

Editorial Team

Chief Editor

1. [Dr. I Ketut Ginantra](#), Prodi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Denpasar Bali, Indonesia

Deputy Chief Editor

1. [Dr. Iriani Setyawati](#), Prodi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Denpasar Bali, Indonesia

Co Editor

1. [Dr. Bayu Aji](#), Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
2. [Dr. I Wayan Suana](#), [SCOPUS ID: 55221794000, h-index: 1] Universitas Mataram, Indonesia
3. [Dr. Luh Arpiwi](#), [SCOPUS ID: 55135978300, h-index: 2] University of Western Australia, School of Plant Biology, Perth, Australia
4. [Drs. Ida Bagus Gede Darmayasa](#), Universitas Udayana, Denpasar Bali, Indonesia
5. [Ni Wayan Sudatri](#), Universitas Udayana, Denpasar Bali, Indonesia

Vol 2, No 1 (2015)

Table of Contents

Articles

<u>PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH INDOLE-3-BUTYRIC ACID (IBA) DAN 6-BENZIL AMINO PURIN (BAP) PADA KULTUR IN VITRO TUNAS AKSILAR ANGGUR (<i>Vitis vinifera</i> L.) VARIETAS PRABU BESTARI DAN JESTRO AG 86</u>	1-8
Made Wahyu Cerianingsih, Ida Ayu Astarini, I Gusti Made Oka Nurjaya	
<u>ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB BUSUK LUNAK PADA UMBI WORTEL (<i>Daucus carota</i> L.) VARIETAS LOKAL DI BALI</u>	9-15
Ni Wayan Desi Bintari, Retno Kawuri, Meitini Wahyuni Proborini	
<u>KEBERADAAN BAKTERI PATOGEN <i>Vibrio cholerae</i> PADA BEBERAPA HASIL PERIKANAN YANG DIJUAL DI PASAR TRADISIONAL KOTA DENPASAR</u>	16-22
I Wayan Yogi Widyastana, Retno Kawuri, Anak Agung Gde Raka Dalem	
<u>ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK PADA BUAH STROBERI (<i>Fragaria x ananassa</i>)</u>	23-28
Made Mega Yuliasari, Retno Kawuri, Meitini Wahyuni Proborini	
<u>IDENTIFIKASI ANTAGONIS DARI <i>Xanthomonas campestris</i> YANG DIISOLASI DARI RHIZOSPHERE PERKEBUNAN BROKOLI (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>) DI DESA KEMBANG MERTA, KABUPATEN TABANAN, BALI</u>	29-33
Nadya Treesna Wulansari, Yan Ramona, Meitini Wahyuni Proborini	
<u>PERBANYAKAN ANGGREK <i>Dendrobium heterocarpum</i> Lindl. SECARA IN VITRO DENGAN MEDIA YANG BERBEDA</u>	34-40
Yuli Setiawati, Ida Ayu Astarini, Ni Putu Adriani Astiti	
<u>KOMPOSISI KOMUNITAS TUMBUHAN BAWAH DI DALAM PLOT PERMANEN 1 HA GUNUNG POHEN CAGAR ALAM BATUKAHU BALI</u>	
Sutomo Sutomo	

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH INDOLE-3-BUTYRIC ACID (IBA)
DAN 6-BENZIL AMINO PURIN (BAP) PADA KULTUR *IN VITRO*
TUNAS AKSILAR ANGGUR (*Vitis vinifera* L.) VARIETAS PRABU BESTARI
DAN JESTRO AG 86**

**THE EFFECT OF PLANT HORMONE INDOLE-3-BUTYRIC ACID (IBA) AND 6-BENZIL
AMINO PURIN (BAP) ON *IN VITRO* CULTURE OF GRAPE CULTIVAR 'PRABU BESTARI'
AND JESTRO AG 86 AXILARY SHOOTS**

Made Wahyu Cerianingsih^{1*}, Ida Ayu Astarini¹, I Gusti Made Oka Nurjaya²
¹ *Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Bali*
² *Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali*
**Email: sasceria@gmail.com*

INTISARI

Penelitian perbanyakkan *in vitro* dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor. Faktor pertama adalah kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang terdiri dari sembilan kombinasi konsentrasi IBA (0; 0,5; 1 mg/L) dan BAP (0, 1, 2 mg/L), sedangkan faktor kedua adalah varietas anggur yang terdiri dari dua varietas yaitu Jestro Ag 86 dan Prabu Bestari. Kombinasi perlakuan diulang sebanyak lima kali. Variabel yang diamati adalah ada tidaknya kalus, persentase tumbuh kalus, persentase tumbuh tunas, jumlah tunas per eksplan, waktu munculnya tunas, persentase tumbuh akar, dan jumlah akar per eksplan. Data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila perlakuan menunjukkan pengaruh nyata ($P \leq 0,05$) atau sangat nyata ($P \leq 0,01$) maka akan dilanjutkan dengan uji perbandingan jarak berganda yaitu uji Tukey. Data diolah dengan program Minitab. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antara faktor kombinasi ZPT dan varietas berpengaruh nyata terhadap variabel persentase tumbuh kalus. Pada variabel persentase tumbuh tunas hanya faktor kombinasi ZPT yang berpengaruh nyata, sedangkan pada variabel persentase tumbuh akar hanya faktor varietas yang berpengaruh nyata. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi ZPT 1 mg/L IBA dan 2 mg/L BAP mampu menghasilkan persentase tumbuh kalus tertinggi pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86, sedangkan penambahan 2 mg/L BAP tanpa penambahan IBA mampu menghasilkan persentase tunas tertinggi. Persentase tumbuh akar pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 lebih tinggi daripada anggur varietas Prabu Bestari.

Kata kunci: anggur, perbanyakkan in vitro, IBA, BAP

ABSTRACT

In vitro propagation study was carried out at Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Udayana University. It was conducted using Completely Randomized Design with two factors. The first factor was plant growth regulator (PGR), consist of nine concentration mixture of IBA (0, 0.5, 1 mg/L) and BAP (0, 1, 2 mg/L). The second factor was grape varieties, consisted of Prabu Bestari and Jestro Ag 86. There were five replicates for each treatment combination. Variable observed included presence and absence of callus, percentage of callus growth, percentage of shoot growth,

number of shoot per explants, emergence of shoots, percentage of root growth and number of roots per explants. Data were statistically analyzed using Analysis of Variance (ANOVA). When treatment showed a significant different ($P \leq 0.05$) or highly significant ($P \leq 0.01$) mean separation was conducted following Tukey Test. Data were analyzed using MINITAB Statistical Program. Results showed that PGR and varieties was highly significant for percent of callus growth. PGR also showed significant effect on shoot growth percentage, while there was significant difference found on root growth percentage. It can be concluded that combination of 1 mg/L IBA and 2 mg/L BAP was able to produce the highest percentage of callus growth. Addition of 2 mg/L BAP without IBA was able to produce the highest percentage of shoot growth. Percentage of root growth of Jestro Ag 86 was higher than Prabu Bestari.

Key words: grape, in vitro propagation, IBA, BAP

PENDAHULUAN

Pengembangan usaha pertanian anggur dengan cara diversifikasi varietas anggur di Kabupaten Buleleng merupakan upaya pemerintah daerah untuk mengembalikan minat petani anggur untuk memproduksi anggur berkualitas di Kabupaten Buleleng. Anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86 merupakan dua jenis anggur yang berpotensi untuk dikembangkan di Kabupaten Buleleng. Prabu Bestari merupakan salah satu jenis anggur merah dengan kualitas buah yang bagus sehingga dapat menyaingi anggur impor yang banyak beredar di pasaran. Jestro Ag 86 merupakan salah satu jenis anggur hijau yang cocok dikembangkan untuk industri *wine* dan memiliki daya adaptasi yang luas.

Keinginan masyarakat untuk membudidayakan anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86 sangat tinggi, sehingga kebutuhan bibit/stek juga sangat tinggi. Saat ini pengadaan bibit di Kebun Percobaan Banjarsari Jawa Timur masih terbatas, sehingga pemesanan

bibit mesti dilakukan jauh hari, umumnya 6 bulan sebelumnya. Melihat permasalahan tersebut, perlu dilakukan alternatif teknik pembibitan untuk penyediaan bibit yang cukup dalam waktu yang relatif singkat, yaitu dengan aplikasi teknik kultur jaringan.

Di dalam teknik kultur jaringan, penambahan zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. IBA dan BAP adalah dua jenis ZPT yang sudah banyak digunakan pada kultur *in vitro*, terutama pada tanaman anggur. Jaskani *et al.* (2008) melaporkan bahwa eksplan tunas aksilar anggur varietas *Perlette* mampu membentuk tunas pada media dengan penambahan 1 mg/L BAP dan pengakaran maksimal diperoleh pada media dengan penambahan 2 mg/L IBA. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap pertumbuhan eksplan tunas aksilar anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86 untuk tujuan perbanyakan.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah tunas aksilar tanaman anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86 dengan panjang 2-3 cm (Mukherjee *et al.*, 2010). Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian meliputi media MS (*Murashige and Skoog*), zat pengatur tumbuh IBA dan BAP, agar, sukrosa, arang aktif 1,5 g/L, aquadest, Bayclin, fungisida (*Dithane*) 0,1%, alkohol 70% dan detergen. Alat yang

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana pada bulan Desember 2011 hingga Mei 2012.

digunakan adalah botol kultur, Bunsen, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), *petridish*, peralatan diseksi (pinset besar, pinset kecil, dan pisau *scalpel*), timbangan analitik, *hand sprayer*, *beaker glass*, Erlenmeyer, indikator universal, autoklaf, pipet ukur, aluminium foil, kertas label, *oven*, lemari pendingin, dan rak kultur.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah kombinasi zat pengatur tumbuh IBA (*I*) dan BAP (*B*) yang terdiri dari 9 kombinasi konsentrasi yaitu (*i*) 0 mg/L IBA + 0 mg/L BAP, (*ii*) 0 mg/L IBA + 1 mg/L BAP, (*iii*) 0 mg/L IBA + 2 mg/L BAP, (*iv*) 0,5 mg/L IBA + 0 mg/L BAP, (*v*) 0,5 mg/L IBA + 1 mg/L BAP, (*vi*) 0,5 mg/L IBA + 2 mg/L BAP), (*vii*) 1 mg/L IBA + 0 mg/L BAP, (*viii*) 1 mg/L IBA + 1 mg/L BAP, (*ix*) 1 mg/L IBA + 2 mg/L BAP. Faktor kedua adalah varietas anggur (*Y*) yang terdiri dari dua varietas yaitu anggur varietas Jestro Ag 86 (*Y*₁) dan anggur varietas Prabu Bestari (*Y*₂). Kombinasi perlakuan 9x2 diulang sebanyak lima kali sehingga ada 90 unit percobaan, setiap unit percobaan ada dua botol kultur yang masing-masing berisi satu eksplan.

Sterilisasi Alat

Peralatan meliputi botol kultur, *scalpel*, *petridish*, dan pinset dicuci dengan menggunakan sabun cuci, dibilas, kemudian dikeringkan. Alat-alat yang sudah kering dibungkus dengan kertas (kecuali botol kultur). Semua alat disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 Psi (kg/cm²) selama 15 menit.

Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang MS *powder* sebanyak 4,4 g, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Lalu ditambahkan dengan 8 g agar dan 30 g sukrosa, serta ZPT sesuai perlakuan (Banilas dan Korkas, 2006). Kemudian dilarutkan dengan 1 L air steril. Lalu ditambahkan dengan 1,5 g/L arang aktif. Larutan dikondisikan pada pH 5,8 dengan menambahkan NaOH apabila pH terlalu rendah dan apabila pH terlalu tinggi ditambahkan HCl.

Larutan tersebut diaduk dan dididihkan. Setelah mendidih, larutan tersebut dituang ke dalam botol kultur ± 20 mL setiap botolnya. Botol ditutup dengan *aluminium foil*. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1,5 kg/cm³ selama 15 menit. Setelah itu botol-botol ditempatkan pada rak-rak kultur.

Sterilisasi Eksplan

Seluruh daun dan sulur pada bahan tanaman (eksplan) dipotong dan dibuang, selanjutnya eksplan dipotong dan dicari bagian tunas aksilarnya, lalu tunas direndam dalam alkohol 70% selama 30 detik, kemudian dicuci dengan larutan deterjen selama 10 menit. Selanjutnya eksplan dicuci dengan air mengalir selama 30 menit sebelum disterilisasi permukaan. Kemudian eksplan direndam dalam larutan fungisida (*Dithane*) 0,1% selama 30 menit dan diletakkan pada *shaker* agar sterilisasi mencapai ke seluruh permukaan eksplan, setelah itu dibilas dengan air tiga kali. Kemudian eksplan dimasukkan ke dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Di dalam LAF, eksplan kemudian disterilisasi dengan menggunakan Bayclin 10% yang diberi 3 tetes deterjen selama 10 menit, selanjutnya dicuci dengan air steril, dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan Bayclin 5% yang diberi 3 tetes deterjen selama 5 menit, lalu dicuci lagi dengan air steril, setelah itu direndam dalam alkohol 70% selama 30 detik, dan terakhir eksplan dibilas dengan air steril 2 kali.

Inisiasi dan Pemeliharaan Kultur

Tunas yang telah disterilisasi, ditanam pada media sesuai perlakuan. Kultur dipelihara pada ruang dengan suhu 25°C dengan penyinaran 18 jam terang dan 6 jam gelap.

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati meliputi ada tidaknya kalus yang terbentuk, persentase tumbuh tunas, persentase tumbuh akar, persentase tumbuh kalus, jumlah akar, jumlah tunas baru yang dihasilkan per eksplan, dan waktu munculnya tunas. Pengamatan dilakukan setiap minggu mulai dari 1 minggu setelah kultur selama 4 bulan.

Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika menunjukkan pengaruh nyata ($P \leq 0,05$) atau sangat nyata ($P \leq 0,01$) maka akan dilanjutkan dengan uji Tukey. Data diolah dengan program Minitab.

