

**ISOLASI DAN UJI ANTIFUNGAL EKSTRAK METANOL, ETIL ASETAT
DAN N-HEKSANA BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TUMBUHAN MENTIGI (*Vaccinium
varingaefolium*)**

**ISOLATION AND ANTIFUNGAL TEST OF METHANOL EXTRACT, ETIL ASETAT
AND N-HEXANE OF ENDOPHYTE BACTERIA FROM ROOT of MENTIGI PLANT (*Vaccinium
varingaefolium*)**

Widya Lestari, Dwi Suryanto, Erman Munir

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan,
Indonesia 20155

E-mail: widya.chubby@yahoo.co.id

ABSTRACT

Many study that endophytic bacteria useful for plant by protection mechanism to parasitic disease and recovery plant morphology using metabolite producing. Many plants such as mentigi grow at extreme area in volcanic mount. This plant can be able to has specific metabolite producing endophytic bacteria. Research about plant endophytic at extreme area are still limited. The aim of this research to know plant endophytic frommentigi root in inhibiting pathogen fungi growing. plantendophytic bacteria isolation from mentigi root was done by root surface sterilization, cutting and cultivating on nutrient agar medium. Cell extraction was done using methanol, etil-asetat and n-heksana for two isolates. Antagonis test isolates and cell extract was done to some plant and fish pathogen fungus such as *Fusarium oxysporum*, *Ganoderma boninense*, *Rigidoporus microporus* and *Saprolegnia* sp. on potatoes dextrose agar contain 1% yeast extract. Isolates AW5 and AW6 have high potential in inhibiting plant pathogen fungi growing. Essay result extraction to plant pathogen fungi showed that methanol extract of isolate AW5 and AW6 have biggest potential in inhibiting pathogen fungi growing.

Keywords : *Endophytic bacteria, Vaccinium varingaefolium, Fusarium oxysporum, Ganoderma boninense, Rigidoporus microporus, Saprolegnia sp.*

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 fungi 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 (1983), 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). Mentigi (*Vaccinium varingaefolium*) merupakan tumbuhan yang dapat hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrim seperti kadar belerang yang tinggi, temperatur yang tinggi dan pH yang rendah. Lingga (2013) telah mengisolasi jamur endofit dari tumbuhan mentigi. Telaah lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui manfaat bakteri endofit yang ada pada tanaman tersebut seperti untuk mengetahui pengendalian hayati.

Bahan Dan Metode

Isolasi Bakteri Endofit Dari Akar Tumbuhan Mentigi

Isolasi bakteri endofit dari akar dan daun dilakukan dengan metode sterilisasi permukaan menurut metode Radu and 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 bakteri 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 aquadest steril, setelah kering bagian ujung kiri dan kanan akar dipotong 1 cm, kemudian masing-masing akar dipotong membujur dan diletakkan di permukaan media NA yang telah dicampur dengan antibiotik ketokonazole (0,3 g/100 ml) dengan posisi bekas potongan ke arah media, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Koloni yang muncul disubkultur ke media NA yang baru untuk dimurnikan.

Karakterisasi Bakteri Endofit Akar Tumbuhan Mentigi

Isolat bakteri yang diperoleh dari akar dikarakterisasi secara morfologi meliputi bentuk,

warna, elevasi dan tepi koloni, uji biokimia mencakup uji sitrat, uji katabolisme gula, uji motilitas, uji gelatin, uji katalase.

Uji Antifungal Bakteri Endofit Akar Tumbuhan Mentigi

Uji antagonis dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen seperti *F. oxysporum*, *G. boninense*, *Saprolegnia* sp. dan *R. microporus*. Biakan kultur jamur patogen yang sudah diremajakan diambil dengan *cork borer*, lalu diinokulasikan pada bagian tengah media modifikasi PDA + YE 1% 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 bakteri endofit terhadap jamur patogen, menggunakan metode difusi cakram kertas sesuai dengan metode Kirby-Baur (Mishra *et al.*, 2006; Kulsuntiwong *et al.*, 2008). Sebanyak 10 µl suspensi isolat bakteri endofit dengan kerapatan $\approx 10^8$ CFU/ml, diteteskan pada kertas cakram (Oxoid) yang berdiameter 0,6 cm. Selanjutnya uji antagonis dilakukan dengan cara meletakkan cakram tersebut pada 2 titik di tepi media PDA + YE 1 %, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Isolat bakteri endofit yang berpotensi antagonis ditunjukkan dengan adanya zona hambatan terhadap pertumbuhan miselium beberapa fungi patogen.

