

POTENSI KULTUR CAMPURAN BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN BIBIT TANAMAN KARET

*The Potency of Mixed Culture of Endophytic Bacteria as Plant Growth Promoting for
Rubber Rootstock Growth*

Umi HIDAYATI^{1,2}, Iswandi Anas CHANIAGO², Abdul MUNIF²,
SISWANTO³, dan Dwi Andreas SANTOSA²

¹ Balai Penelitian Sembawa, Pusat Penelitian Karet
PO BOX 1127 Palembang 30001
Email : umihidayati123@gmail.com

² Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

³ Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia
Jl. Taman Kencana No.1 Bogor, 16151

Diterima : 19 Mei 2014 / Direvisi : 30 Mei 2014 / Disetujui : 21 Juni 2014

Abstract

Endophytic bacteria was bacteria living in plant tissue, and they can be isolated through sterilization of tissue surface. Isolation of endophytic bacteria from rubber plant that are potentially involved in enhancing growth is important to be carried out. Mixed cultures of endophytic bacteria are expected to increase the plant growth and improve the quality of rubber rootstocks. The objective of this experiment was getting mixed cultures of endophytic bacteria as plant growth promoting for rubber rootstocks. Five endophytic bacteria from rubber trees that had been known their potency as plant growth promoting, namely Bacillus cereus KPD6, Pseudomonas aeruginosa KPA32, Brachy bacterium paraconglomeratum LPD74, unknow bacterium LPD76, and Providencia vermicola KPA38, were tested in their compatibility to obtain the compatible mixed cultures that could enhance the growth of PB 260 rootstocks. All of the selected endophytic bacteria were compatible each other. Application of mixed cultures to improve rubber rootstocks growth gave the best results 2 mixed cultures. The first mixed cultures contains 2 bacterias, namely Brachy bacterium paraconglomeratum LPD74 and Providencia vermicola KPA38. The second mixed cultures contains 3 bacterias, namely Bacillus cereus KPD6, Pseudomonas aeruginosa KPA32, and Brachy bacterium paraconglomeratum LPD74. Endophytic bacteria were able to enter to planlet originated from micro cutting was proven by Scanning Electron Microscopy.

Keywords : *Endophytic bacteria, mixed culture, plant growth promoting, rubber rootstock.*

Abstrak

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman, dapat diisolasi melalui sterilisasi permukaan jaringan tanaman. Isolasi bakteri endofit dari tanaman karet yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan sangat penting dilakukan. Pembuatan kultur campuran dari bakteri endofit diharapkan meningkatkan potensi dalam memacu pertumbuhan yang dapat meningkatkan kualitas bibit batang bawah tanaman karet. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan kultur campuran bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan bibit tanaman karet. Lima bakteri endofit dari tanaman karet yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74, bacterium (bakteri tidak dikenal) LPD76, dan *Providencia vermicola* KPA38, diuji kompatibilitas untuk mendapatkan kultur campuran yang dapat meningkatkan pertumbuhan bibit batang bawah PB 260. Semua bakteri endofit terpilih kompatibel satu dengan yang lain. Aplikasi kultur campuran untuk meningkatkan pertumbuhan bibit batang bawah PB 260 memberikan hasil 2 kultur campuran terbaik. Kultur campuran 1 terdiri 2 spesies bakteri yaitu *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74 dan *Providencia vermicola* KPA38. Kultur campuran 2 terdiri 3 spesies bakteri yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, dan *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74. Bakteri endofit mampu masuk ke planlet bibit karet *microcutting* yang dibuktikan dengan *Scanning Electron Microscopy*.

Kata kunci : Bakteri endofit, kultur campuran, pemacu pertumbuhan, bibit tanaman karet

PENDAHULUAN

Tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.), pohon hutan yang asli dari hutan hujan tropis di Amerika Tengah dan Selatan merupakan sumber utama karet alam (Thomas dan Panikkar, 2000). Tanaman karet ditanam di Indonesia pada tahun 1876 yang berasal dari Brazil, dimana bahan tanam tersebut memiliki rata-rata produktifitas yang rendah berkisar 400kg/ha/th (Dijkman, 1951). Pada saat ini tanaman karet telah semakin luas ditanam pada berbagai kondisi agroklimat yang menandakan kemampuan beradaptasi dengan kondisi lingkungan. Tanaman karet sebagai tanaman alternatif untuk dikembangkan pada lahan bekas pertambangan. Tanaman karet sangat potensial, karet sebagai komoditas utama perkebunan merupakan sumber devisa US\$ 11.8 M (Balai Penelitian Sembawa, 2012) dengan produksi 2,73 juta ton dan areal karet Indonesia seluas 3,45 juta ha pada tahun 2010 (Ditjenbun, 2011).

Selain potensi sebagai penghasil lateks dan dapat dikembangkan secara luas, tanaman karet mengalami kendala seperti produktivitas yang rendah, matang sadap yang lama, penyakit tanaman karet, dan penyiapan bibit tanaman karet yang unggul. Kendala tersebut memberikan peluang untuk melakukan upaya dalam mengatasinya, salah satu upaya mengatasi masalah bibit dengan cara meningkatkan pertumbuhan agar diperoleh bibit yang unggul untuk ditanam di perkebunan karet. Upaya untuk meningkatkan pertumbuhan dengan aplikasi bakteri endofit yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan.