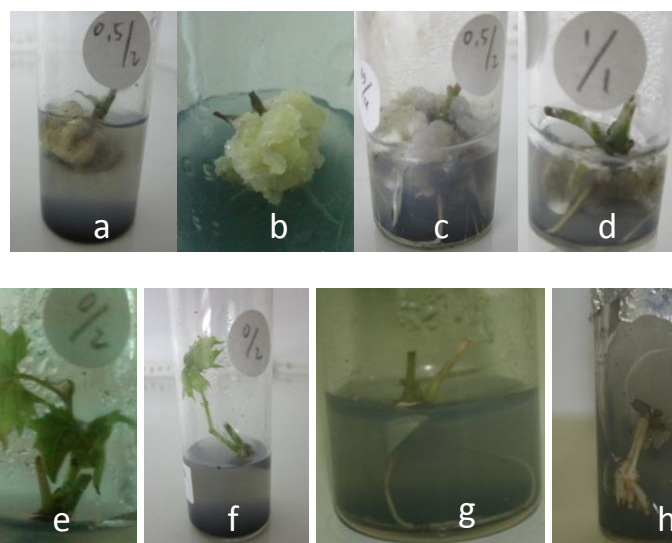
HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan telah mampu menginduksi tunas, akar, maupun kalus dari eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 dan Prabu Bestari (Gambar 1a-h). Hasil analisis sidik ragam perbanyakan *in vitro* anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86 disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis sidik ragam perbanyakan *in vitro*

Variabel	Kombinasi ZPT (X)	Varietas (Y)	Interaksi (XY)
Persentase tumbuh kalus	0,000**	0,000**	0,002*
Jumlah akar per eksplan	0,152 ^{tn}	0,125 ^{tn}	0,485 ^{tn}
Jumlah tunas per eksplan	0,073 ^{tn}	0,417 ^{tn}	0,331 ^{tn}
Waktu munculnya tunas	0,084 ^{tn}	0,326 ^{tn}	0,353 ^{tn}
Persentase tumbuh tunas	0,034*	0,417 ^{tn}	0,331 ^{tn}
Persentase tumbuh akar	0,194 ^{tn}	0,043*	0,610 ^{tn}

Keterangan: tn = berpengaruh tidak nyata; * = berpengaruh nyata; ** = berpengaruh sangat nyata



Gambar 1. Kalus, tunas, dan akar yang dihasilkan pada perbanyakan *in vitro* anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86.

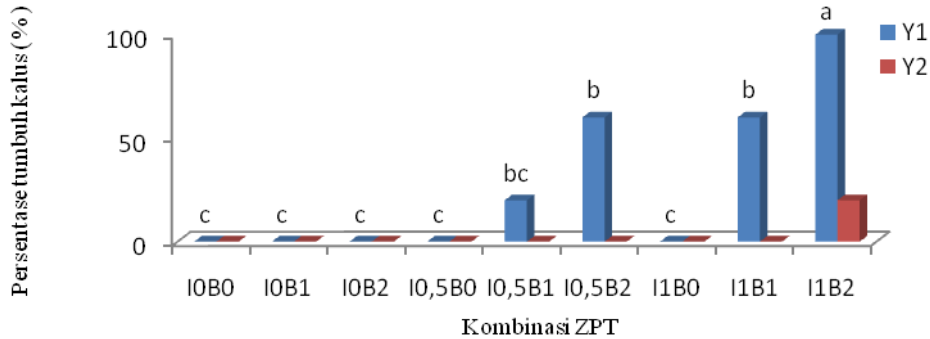
Keterangan: **a.** kalus berwarna putih kekuningan, **b.** kalus berwarna putih kehijauan, **c – d.** kalus berwarna putih dan terjadi pembentukan akar, **e.** tunas yang dihasilkan dari eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 perlakuan (I_0B_2) umur 3 minggu, **f.** tunas yang dihasilkan dari eksplan tunas aksilar anggur varietas Prabu Bestari perlakuan (I_0B_2) umur 3 minggu, **g.** Akar yang dihasilkan dari eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 perlakuan (I_1B_0), **h.** Akar yang dihasilkan dari eksplan tunas aksilar anggur varietas Prabu Bestari perlakuan (I_1B_2).

Respon yang diberikan oleh masing-masing eksplan pada masing-masing perlakuan terlihat berbeda-beda. Persentase tumbuh tunas tertinggi

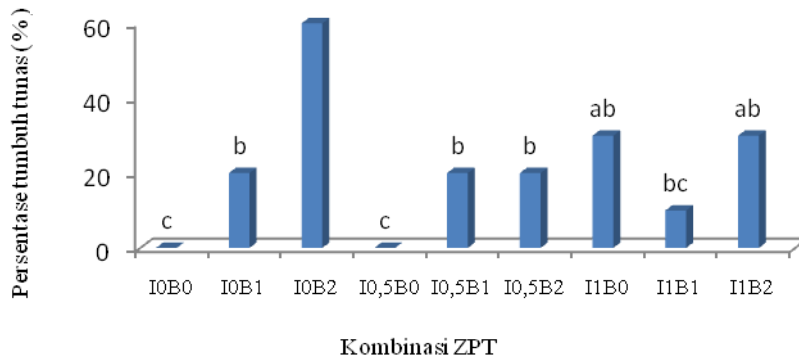
pada kedua varietas terjadi pada perlakuan (I_0B_2) yaitu sebesar 60% (Gambar 2). Persentase tumbuh kalus tertinggi dicapai pada perlakuan

(I₁B₂) pada anggur varietas Jestro Ag 86 yaitu sebesar 100% (Gambar 3). Persentase tumbuh akar pada eksplan tunas aksilar anggur varietas

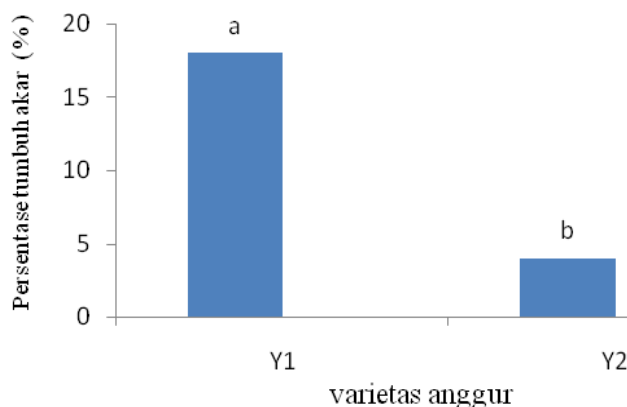
Jestro Ag 86 lebih tinggi daripada anggur varietas Prabu Bestari yaitu sebesar 18% (Gambar 4).



Gambar 2. Pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh IBA (I) dan BAP (B) terhadap persentase tumbuh kalus pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 (Y₁) dan Prabu Bestari (Y₂)



Gambar 3. Perbandingan pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh IBA (I) dan BAP (B) terhadap rata-rata persentase tumbuh tunas pada anggur varietas Prabu Bestari dan Jestro Ag 86



Gambar 4. Perbandingan persentase tumbuh akar pada varietas Jestro Ag 86 (Y₁) dan varietas Prabu Bestari (Y₂)

PEMBAHASAN

Persentase tumbuh kalus pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 lebih tinggi dibandingkan dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Prabu Bestari pada perlakuan (I_1B_2) yaitu sebesar 100%. Menurut George dan Sherington (1954) dalam Indrianto (2002), pada umumnya kemampuan pembentukan kalus dari jaringan tergantung dari umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi, musim pada waktu bahan tanaman diisolasi, bagian tanaman yang dipakai, dan jenis tanaman.

Ada tiga jenis kalus yang terbentuk pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 yaitu kalus kompak yang berwarna putih kekuningan, kalus remah yang berwarna hijau yang lama-kelamaan menjadi berwarna putih, dan kalus yang telah terinisiasi membentuk akar. Menurut Yuliarti (2010), beberapa kalus ada yang mengalami pembentukan lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang keras dan kompak. Namun ada kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi fragmen-fragmen yang kecil, kalus yang demikian dikenal dengan kalus remah (*friable*).

Kalus adalah jaringan meristematik yang merupakan wujud dari dediferensiasi. Di dalam kultur jaringan, menginduksi terbentuknya kalus merupakan langkah yang penting. Setelah terbentuknya kalus, baru kemudian diberikan perlakuan atau rangsangan untuk berdiferensiasi membentuk akar atau tunas (Torres, 1989). Menurut Gunawan (1992), di dalam kalus dapat terbentuk sel-sel tunggal atau sekelompok sel yang ukurannya lebih kecil yang merupakan tempat proliferasi sel yang nantinya membentuk tunas batang, akar, atau embrio. Gunawan juga mengemukakan bahwa interaksi dan perimbangan antara ZPT yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur. Hal ini diperkuat pernyataan Hartmann (2011), bahwa tanaman yang berbeda dapat merespon zat pengatur tumbuh ZPT (auksin dan sitokinin) dalam berbagai konsentrasi secara berbeda. Hal ini disebabkan oleh perbedaan

kandungan konsentrasi hormon endogen tumbuhan itu sendiri.

Rata-rata persentase tumbuh tunas pada kedua varietas dengan jumlah tertinggi diperoleh pada perlakuan (I_0B_2) sebesar 60%. Menurut Sudarmadji (2003), jika konsentrasi sitokinin lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi auksin maka yang terbentuk bukanlah kalus, melainkan tunas. Pemberian sitokinin ke dalam media kultur jaringan penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa tersebut dapat meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk, dan morfogenesis pucuk (Smith, 1992 dalam Zulkarnain, 2009).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa faktor varietas berpengaruh nyata terhadap persentase tumbuh akar. Menurut Marks *et al.* (2000) dan Howard (1996), kemampuan eksplan membentuk akar dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk perbedaan genotip, tingkat kematangan jaringan dan karakter fisiologis. Oleh karena itu eksplan memberikan respons berakar yang berbeda-beda.

Di dalam kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Pierik (1997) menyatakan bahwa sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyak tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh. Menurut Gardner (1991), pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan dikendalikan oleh beberapa golongan zat yang secara umum dikenal sebagai hormon tumbuhan atau fitohormon. Fitohormon ini ada dua jenis yakni endogen (diproduksi dalam tubuh tanaman) dan eksogen (diproduksi di luar tubuh tanaman) yang merupakan bagian dari proses regulasi genetik dan berfungsi sebagai prekursor.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa masing-masing eksplan memberikan respon yang berbeda-beda meskipun konsentrasi dan jenis zat pengatur tumbuh yang diberikan sama. Bahkan beberapa eksplan memberikan respon yang berbeda dari yang diharapkan secara teori. Menurut Zulkarnain (2009), tidak mudah untuk membuat

generalisasi mengenai respon jaringan terhadap hormon tanaman. Meskipun demikian, secara umum dapat dikatakan auksin biasanya meningkatkan inisiasi akar sedangkan sitokinin meningkatkan proliferasi pucuk.

Zulkarnain (2009) juga menyatakan bahwa kondisi fisiologis eksplan memiliki peranan penting bagi keberhasilan teknik kultur jaringan. Kondisi fisiologis dari suatu tanaman bervariasi secara alami, sejalan dengan pertumbuhan tanaman yang melewati fase-fase yang berbeda dan perubahan kondisi lingkungan. Suatu respon pertumbuhan tertentu di dalam sistem kultur jaringan adalah sebagai hasil interaksi antara kondisi fisiologis bersih dari tanaman bersangkutan akibat pengaruh kondisi internal dan eksternal (Taji *et al.*, 1995).

Kondisi fisiologis tanaman menyangkut konsentrasi hormon endogen yang terkandung pada masing-masing eksplan. Adanya hormon endogen ini, memungkinkan eksplan yang dikulturkan dapat tumbuh sesuai arah yang diinginkan. Status fisiologis tanaman bervariasi secara alami karena tanaman tumbuh pada tahap yang berbeda dan kondisi yang berbeda atau musim yang berbeda. Kondisi fisiologis dari masing-masing tunas aksilar yang digunakan sebagai eksplan kemungkinan besar berbeda, sehingga menyebabkan munculnya respon yang berbeda.

Selain konsentrasi hormon endogen pada masing-masing eksplan, faktor fisiologis lainnya yang berpengaruh terhadap arah perkembangan suatu kultur adalah kadar karbohidrat dan dormansi tanaman. Karbohidrat merupakan hasil fotosintesis, sebagian dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Perubahan kandungan karbohidrat di dalam tanaman dapat pula mempengaruhi respon pertumbuhan terhadap kondisi kultur.

Pertumbuhan anggur varietas Prabu Bestari tergolong rendah dibandingkan anggur varietas Jestro Ag 86. Menurut Taji *et al.* (1995), tanaman tidak terus-menerus tumbuh dengan laju sama. Pertumbuhan berbagai bagian tanaman mengalami periode-periode di saat

pertumbuhan terjadi sangat sedikit atau tidak sama sekali, biasanya disebut sebagai dormansi.

SIMPULAN

Penambahan 1 mg/L IBA dan 2 mg/L BAP ke dalam media MS mampu menghasilkan persentase tumbuh kalus tertinggi pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 yaitu sebesar 100%, sedangkan penambahan 2 mg/L BAP tanpa penambahan IBA mampu menghasilkan persentase tunas tertinggi pada kedua varietas yaitu sebesar 60%. Persentase tumbuh akar pada eksplan tunas aksilar anggur varietas Jestro Ag 86 lebih tinggi daripada anggur varietas Prabu Bestari yaitu sebesar 18%.

KEPUSTAKAAN

- Gardner, P. dan Mitchel. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. (Susilo H., Pentj). Jakarta: UI Press.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. Bogor: IPB.
- Hartmann, H.T. 2011. Plant Propagation, Principles and Practices 8th ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc.
- Howard, B.H. 1996. Relationships between Shoot Growth and Rooting of Cuttings in Three Contrasting Species of Ornamental Shrub. *J. Hort. Sci.* 71: 591-605.
- Indrianto, A. 2002. Kultur Jaringan Tumbuhan. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Marks, R.T. and S.E. Simpson. 2000. Interaction of Explant Type and Indole-3-Butyric Acid during Rooting *In Vitro*. In a range of Difficult and Easy to Root Woody Plant. *Plant Cell Tiss. & Org. Cult.* 62: 65-74.
- Mukherjee, P., N. Husain, S.C. Misra, V.S. Rao. 2010. *In Vitro* Propagation of a Grape Rootstock, de Grasset (*Vitis champinii* Planch.): Effect of Medium Compositions and Plant Growth Regulators. *Scientia Horticulturae.* 126: 13-19.