Ekstraksi Bahan Antifungal dari Isolat Bakteri Endofit

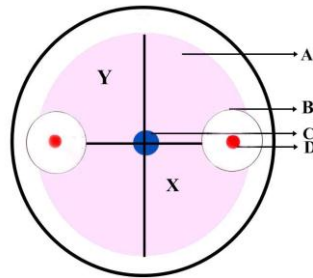
Ekstraksi metabolit sekunder bakteri endofit tanaman *V. varingaefolium* yang memiliki aktivitas antifungal dilakukan berdasarkan metode yang pernah dilakukan oleh Nofiani *et al.*, (2009) dan Suryanto *et al.*, (2012) yang dimodifikasi. Isolat bakteri antifungal yang paling potensial disebarkan pada media NA dan diinkubasi selama 5 hari. Media padat selanjutnya dipotong kecil-kecil dan direndam dengan metanol dalam erlenmeyer selama 72 jam dan dibungkus dengan kertas aluminium untuk menghindari kerusakan karena cahaya. Maserat diambil dengan cara disaring. Perendaman dilakukan sebanyak 3 kali. Semua maserat yang terkumpul disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipekatkan dengan menggunakan rotavorator dengan suhu tidak lebih dari 50°C untuk memperoleh ekstrak yang siap untuk digunakan. Metode yang sama

dilakukan terhadap pelarut n-heksana dan etil asetat.

Uji Antifungal Ekstrak Bakteri Endofit Berbagai Pelarut

Uji antibiotik ekstrak metanol, n-heksana, etil asetat bakteri endofit tanaman *V. varingaefolium*

digunakan media PDA + YE 1%. Biakan kultur jamur patogen berupa *F. oxysporum*, *G. boninense*, *Saprolegnia* sp. dan *R. microporus* diambil dengan *cork borer*, lalu diinokulasikan di bagian tengah media modifikasi PDA + YE 1% dengan jarak 3,5 cm dari cakram tempat inokulum bakteri, lalu diinkubasi pada suhu ruang selam 72 jam.



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

Pengamatan Struktur Hifa Abnormal

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengamati ujung miselium pada daerah zona hambat jamur. Ujung miselium jamur patogen yang tumbuh pada permukaan media PDA dipotong berbentuk bujur sangkar, diletakkan pada gelas objektif dan diamati di bawah mikroskop abnormalitas pertumbuhan miselium jamur patogen.

Untuk mendeteksi kandungan senyawa kimia dari ekstrak metanol, n-hexana, dan etil asetat isolat bakteri endofit dari akar *V. varingaefolium*, maka dilakukan analisis skrining fitokimia meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloida, flavanoida, terpenoid/steroida, tanin dan saponin menurut prosedur yang telah dilaporkan Harbone (1996). Ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksana yang telah diperoleh dari prosedur sebelumnya dideteksi dengan menggunakan metode fitokimia untuk uji pendahuluan agar diketahui kandungan senyawa pada ekstrak bakteri endofit yang dibuat, misalnya alkaloid, terpenoid, fenolik, flavonoid, steroid atau saponin.

Deteksi Kandungan Ekstrak Metanol, N-Hexana Dan Etil Asetat Isolat Bakteri Endofit Potensial Akar Tumbuhan Mentigi

Tabel 1. Metode Skrining Fitokimia menurut Harbone, 1987.

NO	UJI	PEREAKSI	HASIL	PERUBAHAN WARNA
1.	Fenolik	FeCl ₃ 1%	Positif	Terbentuk larutan warna hijau, biru, hitam
2.	Flavanoid	Mg-HCl	Positif	Merah jambu
3.	Alkaloid	Wagner, Mayer dan Dragendroff.	Positif	Terbentuk endapan
4.	Steroid	H ₂ SO _{4(p)} dan pereaksi LB (Lieberman_Burchad).	Positif	Terbentuk warna hijau kebiruan
5.	Saponin	Akuades	Positif	Terbentuk busa
6.	Tanin	FeCl ₃	Positif	Terbentuk warna hijau kebiruan, dan terbentuk endapan

Hasil Dan Pembahasan

Dari hasil isolasi dari sampel akar tumbuhan mentigi (*V. varingaefolium*) diperoleh 6 isolat bakteri: AW1, AW2, AW3, AW5, AW6, AW7 yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan jamur. Kemampuan menghambat isolat bakteri ditunjukkan dengan terhambatnya pertumbuhan jamur yang ada di sekitar koloni yang merupakan

suatu interaksi antagonis di antara mikroorganisme yang terdapat pada suatu lingkungan.