Pada saat ini eksplorasi mikrob untuk berbagai kepentingan terutama di bidang pertanian telah banyak dikembangkan, bukan hanya mikrob di rizosfer, tetapi juga mikrob di dalam tanaman (endofit) yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hallmann *et al.* (1997) mendefinisikan bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman, dapat diisolasi melalui sterilisasi permukaan jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit sebagai organisme yang hidup berasosiasi dengan tanaman dalam seluruh atau sebagian siklus hidupnya. Mikrob di dalam tanaman (endofit)

berpotensi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dan pengendalian hama penyakit. Kebanyakan dari bakteri endofit adalah menguntungkan, karena mampu sebagai agen biokontrol, dan pemacu pertumbuhan karena dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan hormon pemacu pertumbuhan (Bacon dan Hinton, 2007). Endofit, mikrob yang berada dalam jaringan tanaman hidup, berpotensi sumber produk alami baru untuk bidang kedokteran, pertanian, dan industri. Endofit bermanfaat antara lain untuk produk mikrob endofit sebagai antibiotik, senyawa antiviral, antibiotik volatile, sedangkan produk cendawan endofit sebagai antikanker. Produk dari endofit dapat digunakan sebagai insektisida maupun agen antidiabetes (Strobel dan Daisy, 2003).

Hasil penelitian Elbeltagy *et al.* (2001) menyatakan bahwa beberapa jenis bakteri endofit seperti *Azospirillum*, *Enterobacter cloacae*, *Alcaligenes*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Ideonella dechlorantans*, dan *Azoarcus* sp. telah terbukti meningkatkan fiksasi N₂ pada tanaman padi. Penelitian Mendes *et al.* (2007) memberikan hasil bahwa bakteri endofit yang ditemukan dalam akar dan batang tanaman tebu menghasilkan hormon pemacu tumbuh IAA (*Indole Acetic Acid*), dan populasi bakteri endofit ditemukan lebih tinggi pada akar, isolat yang diperoleh dari genus *Burkholderia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, dan *Microbacterium*.

Bakteri endofit dapat berfungsi meningkatkan pertumbuhan dengan perannya sebagai PGPB (*Plant Growth Promoting Bacteria*), seperti pernyataan Bashan dan Bashan (2005) bahwa PGPB meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan dua cara yang berbeda: (1) mereka langsung mempengaruhi metabolisme tanaman dengan menyediakan zat yang dibutuhkan tanaman. Bakteri ini mampu memfiksasi N₂, meningkatkan kelarutan fosfat dan ketersediaan zat besi, menghasilkan hormon pemacu tumbuh, seperti auksin, giberelin, sitokinin, etilen, dan asam absisik. Selain itu, mereka meningkatkan toleransi tanaman terhadap stres, seperti kekeringan, salinitas tinggi, dan toksisitas logam. Satu atau lebih dari mekanisme ini berkontribusi untuk

peningkatan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Namun, bakteri ini tidak meningkatkan kapasitas genetik tanaman, karena bahan genetik tidak ditransfer. Selanjutnya (2) kelompok kedua PGPB, disebut sebagai PGPB-biokontrol, secara tidak langsung meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan mencegah efek buruk dari mikroba patogen (bakteri, jamur, dan virus). Mereka menghasilkan zat yang membahayakan atau menghambat mikroba lain, tetapi tidak menghambat pertumbuhan tanaman, dengan membatasi ketersediaan besi untuk patogen atau dengan mengubah metabolisme tanaman inang untuk meningkatkan ketahanan terhadap patogen yang menginfeksi. Beberapa bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan pohon hutan seperti pinus sampai pohon di daerah kering seperti kaktus. Bakteri endofit, seperti *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus sp.* dapat berfungsi sebagai PGPB-biokontrol mengendalikan patogen *Fusarium* tanah di kapas, *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium*.

Hormon pemacu tumbuh terdiri dari lima golongan yaitu auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat, dan etilen. Hormon pemacu tumbuh adalah zat endogen maupun eksogen yang dapat mengubah pertumbuhan tanaman. Auksin berfungsi merangsang pembesaran sel, pertumbuhan akar, pembungaan, dan mencegah gugur buah, dapat berupa *Indole Acetic Acid* (IAA), *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), 2,4-D, CPA. Etilen adalah hormon yang berupa gas yang dalam kehidupan tanaman berperan aktif dalam proses pematangan buah. Giberelin/asam giberelat (GA) adalah hormon untuk memicu munculnya bunga dan pembungaan yang serempak. Sitokinin berfungsi merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis, sintesis pada ujung akar, dan ditranslokasi melalui pembuluh xylem, dapat berupa Kinetin, Benziladenin (BA), 2I-P, Zeatin, Thidiazuron, dan PBA. Asam absisat (ABA) berperan dalam mengompakkan pertumbuhan batang, merangsang pertumbuhan tunas anakan dengan cepat dan serentak (Wattimena, 1987).