- Pierik. 1987. *In vitro* Culture of Higher Plants. Netherland: Martinus Nijhoff Publiser.
- Sudarmadji. 2003. Penggunaan Benzil Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas secara *In Vitro*. Buletin Teknik Pertanian. 8(1): 8 - 10.
- Taji, A.M., W.A. Dodd and R.R. Williams. 1995. Plant Tissue Culture Practice. Armidale: University of New England.
- Torres, K.C. 1989. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Yuliarti, N. 2010. Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga. Jakarta: Andi Publisher.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Jakarta: Bumi Aksara.

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB BUSUK LUNAK PADA UMBI WORTEL (*Daucus carota* L.) VARIETAS LOKAL DI BALI

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIAL CAUSED SOFT ROT DISEASE ON CARROT (*Daucus carota* L.) LOCAL VARIETY IN BALI

Ni Wayan Desi Bintari^{1*}, Retno Kawuri¹, Meitini Wahyuni Proborini¹

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali

Email: desibintari@gmail.com

INTISARI

Infeksi bakteri penyebab busuk lunak pada umbi wortel (*D. carota* L.) dapat menyebabkan kerugian ekonomi cukup tinggi. Penyakit busuk lunak dapat disebabkan oleh beberapa bakteri khususnya kelompok *Enterobacteriaceae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri penyebab busuk lunak pada umbi wortel varietas lokal di Bali. Sampel umbi wortel diambil di Pasar Tradisional Badung Denpasar, Bali. Isolasi bakteri patogen dilakukan dengan teknik pengenceran (*Plating Method*). Hasil isolasi pada umbi wortel didapatkan 8 isolat bakteri (BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7 dan BL8). Isolat BL6 menunjukkan hasil positif pada uji Postulat Koch yang menyebabkan busuk lunak pada umbi wortel. Hasil identifikasi dengan menggunakan Kit *Microgen™ Gna+B-ID System* dan buku identifikasi *Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition* (Holt *et al.*, 1994) isolat BL6 teridentifikasi sebagai *Citrobacter*.

Kata kunci: Busuk lunak, wortel (*D. carota* L.), *Citrobacter*

ABSTRACT

Soft rot bacteria infection in carrot tuber (*D. carota* L.) causes severe economic losses. Soft rot disease can be caused by various bacteria belonging to *Enterobacteriaceae*. This study aimed to isolate and identify bacteria as causal agent of soft rot disease in local carrot variety in Bali. Samples were collected at Badung Tradisional Market, Denpasar, Bali. Isolation was carried out by serial dilution method (*Plating Method*). Eight bacteria (BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7 and BL8) were isolated from soft rot tuber. BL6 isolate showed positive result in Postulat Koch test that caused soft rot on carrot tuber. The result of identification by *Microgen™ Gna+B-ID System* and identification book *Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition* (Holt *et al.*, 1994), BL6 was identified as *Citrobacter*.

Key words: Soft rot, carrot (*D. carota* L.), *Citrobacter*.

PENDAHULUAN

Budidaya wortel (*D. carota* L.) di Bali mendapat perhatian cukup baik oleh pemerintah. Menurut Potter *et al.* (2011), konsumsi umbi wortel oleh masyarakat sangat baik dilakukan karena umbi wortel segar

mengandung serat tinggi, karotenoid, vitamin C dan E serta beberapa senyawa fenolitik sebagai antioksidan.

Menurut data Dinas Pertanian Tanaman Pangan Propinsi Bali (2013), luas areal panen wortel di Bali mencapai 408 ha dengan rata-rata

hasil panen sebesar 9.243 ton. Salah satu faktor pembatas dalam penyimpanan komoditas wortel hasil panen adalah kerentanan produk terserang penyakit pasca panen (Bachmann dan Earles, 2000). Pada umbi wortel ditemukan beberapa penyakit pasca panen, diantaranya busuk akar (*Sclerotinia* sp.), busuk hitam (*Alternaria radicina*), bercak akar (*Pythium sulcatum*) dan busuk lunak erwinia (*Erwinia* sp.) (Galati *et al.*, 2005; Davison *et al.*, 2007). Busuk lunak merupakan salah satu penyakit yang paling sering ditemukan pada sayuran dan menyebabkan kerugian ekonomi cukup besar (Bhat *et al.*, 2010). Berdasarkan hasil survey pendahuluan yang dilakukan di Pasar Tradisional Badung Denpasar ditemukan beberapa umbi wortel lokal yang terserang busuk lunak. Perubahan kondisi umbi yang menjadi lembek dan berair menyebabkan umbi wortel tidak layak dipasarkan dan menyebabkan kerugian yang cukup signifikan bagi pedagang.

Busuk lunak umumnya disebabkan oleh bakteri *Erwinia carotovora* sub-sp. *carotovora* atau *Erwinia carotovora* sub-sp. *atroseptica* (Bhat *et al.*, 2010). Selain itu menurut penelitian Kucharek dan Bartz (2000) di Florida, penyakit busuk lunak juga dapat disebabkan oleh *Pseudomonas marginalis* dan bakteri dari genus *Clostridium*. Deak dan Farkas (2013) menyatakan adanya infeksi bakteri patogen pada bahan pangan khususnya sayuran dapat meningkatkan asosiasi bakteri kontaminan pada produk yang umumnya berasal dari kelompok Enterobacteriaceae. Menurut Rajvanski (2010), beberapa bakteri tersebut diantaranya *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Citrobacter* sp., *Streptococcus* sp., dan *Enterobacter* sp.

Galati *et al.* (2000) menyatakan jaringan umbi wortel yang mengalami busuk lunak sangat rentan terinfeksi oleh mikroorganisme sebagai agen penyebab infeksi sekunder. Asosiasi dari organisme sekunder menyebabkan ahli patologi sulit mendiagnosa secara akurat patogen penyebab busuk lunak tersebut. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi terhadap bakteri patogen yang menyebabkan busuk lunak pada umbi wortel lokal di Bali.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan pada dua tempat yaitu Pasar Tradisional Badung Denpasar untuk pengambilan sampel dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana untuk isolasi bakteri. Penelitian dilaksanakan selama tiga bulan (September-November 2014).

Pengambilan Sampel

Sampel umbi wortel lokal diambil di Pasar Tradisional Badung Denpasar. Sampel diambil secara acak dari tiga pedagang. Pada masing-masing pedagang diambil tiga umbi wortel dengan gejala busuk lunak, sehingga total umbi sampel yang digunakan adalah 9 sampel.

Isolasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak

Isolasi menggunakan metode dari Saadoun *et al.*, (2008) dengan modifikasi. Sampel umbi wortel dicuci pada air mengalir, dibilas dengan air steril. Sterilisasi permukaan dengan cara direndam dalam larutan Bayclin™ 10% selama 2 menit. Sampel kemudian dihaluskan dan diambil sebanyak 10 g dan dilakukan pengenceran (*serial dilution method*) (Pelczar dan Chan, 2003) hingga faktor pengenceran 10^{-3} . Penanaman sampel dilakukan secara *pour plate* pada media Nutrient Agar (Pronadisa) pada faktor pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} .

Pengamatan Makroskopis Koloni Bakteri

Pengamatan makroskopis dilakukan pada hari kedua inkubasi yang meliputi pengamatan bentuk koloni, bentuk permukaan koloni, bentuk tepi koloni serta warna koloni. Pengamatan disesuaikan dengan struktur makroskopis koloni bakteri oleh Dwijoseputro (2003) serta Cowan dan Talaro (2006).

Uji Postulat Koch

Uji Postulat Koch menggunakan metode *tuber slice test* (Snijder dan Tuyl, 2002; Bathily *et al.*, 2012). Umbi wortel lokal dipotong dengan ketebalan 7-9 mm, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan perendaman dalam larutan Bacylin™ 10% selama 5 menit

dan dibilas dengan air steril untuk menghilangkan sisa desinfektan. Potongan umbi dimasukkan ke dalam cawan Petri dan diinokulasikan 100 µL suspensi bakteri pada media Nutrient Broth (Pronadisa) pada titik inokulasi. Populasi bakteri yang digunakan untuk uji postulat Koch adalah 1×10^8 sel/ mL dengan cara kultur pada media NB distandarkan dengan standar McFarlan 5% yaitu setara dengan 1×10^8 sel/ mL (Wiegand *et al.*, 2008). Umbi diinkubasi pada suhu ruangan hingga terlihat gejala busuk lunak.

Identifikasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak

Bakteri patogen dengan gejala busuk lunak paling luas diidentifikasi dengan menggunakan Kit *Microgen™ Gna+B-ID System* (Microgen Bioproducts Ltd.). Hasil identifikasi selanjutnya disesuaikan dengan buku identifikasi Bergey’s (Holt *et al.*, 1994).

HASIL

Isolasi dan Uji Postulat Koch

Hasil isolasi bakteri pada umbi wortel lokal yang terinfeksi busuk lunak didapatkan 8 isolat bakteri. Kedelapan isolat tersebut adalah BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7 dan BL8 (Tabel 1).

Berdasarkan hasil uji Postulat Koch, bakteri yang positif menimbulkan gejala busuk lunak adalah isolat BL6. Gejala busuk lunak pada umbi wortel mulai terlihat pada hari ketiga pengamatan (Tabel 2 dan Gambar 1).

Tabel 1. Bentuk Makroskopis Koloni Bakteri Hasil Isolasi

No.	Kode Isolat	Struktur Makroskopis
1.	BL1	Koloni bulat berwarna putih, permukaan rata, tepi utuh.
2.	BL2	Koloni tidak teratur berwarna warna bening mengkilat dengan tengah koloni putih, permukaan rata, tepi berombak.
3.	BL3	Koloni bulat berwarna putih permukaan melengkung, tepi utuh.

Table 1 (lanjutan)

No.	Kode Isolat	Struktur Makroskopis
4.	BL4	Koloni bulat berwarna kuning, permukaan melengkung, tepi utuh.
5.	BL5	Koloni titik-titik berwarna kuning, permukaan datar, tepi utuh.
6.	BL6	Koloni bulat berwarna putih mengkilat dengan dengan tengah koloni putih, permukaan rata, tepi utuh.
7.	BL7	Koloni bulat berwarna kuning mengkilat, permukaan timbul datar, tepi utuh
8.	BL8	Koloni bulat berwarna putih, permukaan melengkung, tepi utuh.

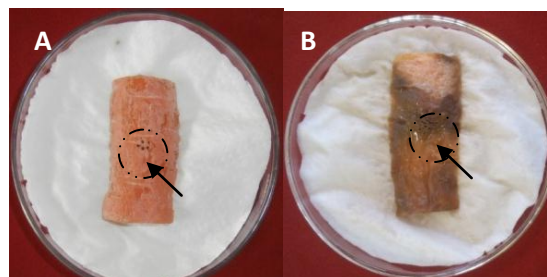
Tabel 2. Hasil Uji Postulat Koch Bakteri Uji Pada Umbi Wortel

No.	Kode Isolat	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV	Hari V
1.	Kontrol	-	-	-	-	-
2.	BL1	-	-	-	-	-
3.	BL2	-	-	-	-	-
4.	BL3	-	-	-	-	-
5.	BL4	-	-	-	-	-
6.	BL5	-	-	-	-	-
7.	BL6	-	-	+	+	+
8.	BL7	-	-	-	-	-
9.	BL8	-	-	-	-	-

Keterangan :

+ : terdapat gejala busuk lunak

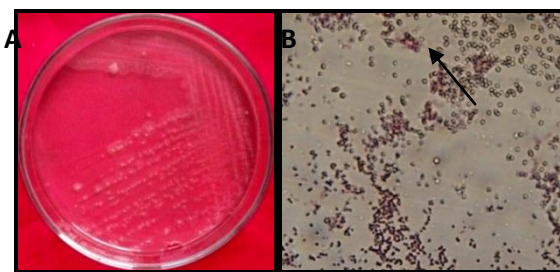
- : tidak terdapat gejala busuk lunak



Gambar 1. Hasil Uji Postulat Koch Hari Ke-5. A) Kontrol terlihat umbi tidak busuk (tanda panah), B) Umbi wortel yang diinokulasikan BL6 menunjukkan gejala busuk lunak (tanda panah).

Identifikasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak

Isolat BL6 merupakan isolat yang dapat menimbulkan gejala busuk lunak pada umbi wortel segar sehingga dilakukan identifikasi untuk mengetahui spesies dari bakteri tersebut. Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan Kit *Microgen™ Gn A+B-ID System* dan *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition* (Holt *et al.*, 1994), isolat BL6 teridentifikasi sebagai genus *Citrobacter*. Bakteri *Citrobacter* berbentuk batang dengan tipe *coccobasil* sehingga tampak lonjong di bawah mikroskop. Sel terlihat tidak berpasangan (*single pairs*) atau berantai pendek (2-3 sel). Berdasarkan hasil pewarnaan Gram termasuk bakteri Gram negatif (Gambar 2). Karakteristik dari bakteri *Citrobacter* berdasarkan uji biokimia ditunjukkan pada tabel 3.



Gambar 2. Isolat *Citrobacter*. A. Koloni bakteri *Citrobacter* pada media NA. B. Struktur mikroskopis bakteri *Citrobacter*, bakteri berbentuk coccobasil dan Gram negatif (tanda panah) (Perbesaran 10X10).

Tabel 3. Karakteristik Isolat *Citrobacter* Hasil Penelitian

No.	Karakteristik	Keterangan
1.	Bentuk koloni	Bulat (<i>entire</i>)
2.	Warna koloni	Putih bening
3.	Tepi koloni	Utuh (<i>entire</i>)
4.	Permukaan koloni	Rata (<i>flat</i>)
5.	Bentuk Sel	Coccobasil
6.	Pewarnaan Gram	Negatif
7.	Motilitas	Positif
8.	Oksidase	Negatif
9.	Katalase	Positif

Tabel 3 (lanjutan)

No.	Karakteristik	Keterangan
10.	Nitrat	Positif
11.	Lysine	Negatif
12.	Ornithin	Negatif
13.	H ₂ S	Positif
14.	Glucose	Positif
15.	Mannitol	Positif
16.	Xylose	Negatif
17.	ONPG	Positif
18.	Indole	Negatif
19.	Urease	Negatif
20.	VP.	Negatif
21.	Citrate	Negatif
22.	TDA	Positif

PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri pada umbi wortel (*D. carota* L.) varietas lokal di Bali yang terserang busuk lunak ditemukan 8 isolat bakteri yang memiliki perbedaan secara makroskopis pada koloninya. Kedelapan isolat tersebut adalah isolat BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7 dan BL8. Berdasarkan hasil uji Postulat Koch, isolat BL6 menunjukkan hasil positif dimana dapat menyebabkan busuk lunak pada umbi wortel segar. Gejala busuk lunak yang terjadi pada umbi wortel adalah berubahnya warna umbi menjadi lebih gelap yaitu kecoklatan. Umbi selanjutnya mengalami perubahan struktur menjadi lebih lembek serta ditandai dengan keluarnya cairan dari umbi yang berwarna putih keruh dan berbau tidak sedap. Menurut Masao (1999), bagian tanaman yang terinfeksi/ luka akibat penyakit busuk lunak akan menjadi basah dan berair. Jaringan yang luka selanjutnya akan berwarna lebih gelap dibandingkan jaringan yang sehat. Infeksi selanjutnya akan menyebar sehingga tanaman busuk secara keseluruhan. Kucharek dan Bartz (2000) menyatakan, perubahan struktur jaringan tersebut disebabkan karena adanya aktivitas enzim pektolitik bakteri yang dapat menghancurkan material pengikat diantara sel.