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:

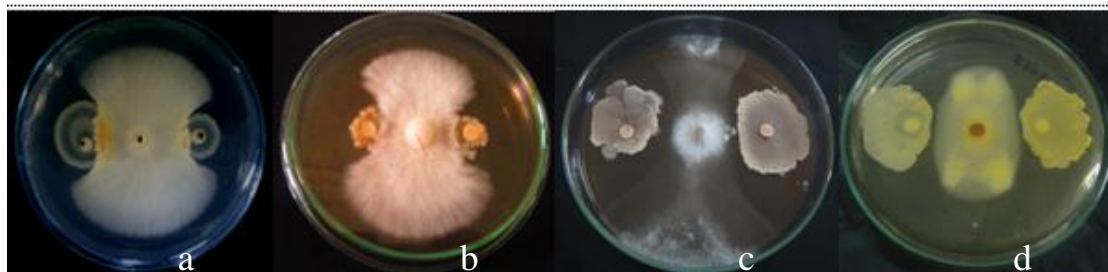
Tabel 2. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Isolat Bakteri Endofit

Isolat	Morfologi Koloni			Morfologi Sel			Gram
	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi	Bentuk	Penataan	
AW1	Krem	Tidak beraturan	Berbelah	cekung	Batang	Mono	+
AW2	Krem	Bulat	Rata	Datar	Kokus	Rantai	+
AW3	Putih	Tidak beraturan	Berbelah	Datar	Batang	Rantai	+
AW5	Krem	Serupa akar	Berbelah	Datar	Batang	Rantai	-
AW6	Kuning	Serupa akar	Berbelah	cekung	Batang	Mono	-
AW7	Krem	Tidak beraturan	Berbelah	Datar	Batang	Rantai	+

Kemampuan Antagonis Bakteri Endofit terhadap Fungi patogen Tanaman

Isolat bakteri yang berpotensi menghambat jamur pada tahapan isolasi, selanjutnya digunakan pada asai antagonis, untuk melihat kemampuannya

dalam menghambat pertumbuhan jamur. Jamur patogen yang digunakan yaitu: *F. oxysporum*, *G. boninense*, *R. microporus* dan *Saprolegnia* sp. Dasar pemilihan sampel yaitu mewakili beberapa jamur patogen penyebab penyakit pada tanaman.



Gambar 2. Kemampuan antagonis isolat bakteri endofit (a) Isolat AW5 terhadap *R. microporus* (b). Isolat AW6 terhadap *R. microporus* (c). Isolat AW5 terhadap *Saprolegnia* sp. (d). Isolat AW5 terhadap *F. oxysporum*.

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa zona hambat dari hasil uji antagonis antara bakteri endofit dengan jamur patogen berbeda beda. Hal ini mungkin disebabkan karena bakteri 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 bakteri memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba lain disebabkan karena bakteri 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 bakteri yang diujikan menunjukkan kemampuan menghambat jamur patogen *R. microporus*, *Saprolegnia* sp. dan *F. oxysporum* yang lebih besar dibandingkan dengan *G. 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 bakteri akan memasuki fase stasioner dan pada fase ini diduga terjadi

pembentukan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antifungi.

Bakteri yang memiliki kemampuan paling baik adalah bakteri AW5 dan AW6 yang dapat menghambat semua jamur patogen uji, sedangkan isolat AW1, AW2, AW3 dan AW7 hanya mampu menghambat pertumbuhan jamur *F. oxysporum* dan *R. microporus*. Menurut Bakri (2009), Isolat bakteri 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).

Tabel 3. Deskripsi Gejala Antagonis Yang Terjadi Antara Isolat Fungi

Kode Isolat	Fungi patogen yang dihambat	Gejala Antagonis
AW1	<i>R. microporus</i>	Pertumbuhan fungi patogen terhambat, hifa bengkok
AW2	<i>F. oxysporum</i>	Pertumbuhan fungi patogen terhambat, kering, dan menipis
AW3	<i>R. microporus</i>	Pertumbuhan fungi patogen terhambat
AW5	<i>F. oxysporum</i> <i>R. microporus</i> <i>G. boninense</i> <i>Saprolegnia</i> sp.	Pertumbuhan fungi patogen terhambat, hifa lisis, bengkok.
AW6	<i>F. oxysporum</i> <i>R. microporus</i> <i>G. boninense</i> <i>Saprolegnia</i> sp.	Pertumbuhan fungi patogen terhambat, hifa bengkok, menggulung dan lisis.
AW7	<i>F. oxysporum</i>	Pertumbuhan fungi patogen terhambat, hifa bengkok, dan lisis.

