), ERU (Endofit Raja Uli)

* Rataan selajur berbeda nyata dengan kontrol berdasarkan uji Dunnett pada taraf nyata 5 %

SIMPULAN

Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari akar tanaman pisang adalah 90 isolat, 33 isolat berasal dari pisang kepok, 31 isolat dari pisang raja, dan 26 isolat dari pisang ambon. Kerapatan populasi bakteri endofit berkisar antara $6,0 \times 10^3$ - $4,2 \times 10^5$ cfu/g berat basah akar. Sebanyak 27 isolat tersebut mempunyai kemampuan antibiosis terhadap BDB secara *in vitro*.

Bakteri endofit mampu meningkatkan pertumbuhan tinggi dan jumlah daun bibit pisang cavendish. Hasil seleksi bakteri endofit terhadap penyakit darah diperoleh 4 isolat bakteri endofit potensial untuk mengendalikan penyakit darah pada tanaman pisang yaitu : EAL15, EKK10, EKK20, dan EKK22 dengan tingkat penekanan kejadian penyakit sebesar 66,67 - 83,33%.

SANWACANA

Artikel ini merupakan bagian dari Disertasi pada Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Terima kasih kepada DP2M DIKTI yang membantu pendanaan penelitian ini melalui program Hibah Bersaing DIKTI tahun 2009-2010 dan Dr. Ir. Supriadi, M.Sc (Balitro Bogor) atas informasi dan sarannya dalam penelitian pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeline SYT, Sariah M, Jugah K, Son R & Gurmit S. 2008. Endophytic microorganisms as potential growth promoters of banana. *Biocontrol* 53 : 541-553.
- Bacon CW & Hinton DM. 2007. *Bacterial endophytes : The endophytic niche, its occupants, and its utility*. In: Gnanamanickam SS. Gnanamanicham (ed.). *Plant-Associated Bacteria*. Springer, Berlin. p. 155-194.
- Bashan Y & de-Bashan LE. 2005. *Bacteria, plant growth-promoting*. In : *Encyclopedia of Soil in The Environment*. (Editor-in-chief) D. Hiller, Elsevier Oxford UK. Pp. 103-115.
- Candrashekhara, Sathyanarayana N, Saligrama AD, Kestur NA, Nandini PS & Hunthrike SS. 2007. Endophytic bacteria from different plant origin enhance growth and induce downy mildew resistance in pearl millet. *Asian Journal of Plant Pathology* 1:1-11.
- Chen C, Bauske EM, Musson G, Rodriguez-Kabana R & Kloepper JW. 1995. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. *Biol. Control* 5 : 83-91.
- Habazar T & Rivai F. 2004. *Bakteri Patogenik Tumbuhan*. Andalas University Press. Padang.
- Hadiwiyono. 2010. Penyakit darah pada tanaman pisang : Infeksi dan keanekaragaman genetika pathogen. [Disertasi]. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF & Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43:895-914.
- Hallmann J. 2001. *Plant Interaction with Endophytic Bacteria*. In : Jeger MJ, Spence NJ. editor. *Biotic Interaction in Plant-Pathogen Associations*. CAB International.
- Harish S, Kavino M, Kumar N, Saravanakumar D, Soorianathasundaram K & Samiyappan R. 2008. Biohardening with plant growth promoting rhizosphere and endophytic bacteria induce systemic resistance against banana bunchy top virus. *Appl. Soil Ecology* 39:187-200.
- Harni R. 2010. Studi bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Stekhoven) pada tanaman nilam. [Disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hung PQ & Annapurna K. 2004. Isolation and characterization of endophyte bacteria in soybean (*Glycine* sp.). *Omnonrice* 12:92-101.
- Kado CI. 1992. *Plant Pathogenic Bacteria*. p. 659-674. In : Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH. (ed.) *The prokaryotes*, vol. I. Springer-Verlag, New York.
- Kasutjaningati. 2004. Pembiakan mikro berbagai genotip pisang (*Musa* spp.) dan potensi bakteri endofitik terhadap layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). [Tesis]. Bogor : Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Kavino M, Harish S, Kumara N, Saravanakumar D, Damodaranc T, Soorianathasundarama K & Samiyappan S. 2007. Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of systemic resistance of banana plantlets against bunchy top virus. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 1087-1098.
- Long HH, Furuya N, Karose D, Yamamoto I, Takeshi M & Takanami Y. 2004. Identification of the endophytic bacterial isolate and their *in vitro* and *in vivo* antagonist against *Ralstonia solanacearum*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 49 (2):233-241.
- Lyon G. 2007. *Agents that can elicit induced resistance*. In: Dale Walters, Adrian Newton, and Gary Lyon editor. *Induced Resistance for Plant Defence: Sustainable Approach to Crop Protection*. Blackwell Publishing.

- Madigan TM, Martinko JM & Parker J. 1997. *Brock: Biology of Microorganisms*. Eighth Edition. Prentice Hall International Inc. USA.
- Mourhofer M, Keel C, Haas D & Defago G. 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO with enhanced antibiotic production. *Plant Pathology* 44 : 40-50.
- Nawangsih AA. 2007. Pemanfaatan bakteri endofit pada pisang untuk pengendalian penyakit darah: Isolasi, uji penghambatan *in vitro* dan *in planta*. *J. Ilmu Pertanian Indonesia* 12 (1):43-49.
- Olmar BW, Celli RM, Ollin OV, Francisco COV & Valeria MO. 2007. Interaction of endophytic diazotrophic bacteria and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* on plantlets of banana 'Maca'. *Plant Soil* 298:47-56.
- Reinhold-Hurek B & Hurek T. 1998. Interactions of gramineous plants with *Azoarcus* spp. and other diazotrophs: Identification, localization, and perspectives to study their function. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 17:29-54.
- Rustam. 2007. Uji metode inokulasi dan kerapatan populasi *blood disease bacterium* pada tanaman pisang. *J. Hortikultura* 17 (4):387-392.
- Sessitsch A, Reiter B & Berg G. 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities. *Can. J. Microbiol* 50:239-249.
- Sinaga MS. 2006. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Cetakan ke-2. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sturz AV, Christie BR & Matheson BG. 1997. Associations of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy. *Can. J. Microbiol* 44:162-167.
- Supriadi. 2005. *Present Status of Blood Disease in Indonesia*. In : Allen C, Prior P, Hayward AC editor. *Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* complex*. Minnesota: APS Press. Pp. 395-404.
- Zinniel DK, Lambrecht P, Harris NB, Feng Z, Daniel K, Phyllis H, Carol AI, Alahari A, Raul GB & Anne KV. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *App Env Microbiol* 68: 2198-2208.