Jaringan yang rusak selanjutnya akan mengeluarkan cairan berwarna putih keruh.

Hasil identifikasi isolat bakteri BL6 dengan menggunakan Kit *Microgen™ GNA+B-ID System* menunjukkan isolat BL6 merupakan bakteri *Citrobacter freundii* dengan persentase kepercayaan 81,63%. Identifikasi kemudian dilanjutkan secara manual dengan menggunakan buku identifikasi Bergey's (Holt *et al.*, 2000). Dikarenakan hasil identifikasi Kit *Microgen™ GNA+B-ID System* menunjukkan persentase persamaan 81,63% dengan bakteri *Citrobacter freundii*, maka isolat BL6 teridentifikasi sebagai *Citrobacter*.

Bakteri *Citrobacter* menurut buku identifikasi Bergey's (Holt *et al.*, 1994) dan NCBI (2014) termasuk ke dalam Filum Proteobacteria, Kelas Gammaproteobacteria, Ordo Enterobacteriales, Famili Enterobacteriaceae dan Genus *Citrobacter*. Beberapa spesies dari genus *Citrobacter* yang telah diidentifikasi diantaranya *C. diversus*, *C. freundii*, *C. hoshinae*, *C. ictaluri* dan *C. emalonaticus*.

Bakteri *Citrobacter* yang diisolasi dari umbi wortel (*D. carota* L.) varietas lokal di Bali memiliki ciri makroskopis diantaranya koloni bulat dengan warna putih bening mengkilat dan tengah koloni berwarna putih, tepi koloni utuh dan permukaan rata. Bentuk sel coccobasil, tidak berpasangan (*single pair*) atau berantai pendek (2-3 pasang). Berdasarkan uji secara biokimia merupakan oksidase positif, mampu mereduksi nitrat, serta mengkatalisis glukosa. Hal ini sesuai dengan Holt *et al.* (1994) yang menyatakan bakteri genus *Citrobacter* positif terhadap uji nitrat dan glukosa namun negatif pada uji oksidase.

Bakteri dari genus *Citrobacter* mampu menggunakan citrat sebagai sumber karbon (Jacob dan Irshaid, 2012). Namun, bakteri *Citrobacter* yang ditemukan dalam penelitian ini menunjukkan hasil negatif pada uji citrat. Menurut (Miza *et al.*, 2004) terdapat beberapa spesies *Citrobacter* yang tidak mampu menggunakan citrat sebagai sumber karbon seperti *C. farmeri*.

Isolat *Citrobacter* merupakan ONPG (*O-nitrophenyl-β-galactosidase*) positif. Hasil test

positif terhadap ONPG menurut Delagle *et al.* (2007) menunjukkan bahwa isolat memiliki enzim β-Galaktosidase. Pada beberapa spesies mikroorganisme seperti pada bakteri *Erwinia chrysanthemi*, enzim β-Galaktosidase dikode oleh gen *lacZ* dan *lacB*. Aktivitas enzim β-Galaktosidase ditemukan mengalami kenaikan aktivitas ketika terjadi proses infeksi oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi*. Selain itu menurut (Konno dan Tsumuki, 1993), enzim β-Galaktosidase secara alami juga dimiliki oleh tumbuhan dalam komponen rantai polimer dinding selnya. Enzim ini aktif ketika terjadi proses pemasakan atau penuaan bagian tumbuhan seperti pada buah, batang dan akar. Enzim ini memiliki kemampuan dalam menghidrolisis galaktosa dari dinding sel beberapa jenis tumbuhan.

Selain positif terhadap uji ONPG, bakteri *Citrobacter* yang ditemukan juga positif terhadap uji TDA, dimana bakteri tersebut mampu mendeaminasi asam amino *L-Tryptophan* untuk memproduksi asam *Indolpyruvic*. Menurut Lamothe *et al.* (2012), sintesa hormon auksin khususnya IAA oleh bakteri berfungsi sebagai molekul sinyal bagi fisiologi bakteri, misalnya sebagai sinyal untuk menaikkan populasi sel dari rendah menjadi tinggi. Selain itu adanya sinyal auksin yang dikeluarkan oleh bakteri patogen pada proses infeksi juga dapat menaikkan intensitas penyakit.

Bakteri *Citrobacter* secara umum merupakan bakteri pencemar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri *coliform*. Bakteri ini sering ditemukan mengkontaminasi sayuran segar di pasar (Stevens *et al.*, 2003; Falomir *et al.*, 2010). Adanya aktivitas bakteri *Citrobacter* yang menyebabkan penyakit busuk lunak pada umbi wortel lokal (*D. carota*) varietas lokal di Bali kemungkinan disebabkan oleh adanya aktivitas dari enzim β-Galaktosidase dan didukung oleh kemampuan bakteri tersebut dalam memproduksi sinyal untuk sintesa auksin. Aktivitas bakteri *Citrobacter* sp. sebagai agen penyebab busuk lunak belum pernah dilaporkan sebelumnya. Meskipun demikian, penelitian yang dilakukan oleh Joko *et al.* (2013) menyatakan bahwa beberapa genus

bakteri seperti *Citrobacter*, *Pectobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella* dan *Pseudomonas* dapat menimbulkan gejala penyakit busuk lunak setelah diinokulasikan pada anggrek (*Phalaenopsis* sp.). Patogenitas dari patogen tersebut sangat ditentukan oleh ada tidaknya enzim pendegradasi dinding sel atau *Plant Cell Wall-Degrading Enzymes* (PCDE). Hal ini dapat diduga bahwa bakteri *Citrobacter* memiliki kemampuan menghasilkan PCDE yang dapat mendegradasi sel-sel dari umbi wortel sehingga menyebabkan busuk lunak.

SIMPULAN

Hasil isolasi didapatkan 8 isolat bakteri (BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7 dan BL8) pada umbi wortel (*D. carota*) varietas lokal di Bali yang terserang busuk lunak. Isolat yang mampu menyebabkan busuk lunak berdasarkan hasil uji postulat Koch adalah isolat BL6. Hasil identifikasi lanjut menggunakan Kit *Microgen*TM *GnA+B-ID System* dan buku identifikasi *Bergey's* (Holt *et al.*, 1994), isolat BL6 teridentifikasi sebagai genus *Citrobacter*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bachmann, J., and R. Earles. 2000. Postharvest Handling of Fruits and Vegetables. Appropriate Technology Transfer for Rural Areas: 1-19.
- Bathily, H., A.H. Babana and F. Samake. 2010. *Bacillus pumilus*, A New Pathogen on Potato Tubers in Storage in Mali. African Journal of Microbiology Research. 4(20): 2067-2071.
- Bhat, K.A., S.D. Masood., N.A. Bhat., M.A. Bhat. and S.M. Razvi. 2010. Current Status of Post Harvest Soft Rot in Vegetables: A Review. Asian Journal of Plant Sciences: 1-9.
- Holt, J.G., N.R. Krieg., P.H.A. Sneath., J.T. Staley. and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. United States. Maryland: William and Wilkins Co Baltimore.
- Cowan, M.K. and K.P. Talaro. 2006. *Microbiology A Systems Approach*. New York: McGraw-Hill Companies.
- Dinas Pertanian Tanaman Pangan Propinsi Bali. 2013. Komoditi Unggulan dan Andalan Sayuran. [Cited: 20.8.2013]. Available from: <http://www.distanprovinsibali.com/index.php?menu=statistik&id=2>
- Davison, E., A. McKay and R. Jones. 2004. Management of Carrot Diseases. Sydney Australia. [Cited: 20.8.2013]. Available: <http://www.vgavic.org.au/pdf/VegeNote-Carrot-Disease-Management.pdf>
- Deak, T., and J. Farkas. 2013. Microbiology of Thermally Preserved Food: Canning and Novel Physical Methods. USA: Destech Publications. Inc.
- Delagne, A., A.F. Prouvost, V. Coge, J.P. Bohin, J.M Lacroix and N.H. Cotte-Pattat. 2007. Characterization of the *Erwinia chrysanthemi* gen Locus, Involved in Galactan Catabolism. J. Bacteriol. 189 (19): 7053-7061
- Dwidjoseputro, D. 2003. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djambatan.
- Galati, A. and A. McKay, S.C. Tan. 2005. Minimising Post-Harvest Losses of Carrots. Farm Note Department of Agriculture and Food. 75 (95): 1-3.
- Falomir, M.P., D. Gozalbo and H. Rico. 2010. Coliform Bacteria in Fresh Vegetables: From Cultivated Lands to Consumers [Cited 17.4.2014]. Available at: <http://www.formatex.info/microbiology/2/1175-1181.pdf>
- Joko, T., A. Subandi, N. Kusumandari, A. Wibowo and A. Priyatmojo. 2013. Activities of Plant Cell Wall-degrading Enzymes by Bacterial Soft Rot of Orchid. Archives of Phytopathology and Plant Protection. Taylor & Francis. [Cited: 17.4.2014]. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03235408.2013.838374#preview>
- Konno, H. and H. Tsumuki. 1993. Purification of A β -Galactosidase from Rice Shoots and its involvement in hydrolysis of the Natural Substrate in Cell Walls. Physiol. Plant. 89: 40-47.
- Kucharek, T. and J. Bartz. 2000. Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops.

- Plant Pathology Fact Sheet. [Cited: 4.2.2014]. Available from: <http://plantpath.ifas.ufl.edu/extension/factsheets/pdfs/pp0012.pdf>
- Lamothe, R.G., M. E. Oirdi, N. Brisson and K. Bouarab. 2010. The Conjugated Auxin Indole-3-Acetic Acid-Aspartic Acid Promotes Plant Disease Development. American Society of Plant Biologist. 2(24):762-777.
- Masao, G. 1999. Fundamental of Bacterial Plant Pathology. California: Academic Press.
- NCBI. 2014. Citrobacter. [Cited: 10.2.2014]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=544&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- Miza, D.L., L.M. Pezzlo, J. Shigei. and E. Peterson. 2004. Color Atlas of Medical Bacteriology. New York USA: ASM Press.
- Pelczar M.J. and E.C.S. Chan. 2003. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid Ke-1. Jakarta: UI-Press.
- Jacob H. J. and F. I. Irshaid, 2012. Biochemical and Molecular Taxonomy of a Mild Halophilic Strain of *Citrobacter* Isolated from Hypersaline Environment. Research Journal of Microbiology. 7(4): 219-226.
- Potter, A.S., S. Foroudi, A. Stamatikos, B.S. Patil and F. Deyhim. 2011. Drinking Carrot Juice Increases Total Antioxidant Status and Decrease Lipid Peroxidation in Adults. Nutrition Journal. 13(1):17
- Rajvanshi, A. 2010. Bacterial Load on Street Vended Salads in Jaipur City, India. Internet Journal of Food Safety. 112: 136-139.
- Saadoun, I., M. Hameed, F. Al-Momani and Q. Ababneh. 2008. Effect of Three *Orobanch* spp. Extracts on Some Local Phytopathogens, *Agrobacterium* and *Erwinia*. Turk J. Biol. 32: 113-117
- Snijder, R.C., and J.M.V. Tuyl. 2002. Evaluation of Test to Determine Resistance of *Zantedeschia* spp. (Araceae) to Soft Rot Caused By *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. European Journal of Plant Pathology. 108: 565-571.
- Stevens, M., N. Ashbolt and D. Cunliffe. 2003. Review of Coliform: as Microbial Indicators of Drinking Water Quality. Australian Government: National Health and Medical Research Council: Australia.
- Wiegand, I., K. Hilpert. and R.E.W. Hancock. 2008. Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances [Cited: 7.8.2013]. Available: http://www.cmdr.ubc.ca/bobh/rjpdocs/353_2008_NatureProtocols_3_p163.pdf

KEBERADAAN BAKTERI PATOGEN *Vibrio cholerae* PADA BEBERAPA HASIL PERIKANAN YANG DIJUAL DI PASAR TRADISIONAL KOTA DENPASAR

THE EXISTENCE OF PATHOGENIC BACTERIA *Vibrio cholerae* IN SOME FISHERY PRODUCTS SOLD IN DENPASAR CITY TRADITIONAL MARKET

I Wayan Yogi Widyastana^{1*}, Retno Kawuri¹, Anak Agung Gde Raka Dalem¹
Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Bali
**Email: yogiwidyastana@gmail.com*

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri patogen *Vibrio cholerae*, sebagai penyebab penyakit kolera, pada beberapa hasil perikanan yang dijual di pasar tradisional Kota Denpasar, Bali. Sampel yang digunakan diantaranya Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*), Udang Kelong (*Penaeus indicus*), dan Kerang Kijing (*Anodonta* sp.). Sampel diperoleh dari tiga pasar tradisional di Kota tersebut, yaitu Pasar Ketapian, Pasar Kumbasari, dan Pasar Pidada. Semua sampel dikultur dengan media *Alkaline Peptone Water* (APW) dilanjutkan dengan media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS), Uji Biokimiawi, dan Uji Serologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dua (7,4%) sampel di Pasar Ketapian terbukti positif mengandung bakteri patogen *V. cholerae*, yaitu udang dengan kode UA2 dan kerang dengan kode KA2. Sedangkan di dua pasar tradisional lainnya tidak ditemukan adanya bakteri *V. cholerae*.