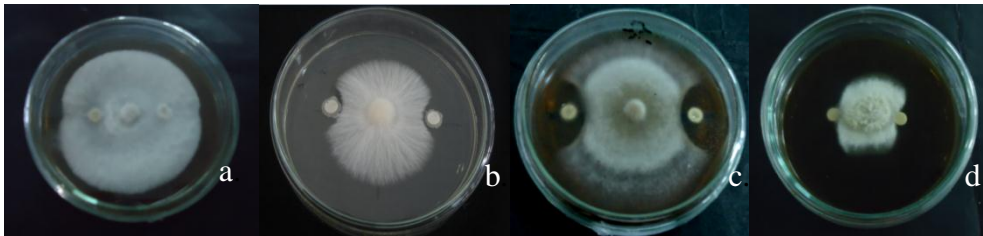
Mekanisme penghambatan agen hayati dalam menekan pertumbuhan patogen adalah melalui mekanisme mikoparasitisme. Proses mikoparasitik terdiri atas empat tahap yaitu pertumbuhan kemotropis, pengenalan (rekognisi), pelekatan dan pelilitan, dan lisis (Soesanto *et al.*, 2008).

Asai Ekstraks dengan Pelarut Metanol, N-hexana dan Etil Asetat

Dua isolat AW5 dan AW6 yang memiliki kemampuan menghambat paling besar selanjutnya digunakan untuk uji lanjut berupa ekstrak sel bakteri dengan 3 jenis pelarut yang berbeda.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksana. Semua ekstrak bakteri menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen uji.

Salah satu bentuk respon yang ditunjukkan bakteri adalah membentuk senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan terhadap serangan mikroba lain (Nofiani *et al.*, 2009). Ekstrak sel dari isolat AW5 dan AW6 ini memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. microporus*, *Saprolegnia* sp., *F. oxysporum* dan *G. boninense* dengan zona hambat yang berbeda beda dapat dilihat pada Gambar di bawah ini:



Gambar 3. Kemampuan Ekstrak metanol dalam menghambat pertumbuhan (a). Kontrol negatif *G. Boninense* dengan DMSO (b). *R. Microporus* (c) Kontrol Positif *Saprolegnia* sp. dengan nistatin (d). *F. oxysporum*.

Tabel 4. Asai Ekstrak dengan Pelarut Metanol, N-hexana dan Etil Asetat

Jamur uji	Konsentrasi Ekstrak (%)	Zona Hambat ekstrak (mm)					
		Metanol		Etil asetat		N-Hexana	
		AW5	AW6	AW5	AW6	AW5	AW6
<i>Rigidoporus microporus</i>	0	0	0	0	0	0	0
	40	8.20	11.00	9.21	1.10	3.52	5.20
	60	20.10	4.31	3.03	1.53	5.31	13.10
	80	26.3	14.00	3.53	1.72	0.73	14.60
	100	0	12.30	8.21	2.31	0.72	5.10
<i>Saprolegnia</i> sp.		14.21					
	0	0	0	0	0	0	0
	40	2.60	16.10	11.20	5.20	11.40	14.34
	60	3.50	21.2	10.63	13.1	15.13	19.71
	80	7.50	1	11.10	0	10.20	13.21
<i>Fusarium oxysporum</i>	100	6.20	5.60	12.30	14.6	7.10	6.63
			4.10		0		
					5.10		
	0	0	0	0	0	0	0
	40	7.00	0.40	0.67	0	0	0.82
<i>Ganoderma boninense</i>	60	12.00	0.70	1.52	1.60	1.60	3.31
	80	5.52	0.50	3.10	2.10	2.10	3.81
	100	7.62	0.60	3.72	1.73	1.73	4.75
	0	0	0	0	0	0	0
	40	13.5	11.70	1.70	2.67	4.41	4.83
	60	9	21.0	2.80	4.80	5.32	8.91
	80	2.11	0	4.30	8.71	8.31	10.83
	100	11.12	11.31	3.50	4.52	1,2	7.21
		4.53	10.00				

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa ekstrak bakteri AW5 dan AW6 memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen tanaman. Kemampuan ekstrak bakteri bervariasi

dalam membentuk zona hambat dari masing masing jamur patogen. Ekstrak metanol dari bakteri AW5 mampu menghambat *R. microporus* sebesar 26.30 mm pada konsentrasi 80% dan *G. boninense* 13.59

mm pada konsentrasi 40%. Ekstrak metanol dari bakteri AW6 mampu menghambat *Saprolegnia* sp. sebesar 21.21 mm pada konsentrasi 60% dan *G. boninense* sebesar 21.00 mm.