Sedangkan penelitian yang berkaitan dengan hormon tumbuh pada tanaman karet telah dilakukan, antara lain hasil penelitian Siagian *et al.* (1995) menyatakan

bahwa penggunaan IAA 1000ppm, IBA 2000ppm, dan NA 1000ppm dapat meningkatkan keberhasilan perakaran cangkokan tanaman karet sebesar 28,9%, 21,1%, dan 26,8% dibandingkan kontrol. Husny *et al.* (1986) menyatakan bahwa pemberian IBA pada bibit batang bawah tanaman karet dapat meningkatkan persentase mata okulasi yang pecah, tinggi tanaman, diameter batang dan jumlah akar dengan dosis optimum 2000-3000ppm, sedangkan GA3 dapat meningkatkan pecah mata okulasi dan tinggi tanaman. Beberapa hormon pemacu tumbuh seperti IAA, GA3, BA telah dicoba untuk diketahui pengaruhnya terhadap kecepatan pemulihan kulit pada bidang sadap, produksi karet kering, dan Kadar Karet Kering. Hasil penelitian menunjukkan pemakaian IAA mempercepat pertumbuhan jumlah pembuluh lateks, tebal kulit dan meningkatkan produksi berat kering (Siagian *et al.*, 1985). Bakteri yang diisolasi dari akar tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.), diinokulasikan dalam medium *Kings B* yang mengandung *L-tryptophan* dan diinkubasi selama 6 hari, kemudian dilakukan analisis konsentrasi IAA (*Indole Acetic Acid*) dan diperoleh hasil bakteri dari perakaran karet mampu memproduksi IAA (Maslahat dan Suharyanto, 2005).

Penelitian mikroba endofit dari tanaman karet antara lain cendawan endofit dari daun dan *sapwood* (kulit sadapan) tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) diperoleh keragaman cendawan endofit, sebanyak 175 isolat, dengan cendawan endofit paling dominan *Ascomycota*, sedangkan cendawan endofit yang banyak terisolasi *Penicillium*, *Pestalotiopsis* dan *Trichoderma*. Keanekaragaman cendawan endofit lebih besar ditemukan di kulit sadapan dari pada di daun, namun frekuensi kolonisasi cendawan endofit lebih tinggi pada daun dibandingkan dengan kulit sadapan (Gazis dan Chaverri, 2010).

Isolasi bakteri endofit dari tanaman karet yaitu penelitian Setyawan (2010) diperoleh isolat bakteri endofit dari tanaman karet HR-1, HR-2, HR-3, dan HR-4 (isolasi dari akar) dan HR-5, HR-7, HR-10, dan HR-11 (isolasi dari daun) memiliki potensi sebagai antagonis terhadap penyakit jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*) yang menyerang perakaran tanaman karet.

Aplikasi bakteri endofit ke tanaman karet dengan metode penyiraman ke akar tanaman lebih baik dibandingkan penyemprotan ke daun tanaman karet.

Kultur campuran bakteri endofit dapat memberikan manfaat lebih dibandingkan aplikasi tunggal bakteri endofit pada bibit tanaman karet sehingga meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman karet. Hasil penelitian Gofar *et al.* (2008) memperoleh dua konsorsium bakteri endofit yang konsisten memacu pertumbuhan tanaman dan meningkatkan serapan Nitrogen tanaman padi dan hasil identifikasi bakteri memperoleh konsorsium I₁ terdiri *Pseudomonas fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Enterobacter aerogenes*, sedangkan konsorsium I₂ terdiri dari *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas diminuta*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Burkholderia cepacia*.

Hasil isolasi bakteri endofit dari tanaman karet memiliki potensi untuk sebagai pemacu pertumbuhan. Pembuatan kultur campuran dari bakteri endofit diharapkan meningkatkan potensi dalam memacu pertumbuhan yang dapat meningkatkan kualitas bibit tanaman karet. Pertumbuhan bibit yang cepat dan efisien dalam pemupukan sangat diharapkan untuk menunjang pembangunan perkebunan karet. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan kultur campuran bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan bibit batang bawah tanaman karet.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di di Laboratorium Proteksi Tanaman, Laboratorium Fisiologi, dan Laboratorium Tanah Balai Penelitian Sembawa di Sembawa, Banyuasin III, Banyuasin, Sumatera Selatan. Selain itu juga dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, dan Laboratorium Nematologi Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor di Kampus Dramaga, Bogor, Jawa Barat. Penelitian juga dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Lingkungan di *Indonesian Center for Biodiversity and Biotechnology* di Situgede, Bogor, Jawa

Barat. Penelitian dilakukan mulai November 2012 sampai dengan April 2013.