Kata Kunci: *Vibrio cholerae*, pasar tradisional Kota Denpasar, hasil perikanan, Bali

ABSTRACT

The purpose of this research was to find out the existence of *Vibrio cholerae*, bacteria that may cause cholera disease, in some fishery products in Denpasar traditional market, Bali. This research used samples taken from three different fisheries products: tuna fishes (*Euthynnus affinis*), shrimps (*Penaeus indicus*), and shellfish (*Anodonta* sp.). They were taken from three traditional markets in Denpasar City: Ketapian, Kumbasari, and Pidada Markets. All samples were cultured on *Alkaline Peptone Water* (APW) media, continued by *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS), and then *Biochemical Test* and *Serology Test* undertaken. The results of this study showed that two (7.4%) samples taken from Ketapian Market were proved to be positive containing pathogenic bacteria of *V. cholerae*; they were the shrimps with UA2 code and the shellfish with KA2 code. Meanwhile, there were no *V. cholerae* contaminations proven to exist in two other kind of products in other two traditional markets.

Key Words: *Vibrio cholerae*, Denpasar City traditional market, fishery products, Bali

PENDAHULUAN

Bali merupakan salah satu tujuan wisata dunia yang merupakan sektor andalan bagi pemerintah Indonesia untuk menjaring devisa negara, karena pulau ini didukung objek wisata dan atraksi wisata yang beranekaragam. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (2014), kunjungan wisatawan domestik dan manca negara ke Pulau Bali menunjukkan peningkatan yang sangat signifikan, yaitu pada tahun 2013 hingga 2014, sebesar 14,89%. Peningkatan kunjungan wisatawan ini seharusnya diimbangi dengan pelayanan yang semakin baik dari waktu ke waktu, terutama pelayanan kepada wisatawan yang berhubungan dengan masalah kesehatan dan kebersihan lingkungan pada destinasi wisata. Kondisi lingkungan destinasi wisata yang kurang dijaga kebersihannya akan berpengaruh terhadap kesehatan wisatawan, terutama mereka yang berasal dari negara-negara maju, karena secara umum mereka sangat rentan terhadap infeksi mikro-organisme yang mencemari makanan atau minuman (Nurmaini, 2001).

Vibrio cholerae merupakan salah satu mikroba penyebab penyakit yang sering ditemukan pada makanan (Siagan, 2002). Bila bakteri ini mencemari makanan dan dikonsumsi dalam jumlah tertentu, maka dapat menyebabkan penyakit kolera. Dampak langsung bakteri patogen ini adalah terjadinya gangguan tingkat kesehatan inangnya, atau bahkan dalam keadaan tertentu dapat menyebabkan kematian (Pelczar dan Chan, 2006). Penyakit kolera yang disebabkan oleh bakteri *V. cholerae* penyebarannya dapat berasal dari hasil perikanan yang terkontaminasi bakteri patogen tersebut (Osawa, 2008). Penjualan hasil perikanan banyak ditemukan di berbagai pasar tradisional. Pasar tradisional merupakan salah satu jenis pasar yang biasanya terletak dekat pemukiman masyarakat dimana pasar ini menjual berbagai barang kebutuhan sehari-hari, diantaranya bahan makanan. Bahan makanan yang dijual salah satunya adalah hasil perikanan. Dalam hal ini, pasar tradisional berperan sebagai sumber tempat jual beli hasil perikanan yang rentan terkontaminasi bakteri *V. cholerae*.

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri *V. cholerae* (dari berbagai jenis hasil perikanan di beberapa pasar tradisional di kota Denpasar, Bali), sehingga diperoleh informasi tentang keberadaan bakteri *V. cholerae* yang ditemukan di Denpasar.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode *observational deskriptif* dengan teknik pengambilan *Purposive Random Sampling*. Sampel yang digunakan adalah hasil perikanan yang dijual di pasar tradisional Kota Denpasar. Prosedur penelitian ini diantaranya pertama pengambilan sampel Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*), Udang Kelong (*Penaeus indicus*), dan Kerang Kijing (*Anodonta* sp.) yang diambil dari Pasar Ketapian, Pasar Kumbasari, dan Pasar Ubung Pidada di Kota Denpasar, Bali. Kedua, dilakukan isolasi bakteri *V. cholerae* kemudian dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis (pewarnaan gram). Dilanjutkan dengan uji biokimia bakteri dan uji serologi.

Isolasi bakteri *V. cholerae* patogen dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Udayana di kampus Bukit Jimbaran dan di UPT. Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Bali, pada bulan Mei sampai Juni 2013. Media yang digunakan untuk isolasi bakteri *V. cholerae* yaitu, *Alkaline Peptone Water* (APW) Oxoid™, Media agar *Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose* (TCBS) Oxoid™, Media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) Oxoid™, Media *Sulfida Indol Motility* (SIM) Oxoid™, Media agar Simmons Citrate Oxoid™, Serum Aglutinasi (Polyvalent, Inaba, Ogawa) Bio Farma dan aquades steril.

Isolasi bakteri diawali dengan proses *enrichment* (pengayaan). Pada proses ini, masing-masing sampel (ikan, udang, dan kerang) dipotong kecil dan dihancurkan terlebih dahulu, setelah itu diambil 1 g sampel dan dimasukkan ke dalam 9 mL media *Alkaline Peptone Water* (APW), lalu dihomogenkan kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah sampel diinkubasi, diambil satu jarum ose, digoreskan secara *streak* ke medium agar TCBS, lalu

diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni yang dicurigai yaitu berwarna kuning dengan ukuran 2-3 mm diambil dengan jarum Ose dan di-*streak* kembali pada medium agar TCBS untuk dilakukan pemurnian kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Selanjutnya, koloni bakteri yang terpisah diambil dengan menggunakan jarum ose dan dibiakkan di media agar TCBS miring yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam (Osawa, 2008).

Koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis meliputi bentuk, ukuran, tekstur dan warna koloni pada media agar TCBS. Koloni yang diduga bakteri *V. cholerae* berwarna kuning, cembung, keruh, dan bergranul bila disinari (Bridson, 2006). Sedangkan secara mikroskopis dibuat apusan bakteri pada kaca obyek yang kering dan bersih. Kemudian difiksasi di atas nyala api Bunsen dan diwarnai dengan larutan kristal violet selama 1 sampai 1,5 menit. Setelah itu dicuci dengan air suling dan ditetesi dengan larutan garam iodin serta dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya dicuci dengan larutan alkohol 95% sampai warnanya terhapus (kurang lebih selama 30 detik). Kemudian dicuci dengan air dan diwarnai dengan safranin selama 5 sampai 15 menit lalu dicuci lagi dengan air. Setelah itu dikeringkan di udara atau di atas nyala api Bunsen. Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (Kawuri dkk., 2007).

Tahap berikutnya yaitu dengan uji biokimia bakteri. Isolat bakteri yang dicurigai dibiakkan menggunakan media TSIA, SIM, dan Simmon Citrate. Hasil positif *V. cholerae* pada media TSIA ditunjukkan dengan bagian dasar berwarna kuning dan bagian lereng berwarna merah. Pada media SIM biakan *V. cholerae*

akan menunjukkan hasil positif, yaitu pertumbuhan bakteri menyebar seperti akar. Hasil biakan bakteri *V. cholerae* pada media *Simmon Citrate* menunjukkan hasil yang negatif, yaitu media tidak mengalami perubahan warna (Bridson, 2006).

Uji Serologi dilakukan dengan cara diambil 1 ose kultur dari agar miring TCBS dan diletakkan di atas gelas preparat, kemudian ditetesi dengan larutan *saline* 0,85% dan diemulsikan. Setelah itu, diletakkan 1 tetes antiserum *Polyvalent*, Inaba, Ogawa disamping suspensi koloni dan dicampurkan antiserum sedikit demi sedikit dengan suspensi koloni sampai tercampur sempurna. Dilakukan kontrol dengan menggunakan larutan *saline* dan antiserum. Setelah itu, diamati reaksi penggumpalan. Reaksi positif terjadi apabila terdapat penggumpalan pada larutan kultur dan tidak terjadi penggumpalan pada larutan kontrol. Reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak terjadi penggumpalan baik pada larutan kultur maupun larutan kontrol (Osawa, 2008).

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa dari beberapa sampel hasil pemeriksaan bakteri patogen *V. cholerae* yang diambil secara acak dari pedagang hasil perikanan di pasar tradisional Kota Denpasar (Pasar Ketapian, Pasar Kumbasari, dan Pasar Pidada) terdapat beberapa sampel yang positif mengandung bakteri golongan *Vibrio*, bakteri patogen *V. cholerae*. Sampel yang positif mengandung bakteri patogen *V. cholerae* yaitu sampel udang dengan kode UA2 dan kerang dengan kode KA2 yang ditemukan di Pasar Ketapian.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Bakteri Patogen *V. cholerae* di Pasar Ketapian

No	Jenis Sampel	Kode	Hasil Pemeriksaan	
			Bakteri Gol. <i>Vibrio</i>	Bakteri Patogen <i>V. Cholerae</i>
1	Ikan	IA1	Negatif	Negatif
		IA2	Positif	Negatif
		IA3	Negatif	Negatif

Tabel 1 (lanjutan)

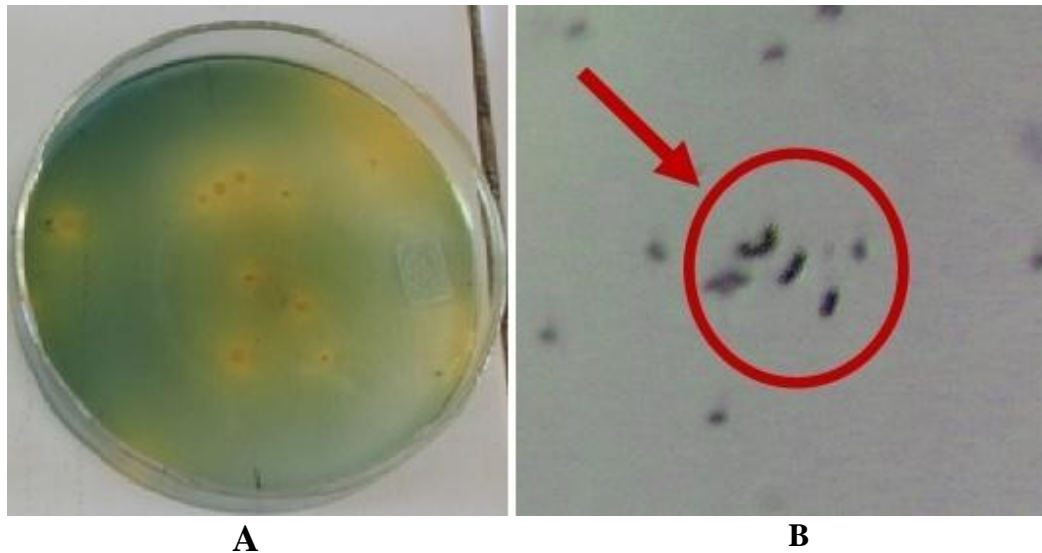
No	Jenis Sampel	Kode	Hasil Pemeriksaan	
			Bakteri Gol. <i>Vibrio</i>	Bakteri Patogen <i>V. Cholerae</i>
2	Udang	UA1	Negatif	Negatif
		UA2	Positif	Positif
		UA3	Positif	Negatif
3	Kerang	KA1	Negatif	Negatif
		KA2	Positif	Positif
		KA3	Positif	Negatif

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Bakteri Patogen *V. cholerae* di Pasar Kumbasari

No	Jenis Sampel	Kode	Hasil Pemeriksaan	
			Bakteri Gol. <i>Vibrio</i>	Bakteri Patogen <i>V. cholerae</i>
1	Ikan	IB1	Positif	Negatif
		IB2	Negatif	Negatif
		IB3	Positif	Negatif
2	Udang	UB1	Positif	Negatif
		UB2	Negatif	Negatif
		UB3	Positif	Negatif
3	Kerang	KB1	Negatif	Negatif
		KB2	Negatif	Negatif
		KB3	Negatif	Negatif

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Bakteri Patogen *V. cholerae* di Pasar Pidada

No	Jenis Sampel	Kode	Hasil Pemeriksaan	
			Bakteri Gol. <i>Vibrio</i>	Bakteri Patogen <i>V. cholerae</i>
1	Ikan	IC1	Positif	Negatif
		IC2	Positif	Negatif
		IC3	Negatif	Negatif
2	Udang	UC1	Negatif	Negatif
		UC2	Positif	Negatif
		UC3	Negatif	Negatif
3	Kerang	KC1	Negatif	Negatif
		KC2	Positif	Negatif
		KC3	Positif	Negatif



Gambar 1. (A) Foto koloni *V. cholerae* berwarna kuning pada media TCBS, (B) Struktur mikroskopis bakteri *V. cholerae* berbentuk batang bengkok dan Gram negatif (tanda panah, perbesaran 1000x)

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh sampel hasil perikanan yang positif tercemar bakteri *V. cholerae* patogen adalah sampel dengan kode KA2 dan UA2. Pada sampel yang positif tercemar *V. cholerae* menunjukkan hasil koloni berwarna kuning pada media TCBS Agar. Menurut Farouque *et al.* (2000), perubahan warna pada media TCBS disebabkan karena bakteri tersebut memfermentasi sukrosa dan menurunkan pH media sehingga menjadi asam. Uji menggunakan media TSIA berupa lereng berwarna merah dan dasar berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *V. cholerae* mampu memfermentasikan gula. Menurut Yuwono (2005) sifat biokimia *V. cholerae* adalah dapat memfermentasikan glukosa, sukrosa, dan manitol menjadi asam tanpa menghasilkan gas, sedangkan laktosa dapat difermentasikan tetapi lambat.

Pemeriksaan berikutnya adalah uji motilitas menggunakan media SIM. Media SIM merupakan media semi padat yang berfungsi untuk mendeteksi pergerakan bakteri (Bridson, 2006). Pemiakan sampel yang tercemar bakteri patogen *V. cholerae* pada media SIM menunjukkan hasil yang positif, yaitu pertumbuhan bakteri menyebar seperti akar. Menurut Farouque *et al.* (2000) menyatakan bahwa *V. cholerae* memiliki sebuah flagel yang

terdapat di bagian kutub (*Monotrikh*) sehingga bakteri ini dapat bergerak secara aktif.