Ekstrak etil asetat dari bakteri AW5 memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 12.30 mm pada konsentrasi 100% dan 11.20 mm pada konsentrasi 40%. Ekstrak etil asetat bakteri AW6 memiliki kemampuan menghambat jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 13.10 mm pada konsentrasi 60% dan 14.60 mm pada konsentrasi 80%.

Ekstrak n- heksana bakteri AW5 mampu menghambat *Saprolegnia* sp. sebesar 15.13 mm dan 10.20 mm pada konsentrasi 60% dan 80%. Ekstrak n-heksana bakteri AW6 memiliki kemampuan menghambat jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 19.71 mm pada konsentrasi 60% dan *R. microporus* sebesar 14.60 mm pada konsentrasi 80%.

Koloni *R. microporus* mengalami penghambatan pertumbuhan yang ditandai dengan adanya cekungan di bagian tengah koloni jamur. Ekstrak metanol dari AW5 memiliki kemampuan yang besar dalam menghambat pertumbuhan *R. microporus*, *Saprolegnia* sp., *F. oxysporum* dan *G. boninense* dengan zona hambat terbesar berturut-turut 26,30 mm, 13,77 mm, 12 mm dan 13,59 mm. Hal ini mungkin karena pelarut metanol dapat melarutkan senyawa polar dan non polar yang merupakan metabolit sekunder dari bakteri tersebut sehingga rendemen yang paling besar jika dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-heksana. Hal ini dikarenakan kelarutan zat pada suatu pelarut sangat ditentukan oleh kemampuan zat tersebut membentuk ikatan.

Koloni *G. boninense* mengalami penghambatan pertumbuhan di sekitar cakram yang berisi ekstrak metanol fungsi yang mengakibatkan koloni *G. boninense* bentuknya tidak bulat lagi seperti bentuk normal. Penghambatan pertumbuhan juga terjadi pada koloni *F. oxysporum* di sekitar cakram yang berisi ekstrak metanol fungsi yang mengakibatkan bentuk koloni *F. oxysporum* berbentuk segi empat. Interaksi bakteri dengan *F. oxysporum* menyebabkan abnormalitas pada hifa jamur dibandingkan dengan hifa jamur yang normal, seperti membengkok dan melilit. Abnormalitas ini disebabkan karena bakteri antijamur menghasilkan senyawa yang dapat menghambat atau merusak struktur dari dinding sel hifa jamur sehingga akan mempengaruhi

pertumbuhan fungi patogen secara keseluruhan. Kondisi yang abnormal pada hifa *F. oxysporum* seperti hifa memiliki septa yang pendek, mengalami pembengkakan, percabangan, hifa yang transparan dan ada pembengkakan hifa yang tidak merata serta ujung hifa yang meruncing karena nekrosis karena terjadi kematian (Adriansyah 2002).

Besarnya zona hambat melebihi kontrol positif dengan antibiotik nistatin yang merupakan antibiotik yang komersil menunjukkan adanya potensi dari isolat untuk diteliti dan dikembangkan lebih lanjut untuk diisolasi senyawa metabolit sekunder berupa antimikroba atau mungkin antibiotik yang dihasilkan sehingga diharapkan dapat memberikan solusi untuk masalah resistensi. Adanya variasi besar zona hambat yang diperoleh mungkin disebabkan oleh perbedaan sifat yang dimiliki bakteri uji yang digunakan baik secara morfologi dan fisiologi. Selain itu, juga disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing isolat memiliki struktur kimia, komposisi dan kandungan/konsentrasi yang berbeda dengan antibiotik kontrol (Dharmawan *et al.* 2009).