Dalam penelitian ini digunakan 5 bakteri endofit terseleksi yang diisolasi dari klon karet IRR 39 dan IRR 118 yang berproduksi (tanaman menghasilkan dengan tahun tanam 2002) dari jaringan daun dan akar tanaman karet. Lima bakteri endofit tersebut yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74, bacterium (bakteri tidak dikenal) LPD76, dan *Providencia vermicola* KPA38 (Tabel 1). Lima bakteri terseleksi memiliki kemampuan penambatan N₂ berkisar 2,843 - 4,230 nmol C₂H₄/μL/jam, menghasilkan hormon IAA berkisar 28,167 - 119 μg/mL, giberelin berkisar 7,5-60 μg/mL, dan sitokinin (zeatin) berkisar 0,012-0,025 μg/mL dan sitokinin (kinetin) berkisar 0,004-0,029 μg/mL (Hidayati *et al.*, 2014).

Selanjutnya pada penelitian ini dilakukan pengujian kompatibilitas dari beberapa kombinasi 5 bakteri endofit tersebut. Bakteri endofit dan kultur campuran bakteri endofit diaplikasikan pada bibit batang bawah tanaman karet untuk mendapatkan kultur campuran yang terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman karet. Selain itu dilakukan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) untuk membuktikan kemampuan bakteri endofit untuk masuk ke dalam planlet karet.

Pengujian kompatibilitas antar bakteri endofit terpilih

Pengujian kompatibilitas 5 bakteri endofit dibutuhkan untuk membuat kultur campuran bakteri endofit. Seandainya diantara bakteri endofit ternyata kompatibel, maka dapat digunakan bersamaan dalam kultur campuran. Pengujian kompatibilitas dilakukan dengan menumbuhkan 2 jenis bakteri endofit yang digoreskan lurus pada 2 sisi dalam cawan petri yang telah berisi *Nutrient Agar*. Selanjutnya diinkubasikan selama 24-72 jam, kemudian diamati seandainya terbentuk zona bening menandakan ada antagonis diantara bakteri endofit tersebut, sehingga tidak dipilih. Jika tidak terbentuk zona bening yang berarti bakteri endofit tersebut kompatibel satu dengan yang lainnya, maka dipilih. Hal serupa juga dilakukan untuk pengujian kompatibilitas dari 3 bakteri endofit.

Tabel 1. Lima bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman karet
 Table 1. Five endophytic bacterias were isolated from rubber plant

Bakteri endofit <i>Endophytic bacteria</i>	Diisolasi dari tanaman karet <i>Isolated from rubber plant</i>		
	Klon <i>Clone</i>	Pohon <i>Tree</i>	Bagian tanaman <i>Part of tree</i>
<i>B. cereus</i> KPD6	IRR 39	produksi	daun
<i>P. aeruginosa</i> KPA32	IRR 39	produksi	akar
<i>B. paraconglomeratum</i> LPD74	IRR 118	produksi	daun
bacterium (bakteri tidak dikenal) LPD76	IRR 118	produksi	daun
<i>P. vermicola</i> KPA38	IRR 39	produksi	akar

Sumber (Source) : Hidayati *et al.*, 2014

Pengujian kultur campuran bakteri endofit untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman karet

Pengujian kemampuan kultur campuran bakteri endofit untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman karet, menggunakan biji karet klon PB 260. Perendaman biji karet ke dalam suspensi kultur campuran bakteri endofit. Kultur campuran bakteri endofit dibiakkan dalam media NB yang disaker selama 24 jam, diukur tingkat kekeruhannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm hingga diperoleh *Optical Density* (OD) 0,25 yang setara kerapatan bakteri $\pm 10^8$ cfu/ml. Setelah biji tanaman karet PB 260 direndam dalam suspensi kultur campuran bakteri endofit selama 24 jam, lalu disemai pada media tanah steril. Media tanah yang digunakan, disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 Atm selama 20 menit. Setiap perlakuan isolat bakteri endofit diulang 4 kali, dan kontrol biji tanaman karet klon PB 260 hanya direndam dalam akuades steril. Biji tanaman karet ditumbuhkan selama satu bulan setelah berkecambah, dan diamati pertumbuhannya dengan tinggi tanaman. Setelah satu bulan dari berkecambah, bibit yang tumbuh dibongkar dan panjang trubus (*upper part*) dan akar, serta diukur berat basah dan berat kering bibit tanaman karet.

Skoring dilakukan untuk menentukan kultur campuran terbaik. Skor diperoleh dari perkalian parameter pengukuran dengan persen bobot nilai tiap parameter. Bobot nilai panjang trubus dan panjang akar 15%, sedangkan bobot nilai untuk bobot basah biomasa 20%,

selanjutnya bobot nilai untuk bobot kering biomasa 30%. Selanjutnya panjang trubus dikalikan bobot nilainya (15%), panjang akar dikalikan bobot nilainya (15%). Sedangkan bobot basah biomasa dikalikan bobot nilainya (20%), dan bobot kering biomasa dikalikan bobot nilainya (30%). Selanjutnya hasil perkalian 4 parameter tersebut dijumlahkan. Penentuan kultur campuran berdasarkan 10% terbaik dari 25 perlakuan aplikasi bakteri endofit dan kultur campuran, diperoleh 2 kultur campuran yang memiliki skor tertinggi.