Pada pemeriksaan sampel dengan menggunakan media *Simmons Citrate*, menunjukkan hasil yang negatif. Medium sintetik dengan Na sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan NH_4^+ sebagai sumber N, serta *brom thymol blue* sebagai indikator pH adalah komposisi dari medium *Simmons Citrate*. Hasil positif pada media *Simmons Citrate* akan mengubah media menjadi berwarna biru, sedangkan reaksi negatif tidak mengubah warna media, yaitu tetap berwarna hijau. Kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dapat dilihat menggunakan uji sitrat (Bridson, 2006). Menurut Davis *et al.* (2001), *V. cholerae* tidak mampu memfermentasikan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon untuk metabolisme sehingga tidak terjadi perubahan warna pada media *Simmons Citrate*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel hasil perikanan yang terdapat di salah satu pasar tradisional Denpasar sudah terinfeksi bakteri *V. cholerae* tipe Inaba yaitu pada Pasar Ketapian diantaranya pada sampel udang (UA2) dan kerang (KA2) atau sekitar 7,4% dari semua sampel telah tercemar bakteri *V. cholerae*. Hasil tersebut telah melewati ambang batas

persyaratan mutu dan keamanan pangan ikan segar (SNI 01-2729.1-2006).

Hasil pemeriksaan tersebut memberi petunjuk bahwa tingkat infeksi terjadi salah satunya disebabkan oleh sistem pengelolaan pelelangan ikan yang kurang baik. Berdasarkan Badan Riset Kelautan dan Perikanan (2012), karena lingkungan yang kurang bersih, sehingga bakteri *V. cholerae* yang berasal dari laut yang tercemar dapat mencemari pasar tradisional.

Menurut Purwoko (2007), transmisi utama penyakit kolera ditentukan oleh faktor lingkungan seperti temperatur, kebersihan dan konsentrasi nutrisi misalnya zooplankton di dalam air. Kondisi pasar sebagai tempat berjualan juga dapat mempengaruhi keberadaan bakteri *V. cholerae*. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pribadi (2008), faktor lokasi penjualan, peralatan yang kurang higienis mempengaruhi adanya kontaminasi bakteri *V. cholerae*. Beberapa penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat berbagai sumber transmisi dari bakteri *V. cholerae*. Sumber makanan yang berasal dari hasil perikanan merupakan salah satu sumber transmisi yang paling sering terjadi. Hal ini erat kaitannya dengan teori bahwa air dengan kadar garam tinggi seperti air laut adalah tempat hidup alami dari *Vibrio* sp., sehingga memudahkan proses kontaminasi (Madigan *et al.*, 2002). Selain itu faktor seperti temperatur, kebersihan, dan konsentrasi dari makanan yang tercemar bakteri *V. cholerae* yang tidak sengaja dikonsumsi juga berpengaruh pada transmisi ini (WHO, 2005).

Kontaminasi bakteri *V. cholerae* pada hasil perikanan dapat disebabkan oleh penggunaan es sebagai bahan pengawet. Hal tersebut juga sesuai dengan hasil penelitian Ananta *et al.* (2011) bahwa penggunaan es sebagai bahan pengawet ikan yang digunakan oleh pedagang ikan juga dapat mengandung bakteri *V. cholerae*. Selain itu, Shawyer (2003) menyatakan bahwa penggunaan es maupun air es secara berulang-ulang kemungkinan menyebabkan kontaminasi *V. cholerae* juga meningkat.

Tercemarnya hasil perikanan dapat disebabkan oleh air sungai atau laut yang

merupakan sumber hasil perikanan telah terkontaminasi oleh bakteri *V. cholerae* (Waluyo, 2004). Bakteri *V. cholerae* menyebar melalui feses atau kotoran manusia. Bila kotoran yang mengandung bakteri ini mengkontaminasi air sungai atau air laut, maka hasil perikanan yang hidup di perairan tersebut akan terkontaminasi bakteri itu juga (Suriawiria, 2003). Selain itu, apabila air yang terkontaminasi ini digunakan untuk keperluan sehari-hari seperti mencuci tangan, maka orang tersebut dapat membawa bakteri *V. cholerae*. Bila orang tersebut berprofesi sebagai nelayan atau pedagang ikan dan melakukan kontak dengan hasil perikanan, maka hasil perikanan yang disentuhnya dapat terkontaminasi bakteri *V. cholerae*.

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel udang dan kerang yang dijual di pasar tradisional Kota Denpasar, memiliki peluang tercemar bakteri *V. cholerae*, walaupun peluang terjadinya pencemaran tersebut tidak tinggi, yaitu 7,4%. Bakteri *V. cholerae* ditemukan pada sampel udang dengan kode UA2 dan kerang dengan kode KA2 yang terdapat di Pasar Ketapian.

KEPUSTAKAAN

- Ananta W.S., I.G.M. Wijaya, P. Yuniadi, I.G.P. Dhinarananta dan M.A. Hendryana. 2011. Deteksi Serotipe Bakteri *Vibrio cholerae* O1 pada Sampel Es Pengawet Hasil Laut di Pasar Ikan Kedonganan, Kuta. (laporan penelitian). Denpasar: Universitas Udayana.
- Badan Pusat Statistik. 2014. Statistik Wisatawan Manca Negara ke Bali Tahun 2014. Denpasar: Badan Pusat Statistik Propinsi Bali.
- Badan Riset Kelautan dan Perikanan. 2012. Pengolahan Ikan dan Hasil Laut. Jakarta: Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. SNI 01-2729.1-2006 Spesifikasi Ikan Segar I. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Bridson, E.Y. 2006. The Oxoid Manual. 9th Ed. Hampshire. Oxoid Limited.

- Davis, B.M., H.M. Kimsey, W. Chang and M.K. Waldor. 2001. The *Vibrio cholerae* O139 Calcutta Bacteriophage CTX is Infectious and Encodes A Novel Repressor. *Journal of Bacteriology*. 181(21): 67-79.
- Farouque, S.M., M.J. Albert and J.J. Mekalanos. 2000. Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(4): 1301-1314.
- Madigan, M.T., P.J. Martinko and J. Parker. 2002. *Brock Biology of Microorganisms*. New York: Prentice Hall International Inc., Englewood Cliff.
- Nurmaini. 2001. *Pencemaran Makanan Secara Kimia dan Biologis*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Osawa. 2008. *Osawa Sensei's Vibrio cholerae Isolation Protocol for Environmental Samples (Seafood and River or Melted Ice Water)*. Japan: KOBE University.
- Pelczar, Jr. dan E.C.S. Chan. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I & II*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pribadi, A. 2008. Identifikasi Bakteri *Vibrio cholerae* pada Udang Bakar yang Dijual di Sekitar Jalan Pahlawan Semarang [cited 8 Des. 2013]. Available from: <http://digilib.unimus.ac.id>.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Kawuri, R. dan Y. Ramona, I.B.G. Darmayasa. 2007. *Diktat Mikrobiologi Umum*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Shawyer, M. 2003. The Use of Ice on Small Fishing Vessels. *Food Agricultural Organization of the United Nations*. 9(4): 9-21.
- Siagan, A. 2002. Mikroba Patogen pada Makanan dan Sumber Pencemaran-nya [cited 9 Des 2012]. Available from: <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-albiner3.pdf>.
- Suriawiria. 2003. *Mikrobiologi Air*. Bandung: PT Alumni.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.
- World Health Organization, Food and Agricultural Organization. 2005. *Risk Assessment of Choleraenic Vibrio Cholerae O1 and O139 in Warm-Water Shrimp in International Trade*. Microbiological Risk Assessment Series. 9th Ed. 16(2): 17-21.
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT
BUSUK LUNAK PADA BUAH STROBERI (*Fragaria x ananassa*)**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIAL CAUSING
SOFT ROT DISEASE ON STRAWBERRY FRUIT
(*Fragaria x ananassa*)**

Made Mega Yuliasari^{1*}, Retno Kawuri¹, Meitini Wahyuni Proborini¹
Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali
Email: megieyulia@gmail.com

INTISARI

Penyakit busuk lunak pada buah stroberi (*F. x ananassa*) ditemukan di perkebunan stroberi daerah Candi Kuning, Bedugul, Bali. Busuk lunak pada buah stroberi disebabkan oleh mikroorganisme yaitu bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi bakteri patogen penyebab busuk lunak dengan *plating method* dan mengidentifikasi bakteri penyebab busuk lunak pada buah stroberi menggunakan Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System* dan acuan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Hasil penelitian diperoleh lima isolat bakteri (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, dan IB-5). Hasil positif uji Postulat Koch menunjukkan bahwa bakteri penyebab busuk lunak pada buah stroberi adalah isolat IB-1. Hasil identifikasi menggunakan Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System* dan acuan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) menunjukkan bahwa IB-1 adalah bakteri *Weeksella*.

Kata kunci: identifikasi, busuk lunak, buah stroberi, *Weeksella*.

ABSTRACT

Soft rot on strawberry fruit was found in strawberry (*F. x ananassa*) plantation in Candi Kuning, Bedugul, Bali. Soft rot on strawberry fruit can be caused by microorganism i.e. bacteria. Objectives of the research were to isolate pathogen causing soft rot on strawberry fruit with *plating method* and to identify bacteria causing soft rot by using Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System* and *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* reference (Holt *et al.*, 1994). Results showed there were five isolates of bacteria (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, and IB-5). Positive result of Postulat Koch showed that bacteria causing soft rot on strawberry is IB-1. Identification that was done by using Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System* and *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* reference (Holt *et al.*, 1994), showed that the isolate IB-1 is *Weeksella*.

Key words: identification, soft rot, strawberry fruit, *Weeksella*.

PENDAHULUAN

Buah stroberi (*F. x ananassa*) di Bali memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena

dimanfaatkan sebagai buah segar, industri obat-obatan, dan bahan kecantikan (Hanif dkk., 2012). Kualitas buah stroberi penting

dipertahankan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat dan mempertahankan perekonomian para petani stroberi (Budiman dan Saraswati, 2008). Produksi stroberi di Indonesia pada tahun 2011 yaitu 41.035 ton meningkat 313,78% menjadi 169.793 ton (Badan Pusat Statistik, 2013). Produksi buah stroberi dalam negeri belum mampu menutupi permintaan pasar yang tinggi sehingga pada tahun 2012 terdapat peningkatan impor bibit stroberi sebesar 13,7%, yaitu dari 88.000 menjadi 100.000 (Deptan, 2013). Budidaya stroberi di Indonesia belum dilakukan secara optimal karena kurangnya pengolahan lahan dan tidak maksimalnya teknik pemupukan serta pemeliharaan yang diterapkan petani menyebabkan tanaman ini rentan dari serangan patogen penyebab penyakit busuk pada buah stroberi (Kurnia, 2005).

Penyakit busuk pada buah stroberi yang disebabkan oleh jamur dan bakteri belum banyak diteliti (Hanif dan Ashari, 2008). Beberapa jenis jamur patogen yang ditemukan antara lain *Botrytis cinerea* (bercak kelabu), *Colletotrichum acutatum* (busuk antraknosa), dan *Phytophthora cactorum* (busuk kulit buah) (Hartman dan Kaiser, 2008). Penelitian yang dilakukan Kuchareck dan Bartz (1994), bakteri yang menyebabkan penyakit busuk lunak pada buah stroberi termasuk famili Enterobacteriaceae adalah *Erwinia carotovora* dan *Pseudomonas marginalis* di Florida.

Hasil observasi yang dilakukan di Candi Kuning, Bedugul, Tabanan, ditemukan ciri-ciri morfologi gejala penyakit busuk lunak pada buah stroberi yaitu bagian buah yang busuk terlihat basah, berwarna sedikit kecoklatan, berlendir, dan mengeluarkan bau busuk. Berdasarkan hasil wawancara, penyakit busuk lunak pada buah stroberi sangat mengganggu produk panen (Puja, Kompri 2013). Untuk itu, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri patogen penyebab busuk lunak pada buah stroberi.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan pada dua tempat yaitu kebun stroberi di daerah Candi Kuning, Bedugul, Tabanan sebagai tempat pengambilan

sampel buah stroberi yang mengalami busuk lunak dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana untuk isolasi dan identifikasi bakteri patogen penyebab busuk lunak pada buah stroberi. Penelitian dilakukan selama 4 bulan yaitu dari bulan Oktober 2013 sampai Januari 2014.

Pengambilan Sampel

Buah stroberi yang memiliki ciri-ciri morfologi gejala busuk lunak dari kebun daerah Candi Kuning, Bedugul diambil sebagai sampel. Sebanyak 3 buah stroberi dimasukkan ke dalam kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana untuk diisolasi dan diidentifikasi.

Isolasi Bakteri dari Busuk Lunak Buah Stroberi (*F. x ananassa*)

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran (*Plating Method*) (Pelczar dan Chan, 2006). Diambil bagian buah yang setengah busuk dan setengah segar dengan ukuran 1x1 cm. Secara aseptik sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi 5 mL air steril dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Sampel dibuat faktor pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} . Masing-masing faktor pengenceran secara aseptik diambil 1 mL untuk dimasukkan ke cawan petri steril yang berisi media NA (*Nutrient Agar*). Sampel dihomogenkan dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C . Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan metode *streak quadrant*. Isolat bakteri disimpan pada media NA miring dan dikultur di media NB (*Nutrient Broth*) selama 24 jam untuk Uji Postulat Koch.

Uji Postulat Koch Bakteri Penyebab Busuk Lunak pada Buah Stroberi (*F. x ananassa*)

Buah stroberi matang dan segar dipotong secara longitudinal (metode *slice test*) menjadi dua bagian (Snijder dan Tuyl, 2002). Buah stroberi disterilisasi dengan menggunakan Bayclin 10% selama 5 menit dan dibilas dengan air steril tiga kali. Buah stroberi steril

dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah dilapisi tisu steril. Buah ditusuk menggunakan jarum steril dan ditambahkan 100 µL suspensi bakteri murni dari hasil isolasi. Buah stroberi diinkubasi di dalam suhu ruangan. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam dan dicatat perubahan atau gejala yang ditimbulkan. Pengamatan dihentikan setelah buah stroberi mengalami busuk lunak dan mengeluarkan bau busuk. Uji Postulat Koch diulang sebanyak 3 kali untuk memastikan bahwa bakteri tersebut menyebabkan busuk lunak pada buah stroberi (*F.x ananassa*) dan dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram bakteri patogen.

Identifikasi Bakteri Patogen Penyebab Busuk Lunak

Disiapkan isolat kultur bakteri murni yang akan diidentifikasi setelah diinkubasi 18-24 jam. Identifikasi bakteri patogen menggunakan Kit *Microgen™ GNA+B-ID System* dari Korea dan acuan *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994) .