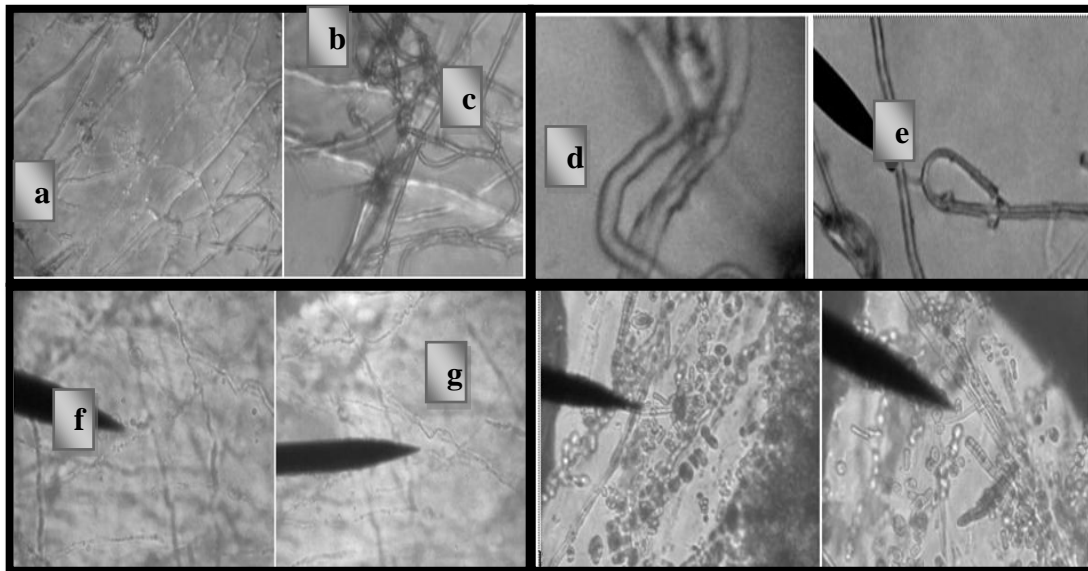
Dari hasil pengujian terhadap perlakuan pelarut, isolat dan konsentrasi dapat dilihat bahwa dari ketiga jenis ekstrak memiliki kemampuan yang berbeda beda dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen. Semua pengujian menggunakan ekstrak, metanol menunjukkan spektrum yang lebih luas dalam menghambat jamur uji dibandingkan etil asetat dan n-heksana. Dari semua mikroba uji yang digunakan, *R. microporus* merupakan jamur yang paling peka terhadap semua jenis ekstrak. Perbedaan efektifitas ekstrak dalam menghambat mikroba uji kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kelarutan senyawa aktif yang terkandung terhadap ketiga jenis pelarut. Adanya perbedaan polaritas antara senyawa aktif yang terkandung dengan pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa tersebut menyebabkan perbedaan efektifitas ekstrak yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian lain disebutkan bahwa metanol merupakan pelarut yang baik digunakan dalam metode ekstraksi suatu bahan, metanol juga menghasilkan rendemen yang lebih besar jumlahnya dibandingkan pelarut lain (Ahameethunisa & Hopper 2010; Khyade & Vaikos 2009). Di samping itu, penambahan atau penggunaan metanol pada saat maserasi akan menyebabkan pH ekstra sel menurun dan akan meningkatkan konsentrasi

proton di dalam sel (Purwoko, 2007). Konsekuensinya terjadi akumulasi proton di dalam sel yang dapat menyebabkan lisisnya sel sehingga senyawa metabolit yang ada berdifusi ke pelarut dan memperbesar kemungkinan ekstrak yang diperoleh lebih banyak.

Pengamatan Mikroskopik Hifa Abnormal Fungi Patogen Tanaman

Pengaruh ekstrak bakteri terhadap pertumbuhan hifa jamur *G. boninense*, *F. oxysporum*, *R. microporus* dan *Saprolegnia* sp. diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Hasil

pengamatan menunjukkan adanya abnormalitas bentuk hifa yaitu hifa menjadi bengkok, menggulung, pendek dan lisis. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang mengujikan bakteri dan jamur endofit terhadap *G. boninense* dan *F. oxysporum* menunjukkan bahwa pengaruh antagonis isolat potensial terhadap jamur patogen mengakibatkan abnormalitas terhadap hifa jamur tersebut. Abnormalitas hifa yang terjadi bisa dalam bentuk penyusutan, memendek, lisis, jumlah cabang terlalu banyak (Getha & Vikineswary, 2002), dan penurunan produksi spora (Bivi *et al.*, 2010; Bakri 2009).



Gambar. Hifa abnormal jamur *R. microporus* (a). Hifa lisis, (b). Hifa menggulung. Hifa abnormal jamur *G. Boninense*, (c). Hifa bengkok, (d). Hifa menggulung. Hifa abnormal jamur *F. oxysporum*, (E). Hifa lisis, (f). Hifa bengkok. Hifa jamur *Saprolegnia* sp., (h). Hifa mengecil dan (i). Hifa lisis.

Dari Gambar di atas dapat dilihat perubahan hifa *R. microporus*, *G. boninense* dan *F. oxysporum* dan *Saprolegnia* sp. yang terjadi akibat interaksi antara ekstrak bakteri dengan jamur patogen. Adanya aktivitas antagonisme yang kuat dari ekstrak bakteri dengan mekanisme hiperparasitisme dan antibiotik sehingga efektif menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman dengan mendegradasi dinding selnya. Hifa fungi patogen mengalami lisis, menggulung, mengecil dan bengkok. Lisis pada hifa menunjukkan bahwa ekstrak bakteri mampu menghidrolisis dinding sel *R. microporus*, *F. Oxysporum* dan *Saprolegnia* sp. (Simbolon, 2008).