Pengamatan Scanning Electron Microscopy

Pengamatan menggunakan SEM untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman. Suspensi bakteri endofit diinokulasikan pada planlet bibit karet hasil *microcutting* yang merupakan produk dari Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. Setelah 24 jam, planlet dipotong 2 – 5 mm, kemudian difiksasi dan direndam dengan pewarna selama 2 hari pada suhu 37°C. Selanjutnya didehidrasi menggunakan etanol, kemudian dibekukan dalam wadah tembaga. Kemudian dicairkan dan dibilas etanol, selanjutnya diletakkan pada alat pengering bertekanan. Selanjutnya setelah kering dilapisi emas dalam mesin pengering. Sampel kemudian diamati dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*), untuk melihat gambar jaringan tanaman dan bakteri endofit dan dipilih untuk difoto (Musetti dan Favali, 2004). Pengamatan SEM dilakukan di Laboratorium Mikroskop Elektron di Bidang Zoologi Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian kompatibilitas terhadap 5 bakteri endofit yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74, bacterium (bakteri tidak dikenal) LPD76, dan *Providencia vermicola* KPA38, menunjukkan hasil positif semua pasangan yang berarti kompatibel (Tabel 2) dengan tidak terbentuk zona bening pada pertemuan 2 dan 3 bakteri endofit yang diuji.

Pada Gambar 1 (a) terlihat hasil pengujian kompatibilitas 2 spesies bakteri endofit yaitu *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74 dan *Providencia vermicola* KPA38 (pasangan nomer 14) tidak terdapat zona bening pada pertemuan 2

spesies bakteri yang digoreskan. Pada Gambar 1 (b) memperlihatkan hasil pengujian kompatibilitas 3 spesies bakteri endofit yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, dan *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74 (pasangan nomer 16) tidak terdapat zona bening pada pertemuan 3 spesies bakteri yang digoreskan. Hal ini menunjukkan bahwa antara species bakteri tersebut saling bersesuaian (kompatibel) dan dapat digunakan sebagai kultur campuran. Hal ini seperti dinyatakan oleh Putra (2011) bahwa pembuatan formulasi yang mengandung lebih dari satu jenis mikroba, terlebih dahulu diperlukan adanya kajian mengenai kompatibilitas mikroba tersebut, hal ini untuk mengetahui mikroba yang digunakan tidak memiliki sifat antagonis antar keduanya.

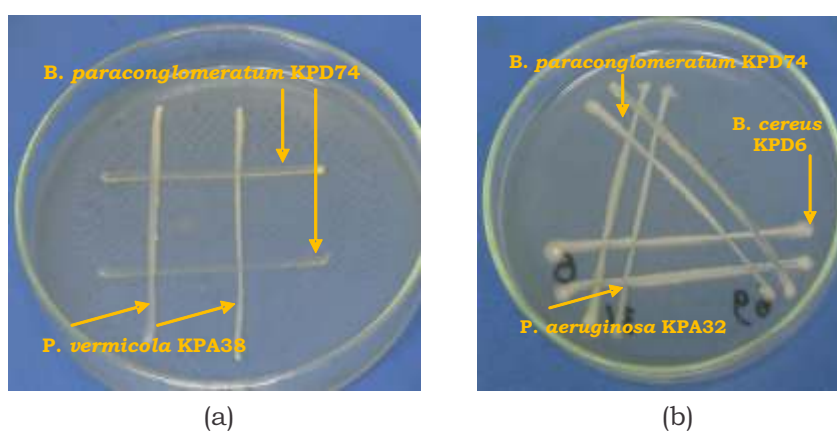
Tabel 2. Pengujian kompatibilitas terhadap 5 bakteri endofit
Table 2. Compatibility test on 5 endophytic bacteria

No	Bakteri endofit <i>Endophytic bacteria</i>		Uji kompatibilitas <i>Compatibility test</i>	
1	<i>B. cereus</i>			
2	<i>P. aureginosa</i>			
3	<i>B. paraconglomeratum</i>			
4	bacterium			
5	<i>P. vermicola</i>			
6	<i>B. cereus</i>	<i>P. aureginosa</i>	+	
7	<i>B. cereus</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	+	
8	<i>B. cereus</i>	bacterium	+	
9	<i>B. cereus</i>	<i>P. vermicola</i>	+	
10	<i>P. aureginosa</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	+	
11	<i>P. aureginosa</i>	bacterium	+	
12	<i>P. aureginosa</i>	<i>P. vermicola</i>	+	
13	<i>B. paraconglomeratum</i>	bacterium	+	
14	<i>B. paraconglomeratum</i>	<i>P. vermicola</i>	+	
15	bacterium	<i>P. vermicola</i>	+	
16	<i>B. cereus</i>	<i>P. aureginosa</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	+
17	<i>B. cereus</i>	<i>P. aureginosa</i>	bacterium	+
18	<i>B. cereus</i>	<i>P. aureginosa</i>	<i>P. vermicola</i>	+
19	<i>B. cereus</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	bacterium	+
20	<i>B. cereus</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	<i>P. vermicola</i>	+
21	<i>B. cereus</i>	bacterium	<i>P. vermicola</i>	+
22	<i>P. aureginosa</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	bacterium	+
23	<i>P. aureginosa</i>	<i>B. paraconglomeratum</i>	<i>P. vermicola</i>	+
24	<i>P. aureginosa</i>	bacterium	<i>P. vermicola</i>	+
25	<i>B. paraconglomeratum</i>	bacterium	<i>P. vermicola</i>	+