HASIL

Isolasi Bakteri

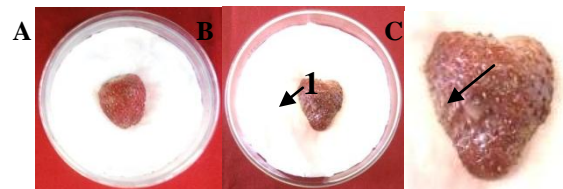
Hasil penelitian diperoleh lima isolat bakteri pada buah stroberi yang mengalami busuk lunak. Morfologi kelima isolat bakteri secara makroskopis adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Ciri-ciri koloni isolat bakteri

No.	Isolat Bakteri	Ciri-ciri koloni
1.	IB-1	Bentuk bulat, pinggir bergelombang, warna putih, dan permukaan yang timbul datar
2.	IB-2	Bentuk tidak rata, pinggir berbenang, warna putih, permukaan rata
3.	IB-3	Bentuk bulat L-form, rata dan bening, putih tua di tengah, timbul datar
4.	IB-4	Bentuk rhizoid, pinggir bercabang, warna putih, permukaan rata
5.	IB-5	Bentuk bulat, pinggir berbenang, warna putih, permukaan melengkung

Uji Postulat Koch Bakteri Penyebab Busuk Lunak pada Buah Stroberi (*F. x ananassa*).

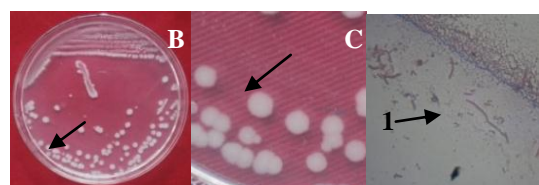
Hasil Postulat Koch pada kelima bakteri uji menunjukkan bahwa isolat IB-1 mampu menunjukkan gejala busuk lunak pada buah stroberi segar (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil positif uji Postulat Koch pada buah stroberi yang diinokulasikan isolat bakteri setelah diinkubasi 3 hari; A = kontrol, B = isolat IB-1 (tanda panah 1), dan C = busuk lunak buah stroberi (perbesaran 6 x)

Identifikasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak Buah Stroberi (*F. x ananassa*).

Hasil identifikasi isolat IB-1 memiliki ciri-ciri koloni dengan bentuk bulat, pinggir bergelombang, warna putih, dan permukaan yang timbul datar. Pengamatan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri penyebab busuk lunak berbentuk batang berantai dan Gram negatif (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil streak isolat IB-1 pada media NA (Gambar A), koloni bakteri dengan perbesaran 6x memiliki bentuk bulat dan berwarna putih (Gambar B), dan mikroskopis isolat IB-1 dengan ciri-ciri Gram negatif bentuk batang berantai (Gambar C, tanda panah 1).

Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan Kit *Microgen™ GNA+B-ID System* menunjukkan bakteri tersebut adalah *Weeksella* dikarenakan persentase hanya 75,3 % sehingga hanya sampai tingkat genus. Genus *Weeksella* ditemukan oleh Holmes *et al.* (1986). Karakteristik dari genus ini adalah bakteri berbentuk batang berantai, tidak membentuk

endospora, Gram negatif, oksidase positif, non motil, dan tumbuh pada temperatur 18-42⁰C. Berikut tabel hasil identifikasi bakteri *Weeksella*:

Tabel 2. Hasil uji IB-1 dengan menggunakan Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System*

Hasil Uji			
+ Oxidase	- Manitol	- TDA	- Lactose
- Motilitas	- Xylose	+ Gelatin	- Arabinose
- Nitrat	- ONPG	- Malonate	- Adonitol
- Lysin	- Indole	- Inositol	- Raffinose
- Ornithine	- Urease	- Sorbitol	- Salicin
- H ₂ S	+ VP	- Rhamnose	+ Arginine
- Glucose	- Citrat	- Sucrose	

Klasifikasi bakteri *Weeksella* menurut Holt (1994) adalah sebagai berikut:

Kingdom Bacteria, Phylum Bacteroidetes, Kelas Flavobacteria, Ordo Flavobacteria-les, Family Flavobacteriaceae, dan Genus *Weeksella*.

PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri pada busuk lunak buah stroberi didapatkan lima isolat bakteri (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, dan IB-5). Berdasarkan hasil pengamatan bentuk koloni bakteri yang didapat bervariasi yaitu bulat, bulat L-form, dan tidak beraturan. Perbedaan pinggir koloni setelah diamati yaitu bergelombang, berbenang, rata dan bening. Warna koloni bakteri yang didapat yaitu putih keseluruhan dan putih tua di tengah, sedangkan permukaan koloni bakteri ada yang berbentuk rata, timbul datar, dan melengkung. Menurut Kaur dan Sethi (2012), bentuk-bentuk koloni yang berbeda dapat dijadikan dasar untuk identifikasi bakteri.

Hasil positif uji Postulat Koch menunjukkan buah stroberi yang mengalami busuk lunak memiliki gejala yang sama dengan sampel di lapangan. Isolat bakteri penyebab busuk lunak pada buah stroberi segar adalah IB-1 (Gambar 1.B.). Gejala busuk yang ditimbulkan oleh isolat bakteri 1 dimana awalnya, pada permukaan buah yang dilukai memunculkan air sehingga menjadi basah. Luka pada buah berbentuk cekung dan berwarna lebih gelap dibandingkan jaringan sehat di sekitarnya. Warna daerah perlukaan menjadi putih keruh yang disebabkan oleh jaringan buah yang rusak.

Luka yang ditimbulkan melebar dan menghasilkan bau busuk. Menurut Kuchareck dan Bartz (1994), bakteri patogen penyebab busuk lunak akan masuk ke jaringan buah dan menghasilkan enzim yang menghancurkan ikatan antar sel dan menimbulkan luka. Luka tersebut akan memunculkan cairan dari jaringan yang rusak sehingga terjadi busuk lunak.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System* menunjukkan bakteri patogen penyebab busuk lunak pada buah stroberi adalah genus *Weeksella* dikarenakan persentase 75,3% sehingga tidak sampai ke tingkat spesies. Bakteri *Weeksella* memiliki ciri-ciri koloni dengan bentuk bulat, warna putih, dan pinggir bergelombang, sedangkan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri penyebab busuk lunak adalah Gram negatif dan berbentuk batang berantai. Hal ini sesuai dengan Holt (1994) bahwa *Weeksella* memiliki koloni dengan bentuk bulat, warna putih, dan pinggir bergelombang, termasuk Gram negatif dan pada umumnya berbentuk batang berantai. Menurut Vaneechoutee *et al.* (2011) *Weeksella* termasuk bakteri dalam grup bakteri Gram negatif, oksidase positif, dan bersifat aerob yang dapat menghidrolisis gelatin dan positif arginin. Hal ini sesuai dengan hasil identifikasi bahwa bakteri yang diidentifikasi positif gelatin dan arginin.

Bakteri *Weeksella* pertama kali ditemukan oleh Holmes *et al.* (1986). Keberadaan *Weeksella* telah diketahui sebagai bakteri kontaminan pada makanan manusia bahkan sebagai patogen pada manusia sejak tahun 1986. Berdasarkan penelitian Botha *et al.* (1998), sebagian genus *Weeksella* telah mengkontaminasi mentega, daging domba, dan makanan cepat saji baik buah maupun sayuran. Bakteri *Weeksella* biasanya ditemukan di lingkungan seperti tanah, air, dan limbah ternak yang digunakan untuk berbagai macam produk pertanian (Vaneechoutee *et al.*, 2011). Limbah ternak yang digunakan petani stroberi untuk menyuburkan tanah memungkinkan penyebaran bakteri *Weeksella* semakin meluas di areal pertanian. Penelitian Berg *et al.* (2002), *Weeksella* ditemukan pada lahan pertanian

khususnya tanah perkebunan stroberi dan *oilseed rape*. Keberadaan *Weeksella* pada tanah perkebunan stroberi dan *oilseed rape* sangat melimpah karena memanfaatkan nutrisi dari rhizosfer stroberi dan *oilseed rape* untuk tumbuh dan berkembang biak. Bahkan menurut penelitian Gouveia (2008), penyebaran *Weeksella* meluas ke lingkungan dengan bantuan serangga seperti lalat pasir (*Lutzomyia longipalpis*).

Dalam penelitian ini tidak ditemukan bakteri patogen *Erwinia carotovora* atau *Pseudomonas marginalis* sebagai agen penyebab busuk lunak pada buah stroberi tetapi disebabkan oleh *Weeksella*. Bakteri *Weeksella* yang dapat menginfeksi buah stroberi belum ditemukan sebelumnya. Menurut Agrios (2005), bakteri dapat menyebabkan suatu penyakit pada inang apabila terjadi kontak antara patogen dengan tanaman inang. Berdasarkan identifikasi, *Weeksella* memproduksi acetoin yang dalam hal ini menurut (Xiao dan Xu, 2007), merupakan senyawa yang digunakan oleh bakteri untuk berasosiasi dengan tanaman. Kemampuan *Weeksella* menimbulkan penyakit busuk lunak diduga karena bakteri tersebut memiliki enzim pendegradasi dinding sel buah stroberi. Menurut Agrios (2005), bakteri patogen busuk lunak mampu mengekskresikan enzim pendegradasi dinding sel inang untuk menimbulkan gejala busuk lunak. Hal tersebut memungkinkan bahwa *Weeksella* memiliki enzim pendegradasi dinding sel buah stroberi karena buah yang terinfeksi oleh *Weeksella* memiliki gejala busuk lunak yang sama dengan yang disebabkan oleh bakteri patogen *Erwinia carotovora* atau *Pseudomonas marginalis*.

SIMPULAN

Penelitian ini diperoleh 5 isolat bakteri (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, dan IB-5) dari buah stroberi yang mengalami busuk lunak. Hasil positif uji Postulat Koch disebabkan oleh IB-1. Identifikasi menggunakan Kit *MicrogenTM GNA+B-ID System* dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994) menunjukkan bakteri IB-1 teridentifikasi sebagai *Weeksella*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal. 330.
- Badan Pusat Statistik. 2013. Perkembangan Beberapa Indikator Sosial-Ekonomi Indonesia [cited 1 Okt 2013]. Available at: http://www.bps.go.id/booklet/Boklet_Agustus_2013.pdf.
- Berg, G., N. Roskot, A. Steidle, L. Eberl, A. Zock and K. Smalla. 2002. Plant-Dependent Genotypic and Phenotypic Diversity of Antagonistic Rhizobacteria Isolated from Different *Verticillium* Host Plants. *Appl Environ Microbiol.* 68(7): 3328-3338.
- Budiman, S. dan D. Saraswati. 2008. Berkebun Stroberi secara Komersial. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 12, 80-85.
- Deptan, 2013. Volume Impor Ekspor Benih Buah [cited 1 Okt 2013]. Available at: http://hortikultura.deptan.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=376&Itemid=713.
- Gouveia, C., M.D. Asensi, V. Zahner, E.F. Rangel and S.M.P. de Oliveira. 2008. Study on the Bacterial Midgut Microbiota Associated to Different Brazilian Populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). *Neotrop. entomol.* 37(5):1519 -1526.
- Hanif, Z., E. Budiyati dan J.S. 2012. Basuki. Budidaya Stroberi (*Fragaria x ananassa*) [cited 23.2.2013]. Available at: <http://rangsingkuang.blogspot.com/2012/10/budidaya-stroberi-fragariaxananassa.html>.
- Hanif, Z. dan H. Ashari. 2008. Sebaran Stroberi (*Fragaria x ananassa*) di Indonesia [Cited 23.2.2013]. Available at: [file:///D:/JURNAL2/\(1\)SebaranStrober\(Fragariaxananassa\)diIndonesia_ZainuriHanifAcademia.edu.htm](file:///D:/JURNAL2/(1)SebaranStrober(Fragariaxananassa)diIndonesia_ZainuriHanifAcademia.edu.htm).
- Hartman, J. and C. Kaiser. 2008. Strawberry Fruit Rots. [Cited 30.8.2013]. Available at: http://www2.ca.uky.edu/agcollege/plantpathology/ext_files/PPFShtml/PPFS-FR-S-8.pdf.

- Holmes, B., A.G. Steigerwalt, R.E. Weaver, D.J. Brenner. 1986. *Weeksella virosa* gen. nov., sp. nov. (formerly group IIf), Found in Human Clinical Specimens. Syst. Appli. Microbiol. 8:185-190.
- Holt, J.G., N.P. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition. New York: Lippincott Williams and Wilkins.
- Kaur, G., P. Sethi. 2012. A Novel Methodology for Automatic Bacterial Colony Counter. International Journal of Computer Applications. 49(15): 0975-8887.
- Kucharek, T., J. Bartz. 1994. Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops [Cited 30.8.2013]. Available at: <http://plantpath.ifas.ufl.edu/extension/factsheets/pdfs/pp0012.pdf>.
- Kurnia, A. 2005. Petunjuk Praktis Budidaya Stroberi. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hal 3, 14.
- Pelczar, Chan. 2006. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Reina, J., J. Gil, F. Salva, J. Gomez and P. Alomar. 1990. Microbiological Characteristics of *Weeksella virosa* (Formerly CDC Group IIf) Isolated from the Human Genitourinary Tract. J. Clin. Microbiol. 28(10):2357.
- Slenker, B.D., D.L. Jungkind and J.A. Desimone. 2012. Fatal Case of *Weeksella virosa* Sepsis. J. Clin. Microbiol. 50 (12) 4166-4167.
- Vaneechoutte, M., L. Dijkshoorn, A. Nemeč, P. Kampfer and G. Wauters. 2011. Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. J. of Bacteriol. 50: 714-738.
- Xiao, Z. and P. Xu. 2007. Acetoin Metabolism in Bacteria. J. of Micobiol. 33(2):127-40.