Hifa fungi patogen yang mengalami mengecil dan menggulung diduga sebagai mekanisme pertahanan dari patogen terhadap serangan isolat.

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan

1. Diperoleh sedikitnya 6 isolat bakteri endofit dari tumbuhan Mentigi (*Vaccinium varingaefolium*) yang memiliki potensi dalam menghambat 4 jenis jamur patogen tanaman.
2. Isolat AW5 dan AW6 memiliki kemampuan yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan

jamur *R. microporus*, *Saprolegnia* sp. dan *F. oxysporum*.

3. Ekstrak metanol dari bakteri AW5 dan AW6 memiliki kemampuan yang lebih besar dan juga memiliki kisaran yang luas dalam menghambat jamur patogen dibandingkan ekstrak etil asetat dan n-heksana.

Daftar Pustaka

- Adriansyah A. 2002. Uji Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp. sebagai Antimikrobia Patogen Tanaman (*Fusarium oxysporum*) secara In Vitro. *Skripsi*. ITB. Bandung.
- Ahameethunisa AR, Hopper W. 2010. Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. *Research Article. BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:6
- Akbar, J. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Bunga Kecambah (*Nicolaia spesiosa* Horan) Terhadap Penyembuhan Infeksi Jamur *Saprolegnia* sp. Pada Ikan Nila Merah. 2008. *Kalimantan Scientiae*. 71: 26.
- Aniszewski T. 2007. Alkaloids- secret of life alkaloid chemistry, biological significance, *Applications and Ecological Role*. 1st Ed. Elsevier. UK. 155-156p.
- Athman, S.Y. 2006. Host endophyte pest interactions of Endophytic *Fusarium Oxysporum* Antagonistic to *Radopholus similis* in Banana (*Musa* spp.). University of Pretoria : South Africa.
- Baker KF & Cook RJ. 1974. The Nature dan Practice of Biological Control of Plant Pathogens. 3rd Edition: The American Phytopathological Society.
- Bakri, M. 2009. Isolasi dan uji kemampuan antifungal fungi endofit dari tanaman Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) terhadap fungi perusak makanan. *Skripsi*. USU. Medan.
- Berdy J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *Riview Article. J Antibiot* 58(1): 1-26.
- Bivi MR, Farhana MSN, Khairulmazmi A, Idris A. 2010. Control of *Ganoderma boninense*: A causal agent of basal stem rot disease in oil palm with endophyte bacteria *in vitro*. *Int J Agric Biol* 12(6): 833-839.
- Borodina I, Krabben P, Nielsen J. 2005. Genome-scale analysis of *Streptomyces coelicolor* A3(2) metabolism. *Genome Research*.15: 820-829.
- Cheng, F.R., Peter, F. S. 2009. *Vaccinium*. Flora of China Vol. 14. Published by Science Press (Beijing) and Missouri Botanical Garden Press. 476p.
- 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.
- Dharmawan IWE, Kawuri R, Parwanayoni MS. 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.
- Demain AL. 1998. Induction of Microbial Secondary Metabolism. *Review Article. Int Microbiol* 1: 259-264.
- Drew WL, Barry AL, O'Tool R, Sherris JC. 1971. Reliability of the Kirby-Bauer disc diffusion method for detecting methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol* 24(2): 240-247.
- Faure, D. 2002. The family-3 glycoside hydrolases: from housekeeping function to host-microbe interction. *Appl and Environ Microbiol* 64(4):1485-1490.
- Getha K, Vikineswary S. 2002. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4: indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *J Ind Microbiol Biotechnol* 28: 303-310.
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Terjemahan K, Padmawinata., I, Soediro., S, Niksolihin. Bandung: ITB.
- Harborne, J. 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hastuti AE. 2000. Sebaran penyakit akar putih (*Rigidoporus microporus* (Swatz) Van Ov.) pada tanaman teh (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze) di lapangan dan eksplorasi beberapa cendawan antagonis. *Skripsi*. IPB. Jurusan hama dan penyakit tumbuhan.
- Khyade MS, Vaikos NP. 2009. Phytochemical and antibacterial properties of leaves of