Keterangan : (+) hasil pengujian kompatibel
Remarks : (+) the test result shows compatible

Selanjutnya aplikasi 25 perlakuan bakteri untuk meningkatkan pertumbuhan bibit karet klon PB 260. Perendaman biji PB 260 dengan suspensi bakteri, kemudian biji disemai pada tanah steril, setelah tumbuh sampai stadia pancing dipindahkan pada gelas plastik berisi tanah steril dan dipelihara selama 1 bulan. Bibit dipanen setelah 1 bulan dan memperoleh data rata-rata panjang tanaman trubus (*upper part*) dan akar, berat basah, serta berat kering biomassa. Kemudian dilakukan skoring, untuk panjang 15%, berat basah 20%, dan berat kering 30% (Tabel 3). Selanjutnya

dipilih 10% hasil tertinggi dari 25 perlakuan aplikasi terbaik dari aplikasi bakteri endofit dan kultur campuran bakteri endofit, yaitu 2 pasang kultur campuran. Diperoleh hasil skoring tertinggi 9,32 untuk kultur campuran 1 (nomer 14) yang terdiri 2 spesies bakteri endofit yaitu *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74 dan *Providencia vermicola* KPA38. Sedangkan kultur campuran 2 (nomer 16) yang terdiri 3 spesies bakteri endofit yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, dan *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74 dengan hasil skoring 9,22.



Gambar 1. Pengujian kompatibilitas bakteri endofit pada media NA, (a) pengujian kompatibilitas *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74 dan *Providencia vermicola* KPA38, (b) pengujian kompatibilitas *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, dan *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74

Figure 1. Compatibility test of endophytic bacteria on NA medium, (a) compatibility test of *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74 and *Providencia vermicola* KPA38, (b) compatibility test of *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, and *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74

Perlakuan bakteri memberikan pengaruh pertumbuhan pada bibit tanaman karet, seperti diungkapkan oleh Malik *et al.* (1997) bahwa bakteri diketahui dapat mengubah morfologi akar dan meningkatkan biomasanya juga memungkinkan mengeksplorasi lebih dalam pengambilan nutrisi tanah.

Penelitian ini memperoleh 2 pasang kultur campuran yang kompatibel yang mampu meningkatkan pertumbuhan bibit PB 260 yaitu kultur campuran 1 terdiri 2 pasang spesies bakteri yaitu

Brachybacterium paraconglomeratum LPD74 dan *Providencia vermicola* KPA38 dan kultur campuran 2 terdiri 3 spesies bakteri yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, dan *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74.

Pengamatan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) terhadap bakteri endofit *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74 yang diinokulasikan pada planlet bibit karet hasil *microcutting* yang merupakan produk dari Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, seperti terlihat pada

Tabel 3. Rata-rata panjang trubus dan akar, berat basah dan berat kering biomasa, serta hasil scoring

Table 3. Average of upper part and root length, wet and dry weight of biomass, and scoring result

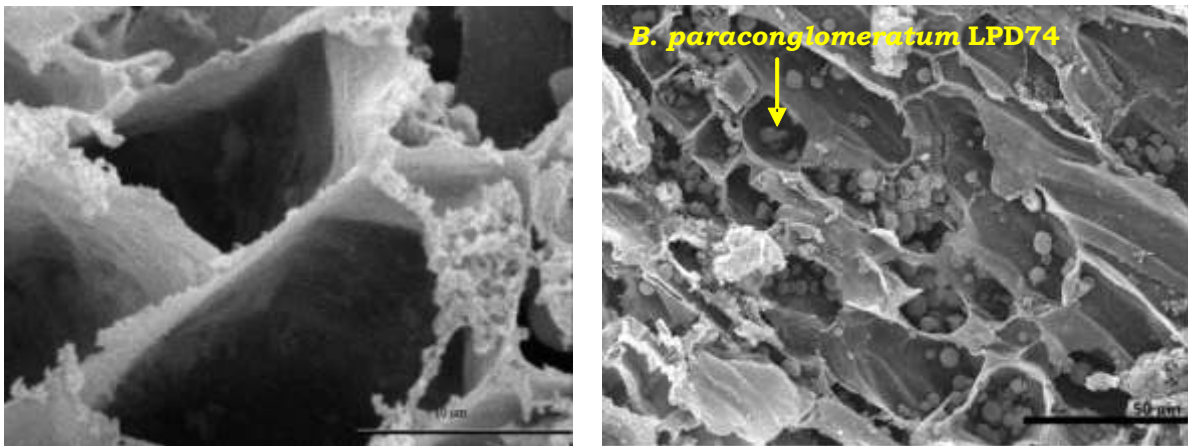
Kode Code	Rata-rata panjang Trubus		Rata-rata panjang akar		Rata-rata berat basah		Rata-rata berat kering		Total Skor
	Average of upper part length (cm)	Skor Score 15%	Average of root length (cm)	Skor Score 15%	Average of wet weight (g)	Skor Score 20%	Average of dry weight (g)	Skor Score 30%	Total Score
K	27.95	4.19	9.45	1.42	2.35	0.47	0.55	0.16	6.24
1	41.38	6.21	6.58	0.99	2.73	0.55	0.65	0.20	7.93
2	37.98	5.70	15.28	2.29	3.76	0.75	0.68	0.20	8.94
3	34.08	5.11	5.48	0.82	2.30	0.46	0.56	0.17	6.56
4	34.83	5.22	12.38	1.86	2.50	0.50	0.66	0.20	7.78
5	37.85	5.68	8.65	1.30	2.95	0.59	0.64	0.19	7.76
6	28.28	4.24	8.93	1.34	1.73	0.35	0.40	0.12	6.04
7	34.45	5.17	9.98	1.50	2.35	0.47	0.34	0.10	7.23
8	33.75	5.06	10.70	1.61	2.58	0.52	0.48	0.14	7.33
9	28.90	4.34	10.58	1.59	1.93	0.39	0.21	0.06	6.37
10	34.93	5.24	10.45	1.57	2.52	0.50	0.57	0.17	7.48
11	33.83	5.07	11.20	1.68	2.81	0.56	0.73	0.22	7.53
12	31.43	4.71	12.48	1.87	2.98	0.60	0.45	0.14	7.32
13	31.13	4.67	12.13	1.82	2.59	0.52	0.59	0.18	7.18
14	35.90	5.39	20.95	3.14	2.90	0.58	0.69	0.21	9.32
15	37.40	5.61	15.63	2.34	3.08	0.62	0.60	0.18	8.75
16	40.63	6.09	15.53	2.33	2.88	0.58	0.75	0.23	9.22
17	30.75	4.61	5.65	0.85	2.03	0.41	0.38	0.11	5.98
18	28.48	4.27	12.80	1.92	2.13	0.43	0.32	0.10	6.71
19	40.73	6.11	13.48	2.02	3.29	0.66	1.05	0.32	9.10
20	33.65	5.05	10.80	1.62	2.29	0.46	0.37	0.11	7.23
21	31.80	4.77	10.23	1.53	2.22	0.44	0.48	0.14	6.89
22	31.23	4.68	14.70	2.21	2.45	0.49	0.40	0.12	7.50
23	31.78	4.77	7.75	1.16	2.55	0.51	0.70	0.21	6.65
24	32.78	4.92	8.03	1.20	2.17	0.43	0.43	0.13	6.68
25	22.70	3.41	9.55	1.43	1.40	0.28	0.23	0.07	5.19

Gambar 2. Terlihat bakteri endofit yang masuk dalam jaringan tanaman planlet, membuktikan kemampuan bakteri endofit untuk hidup dalam jaringan tanaman, sedangkan kontrol tanpa perlakuan inokulasi bakteri endofit tidak terlihat adanya bakteri dalam jaringan tanaman.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pengujian kompatibilitas terhadap *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas aeruginosa* KPA32, *Brachy bacterium*

paraconglomeratum LPD74, bacterium (bakteri tidak dikenal) LPD76, dan *Providencia vermicola* KPA38 dalam 25 perlakuan memberikan hasil positif yang berarti kompatibel terhadap pasangannya. Aplikasi kultur campuran untuk meningkatkan pertumbuhan bibit PB 260 memberikan hasil 2 kultur campuran terbaik yaitu kultur campuran 1 terdiri 2 spesies bakteri endofit yaitu *Brachy bacterium paraconglomeratum* LPD74 dan *Providencia vermicola* KPA38 dan kultur campuran 2 terdiri 3 spesies bakteri endofit yaitu *Bacillus cereus* KPD6, *Pseudomonas*



Gambar 2. Hasil SEM terhadap *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74, (a) bakteri endofit pada *planlet* bibit karet (750x) , (b) *planlet* tanpa inoculasi bakteri endofit (5,000x)

Figure 2. SEM result of *Brachybacterium paraconglomeratum*, (a) endophytic bacteria on rubber rootstock planlet (750 x), (b) planlet without inoculation of endophytic bacteria (5000 x)

aeruginosa KPA32, dan *Brachybacterium paraconglomeratum* LPD74. Bakteri endofit mampu masuk ke jaringan tanaman planlet bibit karet hasil *microcutting* yang dibuktikan dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

Saran yang dianjurkan untuk melakukan penelitian lanjutan dari 2 kultur campuran terpilih diaplikasikan pada bibit tanaman karet dengan perlakuan pemupukan yang diharapkan dapat diperoleh efisiensi pemupukan dengan perlakuan kultur campuran.