- Alstonia sholaris* R. Br. *Afr J Biotechnol* 8(22): 6434-6436.
- 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.
- Kloepper, J.W., Rodriguez-Kabana. Zehnder, R., Murphy, G.W., Sikora, J. and Fernandez, C. 1999. Plant root -bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Austral Plant Pathol* 28: 27-33.
- Kulsuntiwigong, P., Chomvarin, C., Chaicumpar, K., Namwat,W., Kaewkes, W., Mairiang,P. and Sangchan, A. 2008. Antimicrobial Susceptibility Of Helicobacter Pylori Isolated From Gastric Biopsies In Dyspeptic Patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 39 (6) : 1102-1109.
- Kurniawati, dkk. 2006. Perbandingan Potensi Antibakteri Ekstrak Air dengan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* NN-1-PKH secara *In Vitro*. http://pskh.ub.ac.id/wrp-con/uploads/2012/10/0811313018_SitiKurniawati.pdf. Diakses tanggal 26 juli 2013.
- Lechevalier, A. 2000. Screening for new antibiotic procedures: The selection of wild strains. In *The future of antibiotherapy and antibiotic research*. Ed. Academic Press. Sydney. Hlm. 88-375.
- Lingga, R. 2013. Keragaman Jamur Endofit Pada Mentigi (*Vaccinium varingaefolium*) Di Kawah Gunung Sinabung Sumatera Utara. Tesis Megister 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.
- Mishra, K.K., Srivastava, S., Garg, A., and Ayyagari, A. 2006. Antibiotic susceptibility of Helicobacter pylori clinical isolates: Comparative evaluation of disk-diffusion and E-test methods. *Cur Microbiol* 53: 329-334.
- Nasir, A., Muhammad, P., Sudjino., and Purnomo. 1994. Pengaruh gas belerang dari kawah-kawah di Dataran Tinggi Dieng terhadap struktur vegetasi dan fisiologi tumbuhan dominan di sekitar kawah. E- Journal. Universitas Gadjah Mada.
- Nofiani, R., Nurbetty, S., and Sapar, A. 2009. Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. E-Journal dan Teknologi kelautan Tropis. 1(2) : 33-41.
- Poeloengan, Masniari., Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn), (<http://digilib.litbang.depkes.go.id/files/disk1/74/jkpkbpbpk-gdl-grey-2011-masniaripo-3692-manggis-m-i.pdf>), diakses 26 Juli 2013.
- Price B, Adamidis T, Kong R, Champness W. 1999. *Streptomyces coelicolor* antibiotic regulatory gene, *absB*, encodes an RNase III homolog. *J Bacteriol* 181: 6142-6151.
- 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.
- Prasetyoputri, A., I. Atmosukarto. 2006. Mikroba endofit. *Bio Trends: Pusat penelitian Bioteknologi – LIPI. Cibinong*. 1(2): 13-15.
- 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.
- Robinson T.1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: K. Padmawinata. Edisi IV. Bandung: ITB Press.
- Schlegel GH. 1993. *General Microbiology*. Cambridge University Press. England.
- Simbolon, D.N. 2008. Kemampuan Antifungi Bakteri Endofit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* jacq.) Terhadap *Ganoderma boninense* pat. *Skripsi*. Departemen Biologi FMIPA USU. Medan.

- Strobel, G.A. and Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol and Mol Biol Review*. 491-502.
- Sudhanta, I. M., A. L. Abadi. 2007. Uji Efektivitas Beberapa Isolat Jamur Endofit Antagonistik Dalam Meningkatkan Ketahanan Induksi Beberapa Klon Vanili Terhadap Penyakit Busuk Batang. Diakses tanggal 1 Agustus 2013. <http://ntb.litbang.deptan.go.id/2007/TPH/ujiefektifivitas.doc>
- 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.
- Soesanto, L, Rokhlani, dan Nur Prihatiningsih. 2008. Beberapa mikroorganisme antagonis terhadap penyakit layu *fusarium gladiol. Agrivita*. 30(1):76-83.
- Susanna. 2000. Analisis keefektifan mikroorganisme antagonis dalam mengendalikan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* pada pisang (*Musa sapientum* L.). [Tesis]. Program Pascasarjana. Bogor: IPB.
- Susanto, A., Sudharto, P.S. and Purba, R.Y. 2005. Enhancing biological control of basal stem rot disease (*Ganoderma boninense*) in oil palm plantations. *Mycopathologia* 159: 153-157.
- Tan, R.X. and Zou, W.X. 2001. Endophytes: A rich of functional metabolites. *Nat Prod Rep*. 18: 448-459.
- Wright S.A, Zumoff CH, Schneider L, Beer SV. 2001. *Pantoea agglomerans* strainn Eh318 produces two antibiotics that inhibit *Erwinia amylovora* in vitro. *Appl Environ Microbiol* 67: 284-292.
- 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.