DAFTAR PUSTAKA

Bacon CW, Hinton DM. 2007. Bacterial endophytes : The endophytic niche, its occupants, and its utility. Di dalam Gnanamanicham SS, editor. *Plant-Associated Bacteria*. Springer. Netherlands. hlm 155-194.

Balai Penelitian Sembawa. 2012. *Sapta Bina Karet*. Penerbit Balai Penelitian Sembawa Pusat Penelitian Karet. Palembang. ISBN 979-529-002-9 dan 633.912.11:631.1.017.3(910). Palembang. 125 h.

Bashan LE, Bashan Y. 2005. Bacteria: Plant growth-promoting soil. Di dalam Hillel D, editor. *Encyclopedia of soil in environment vol 1*. Elsevier, Oxford. hlm 103-115.

Dijkman MJ. 1951. Hevea, thirty year of research in the Far East. University of Miami Press, Florida.

[Ditjenbun] Direktorat Jenderal Perkebunan. 2011. *Statistik Perkebunan 2009 - 2012*. Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta. hlm 1-3.

Elbeltagy A, Nishioka K, Salo T, Ye B, Hamada T, Isawa T, Mitsam H, Minomusawa K. 2001. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Appl Environ Microbiol*67: 5285-5293

Gazis R, Chaverri P. 2010. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. *Fungal Ecol*3:240-254

- Gofar N, Napoleon A, Harun MU. 2008. Seleksi kemampuan berbagai konsorsium bakteri endofitik pemacu tumbuh dalam meningkatkan biomassa dan kadar Nitrogen tanaman padi di tanah asal rawa lebak. Di dalam: *Pemanfaatan Lahan Basah untuk Pertanian Berkelanjutan dalam Menghadapi Peluang dan Tantangan Krisis Pangan Global. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan*; Palembang, 17-18 Des 2008. Palembang: Himpunan Ilmu Tanah Indonesia. hlm 280-288
- Hallmann J, Hallmann AQ, Mahaffee WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol* 43: 895-914.
- Hidayati U, Chaniago IA, Munif A, Siswanto, Santosa DA. 2014. The Potency of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria from Rubber Plant (*Hevea brasiliensis*, Mull. Arg). *J of Agronomy*. Masih dalam proses.
- Husny Z, Yahya S, Wattimena GA, Harran S. 1986. Penggunaan zat tumbuh asam indol butirat dan asam gibberellat pada bahan tanam karet okulasi mata tidur. *Buletin Perkaratan* 4(2). Pusat Penelitian Karet. Medan. hlm.31-36.
- Malik KA, Bilal R, Mehnaz S, Rasul G, Mirza MS, Ali S. 1997. Association of Nitrogen-fixing, plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant and Soil* 194 : 37-44
- Maslahat M, Suharyanto. 2005. Produksi *Indol Asetic Acid* (IAA) oleh bakteri yang diisolasi dari akar tanaman karet (*Hevea brasiliensis*). *Jurnal Nusa Kimia* 5 (2), Fakultas MIPA Universitas Nusa Bangsa. Bogor. hlm 26 – 35.
- Mendes R, Pizzirani-Kleiner AA, Araujo WL, and Raaijmakers JM. 2007. Diversity of cultivated endophytic bacteria from Sugarcane : Genetic and biochemical characterization of *Burkholderia cepacia* complex isolates. *Appl Environ Microbiol* 73 (22) : 7259–7267.
- Musetti R, Favali MA. 2004. Microscopy technique applied to the study of phytoplasma disease : traditional and innovative methods. *Curr Iss Multidisc Micros res and Educ.* 72-80.
- Putra, MC. 2011. Kompatibilitas *Bacillus* spp. dan Aktinomiset sebagai Agen Hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Pemicu Pertumbuhan Padi [skripsi]. Bogor : Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB
- Setyawan B. 2010. Bakteri endofitik sebagai antagonis dalam meningkatkan resistensi batang bawah terhadap Jamur Akar Putih *Rigidoporus Microporus*. Laporan intern Proyek Penelitian Pusat Penelitian Karet. Medan.
- Siagian N, Wattimena GA, Solahuddin S. 1985. Pemakaian hormon untuk mempercepat pemulihan kulit pulihan tanaman karet. *Buletin Perkaratan* 3(3). Pusat Penelitian Karet. Medan. hlm 67-72.
- Siagian N, Sitompul D, Manurung A. 1995. Pengaruh auksin terhadap pertumbuhan akar cangkakan karet. *Jurnal Penelitian Karet* 13(1). Pusat Penelitian Karet. Medan. hlm 21-31.
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Review* 67(4) : 491-502.
- Thomas KK, Panikkar AON. 2000. Indian rubber plantation industry : Genesis and development. Di dalam : George PJ, Kuruvilla CK, editor. *Natural Rubber, Agromanagement and Crop Processing*. Rubber Research Institute of India. Kottayam, India. hlm 1-19.
- Wattimena GA. 1987. *Zat Pengatur Tumbuh*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.