IDENTIFIKASI ANTAGONIS DARI *Xanthomonas campestris* YANG DIISOLASI DARI RHIZOSPHERE PERKEBUNAN BROKOLI (*Brassica oleracea* var. *italica*) DI DESA KEMBANG MERTA, KABUPATEN TABANAN, BALI

IDENTIFICATION OF ANTAGONISTS OF *Xanthomonas campestris* ISOLATED FROM RHIZOSPHERE ZONE OF BROCCOLI FARM AT KEMBANG MERTA VILLAGE, TABANAN, BALI

Nadya Treesna Wulansari¹, Yan Ramona^{1,2}, Meitini Wahyuni Proborini^{1*}

¹*Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Bali*

²*UPT Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana, Bali*

**Email: pmeitini@yahoo.com*

INTISARI

Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jamur dan bakteri yang bersifat antagonis terhadap *Xanthomonas campestris*, dari zona *rhizosphere* tanaman brokoli. Sampel tanah diambil dari areal pertanian brokoli di Desa Kembang Merta, Tabanan, Bali. Isolasi dan identifikasi antagonis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Universitas Udayana. Sebanyak masing-masing dua isolat jamur (*Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma viride*) dan isolat bakteri (*Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp.) antagonis yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi agen biokontrol berhasil diidentifikasi dalam penelitian ini.

Kata kunci: Brokoli, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., Bali.

ABSTRACT

The main objectives of this research were to isolate and identify antagonists of *Xanthomonas campestris* from *rhizosphere* zone of broccoli plants. Soil samples were collected from broccoli farm located at Kembang Merta village, Tabanan, Bali. Isolation and identification of the antagonists were conducted at the Laboratory of Microbiology, Udayana University. Two fungal (*Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride*) and two bacterial (*Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp.) antagonists potentially to be developed as biocontrol agents of *Xanthomonas campestris* were successfully identified in this research.

Key words: Broccoli, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., Bali.

PENDAHULUAN

Salah satu penyebab menurunnya produksi brokoli adalah meningkatnya serangan penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* Dows (Rukmana, 1994). Tanaman yang terinfeksi akan menunjukkan gejala munculnya bercak

coklat kehitam-hitaman pada daun, batang, tangkai bunga, dan akhirnya mengering, sehingga tanaman tidak dapat dipanen. Untuk menanggulangi masalah penyakit busuk hitam ini, petani brokoli di Desa Kembang Merta mengandalkan pestisida kimia. Bila digunakan dalam jangka waktu lama dan secara berlebihan,

pestisida kimia ini dapat berdampak buruk bagi kesehatan manusia dan lingkungan.

Penelitian ini mengisolasi dan mengidentifikasi musuh alami (mikroba antagonis) dari penyebab penyakit busuk hitam pada tanaman brokoli untuk meminimalkan efek negatif dari penggunaan pestisida kimia. Tujuan utama penelitian ini adalah untuk memperoleh mikroba antagonis potensial yang dapat dikembangkan menjadi agen biokontrol, sehingga dapat dikembangkan metode alternatif penanggulangan serangan *Xanthomonas campestris* pada tanaman brokoli yang dibudidayakan di areal pertanian Kembang Merta, Kabupaten Tabanan, Bali.

MATERI DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sampel tanah dari delapan titik zona *rhizosphere* tanaman brokoli di Desa Kembang Merta diambil sebanyak masing-masing 100 g secara aseptik dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril. Tanah sampel ini kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana untuk dilakukan isolasi dan identifikasi mikroba antagonis yang menempel pada sampel tanah.

Isolasi Mikroba Antagonis

Mikroba antagonis diisolasi dengan metode pengenceran dan sebar (*dilution and spread plate method*) pada medium *Potato Dextrose Agar* (untuk jamur antagonis) dan *Nutrient Agar* (untuk bakteri antagonis), seperti yang dilakukan oleh Suryanti *et al.* (2013). Aktivitas antagonisme koloni yang tumbuh dikenali dari hasil *dual culture assay* yang mengadopsi metode yang dilaporkan oleh Ramona (2003).

Identifikasi Mikroba Antagonis

Jamur dan bakteri yang menunjukkan aktivitas antagonisme dengan persentase hambatan terbesar terhadap *Xanthomonas campestris*, diidentifikasi sampai level genus atau spesies, berdasarkan ciri-ciri morfologi dan karakteristik metabolismenya. Identifikasi

jamur antagonis dilakukan dengan mengamati bentuk dan warna koloni, struktur spora, hifa, konidiofor, dan konidiana. Hasilnya dicocokkan dengan karakteristik yang tertera pada buku *Fungi and Food Spoilage* (Pitt dan Hocking, 1997). Sementara itu, bakteri antagonis yang berhasil diisolasi, diuji karakteristik metabolismenya, seperti uji katalase, indol, dan kemampuannya memfermentasi gula-gula (glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa). Selain itu, motilitasnya pada medium SIM, reaksinya terhadap pewarnaan gram, dan pewarnaan spora juga dilakukan. Hasil yang diperoleh dicocokkan dengan karakteristik bakteri yang tertera pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* (Holt *et al.*, 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

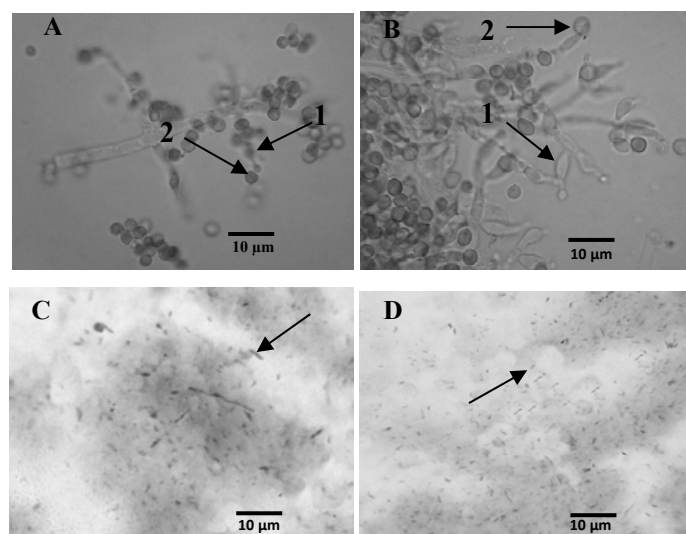
Dua isolat jamur dan bakteri antagonis yang menunjukkan aktivitas antagonisme dengan persentase hambatan terbesar yaitu *Trichoderma harzianum* (41,11±5,84%), *Trichoderma viride* (24,07 ±3,76%), *Bacillus* sp. (16,11±5,61%) dan *Pseudomonas* sp. (30,92±3,17%) atau paling potensial untuk dikembangkan menjadi agen biokontrol, berhasil diisolasi dari *rhizosphere* tanaman brokoli yang dibudidayakan di sentra pertanian Kembang Merta, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan, Bali. Berdasarkan karakteristik morfologinya secara makroskopis dan mikroskopis yang tertera dalam buku *Fungi and Food Spoilage* (Pitt dan Hocking, 1997), jamur-jamur antagonis tersebut teridentifikasi sebagai *Trichoderma harzianum* (Gambar 1A) dan *Trichoderma viride* (Gambar 1B). Isolat *Trichoderma harzianum* memiliki karakteristik koloni berwarna hijau muda keputihan pada hari ke-3, konidiofor bercabang dengan filid berbentuk oval ramping menyerupai botol, konidiana berbentuk bulat, oval dan berwarna hijau gelap ukuran 2,8-3,2 µm. Sementara itu, isolat *Trichoderma viride* memiliki laju pertumbuhan yang lebih lambat daripada isolat *Trichoderma harzianum* yang ditunjukkan dengan diameter koloni *Trichoderma viride* (7,5 cm) dan *Trichoderma harzianum* (8,5 cm) pada hari ke-2. Karakteristik lain *Trichoderma viride*

adalah koloni berwarna hijau muda pada hari ke-2 dan menjadi hijau tua pada hari ke-4 dengan konidiofor bercabang, fialid ramping, bentuknya tidak beraturan, ukuran konidia lebih besar dari *Trichoderma harzianum* yaitu 3,5-4,0 μm . Karakteristik tersebut sejalan dengan yang tertera dalam buku *Fungi and Food Spoilage* (Pitt dan Hocking, 1997).

Trichoderma merupakan jamur *filamentous* (*Deuteromycetes*) yang sebarannya sangat luas dan hidup di daerah *rhizosphere* tanaman (Tapwal *et al.*, 2011). *Trichoderma harzianum* menghasilkan enzim selulase, kitinase, dan proteinase yang banyak diklaim berperan dalam aktivitas antagonismenya terhadap jamur patogen (Soesanto, 2008). Selain enzim-enzim tersebut, Saksirirat *et al.* (2009) melaporkan bahwa *Trichoderma harzianum* memiliki aktivitas enzim kitinase dan β -1,3-glukanase yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pada tanaman tomat. Kemampuan *Trichoderma viride* untuk menghasilkan enzim hidrolitik lain, seperti $\text{exo-}\beta$ -1,4 glukanase, $\text{endo-}\beta$ -1,4 glukanase dan β -1,4 glukosidase dan enzim xyloglukanolitik juga pernah dilaporkan oleh Tribak *et al.* (2002) dan Yasmin *et al.* (2013). Peneliti lain, Smitha *et al.* (2014) dan Soesanto (2008) menyatakan bahwa *Trichoderma viride* juga menghasilkan berturut-turut enzim proteinase dan senyawa

antibiotika seperti peptida suzukalisin yang mempunyai aktivitas antibakteri.

Dalam penelitian ini, dua isolat bakteri antagonis potensial juga berhasil diisolasi dan diidentifikasi. Kedua isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp., berdasarkan pada karakteristik spesifiknya yang tertera dalam buku *Bergey's Manual Determinative Bacteriology 9th Edition* (Holt *et al.*, 1994). Isolat *Bacillus* sp. memiliki ciri-ciri berbentuk batang berantai ukuran 0,6-2,0 x 1,2-4,0 μm , gram positif, memiliki endospora, reaksi positif terhadap pengujian katalase, motil pada medium SIM, memfermentasi glukosa, maltosa, sukrosa dan reaksi negatif terhadap uji indol serta tidak menunjukkan perubahan warna pada medium. Sementara itu, isolat *Pseudomonas* sp. memiliki bentuk batang tunggal ukuran 0,5-1,0 x 1,5-3,0 μm , gram negatif, tidak memiliki endospora, menunjukkan reaksi positif pada uji katalase, motil pada medium SIM, memfermentasi glukosa, maltosa, sukrosa dan reaksi negatif terhadap uji indol serta menunjukkan warna biru berpendar pada medium setelah disinari dengan UV. Bentuk sel dari *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. di bawah mikroskop setelah dilakukan pewarnaan gram ditunjukkan berturut-turut pada gambar 1C dan 1D.



Gambar 1. Foto mikroskopis jamur dan bakteri antagonis
Keterangan: (A). *Trichoderma harzianum*, (B). *Trichoderma viride*,
(1) Fialid (2) Konidia. (C). *Bacillus* sp., (D). *Pseudomonas* sp.

Aktivitas antagonisme kedua bakteri tersebut secara *in vitro* atau dalam percobaan skala rumah kaca telah banyak dilaporkan. Monteiro *et al.* (2005), misalnya melaporkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. dapat menghasilkan senyawa surfaktan yang berupa polipeptida dan senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Sementara itu, *Pseudomonas* dilaporkan oleh Hanudin *et al.* (2010) dan Addy (2008), mempunyai kemampuan untuk menghasilkan antibiotika, enzim litik (protease, selulase, glukonase) dan siderofor yang berperan penting dalam aktivitas antagonismenya terhadap patogen tanaman. Beberapa spesies *Pseudomonas* juga mampu menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanaman (Bhattacharjee *et al.*, 2014). Bakteri ini dapat diisolasi dengan mudah dari *filosfer*, *rhizosphere* dan *rhizoplane* (Addy, 2008; Chakravarty *et al.*, 2012; Soesanto, 2008).

SIMPULAN

Dua isolat jamur (*Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma viride*) dan dua isolat bakteri (*Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp.) antagonis potensial berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari zona *rhizosphere* tanaman brokoli yang dibudidayakan di sentra pertanian Kembang Merta, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan, Bali.

KEPUSTAKAAN

Addy, H.S. 2008. Aktivitas *Pseudomonas* Pendar Fluor dalam Mengendalikan Penyebab Penyakit Patik (*Cercospora nicotianae*) pada Tembakau. Jurnal Pengendalian Hayati. 1(2): 98-103.

Bhattacharjee, R. and U. Dey. 2014. An Overview of Fungal and Bacterial Biopesticides to Control Plant Pathogen Disease. African Journal of Microbiology Research. 8(17): 1749-1762.

Chakravarty, G. and M.C. Kalita. 2012. Biocontrol Potential of *Pseudomonas fluorescens* against Bacterial Wilt of Brinjal and its Possible Plant Growth

Promoting Effects. Annals of Biological Research. 3(11): 5083-5094.

- Hanudin, W. Nuryani, E. Silvia, Djatnika dan B. Marwoto. 2010. Formulasi Biopestisida Berbahan Aktif *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Corynebacterium* sp. Nonpatogenik untuk Mengendalikan Penyakit Karat pada Krisan. J. Hort. 20(3): 247-261
- Holt, J.N., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. USA: Lippincott Williams and Wilkins.
- Monteiro, L., R. Mariano, D.R. Lima and A.M. Souto-Maior. 2005. Antagonism of *Bacillus* spp. against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Brazilian Archives Biology and Tecnology. 48(1): 23-29.
- Pitt, J.I. and A.D. Hocking. 1997. Fungi and Food Spoilage. Cambridge: Great Britain at The University Press.
- Ramona, Y. 2003. Assessment of Some Antagonist and Development of Method Their Largescale Cultivation [Disertasi]. Tasmania: School of Agriculture Science, The University of Tasmania Australia.
- Rukmana. 1994. Budidaya Kubis Bunga dan Brokoli. Yogyakarta: Kanisius.
- Saksirirat, W., P. Chareerak and W. Bunyatrachata. 2009. Induced Systemic Resistance of Biocontrol Fungus, *Trichoderma* spp. Against Bacterial and Gray Leaf Spot in Tomatoes. Asian Journal of Food and Agro-Industry: 99-104.
- Smitha, C., G.T. Finosh, R. Rajesh and P.A. Abraham. 2014. Induction of Hydrolytic Enzymes of Phytopathogenic fungi in Response to *Trichoderma viride* Influence Biocontrol Activity. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(9): 1207-1217.
- Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.

- Suryanti, I.A.P., Y. Ramona dan M.W. Proborini. 2013. Isolasi dan Identifikasi Jamur Penyebab Penyakit Layu dan Antagonisnya pada Tanaman Kentang yang Dibudidayakan di Bedugul, Bali. *Jurnal Biologi*. 17(2): 37-41.
- Tapwal, A.A., J.U. Singh, T.D. Silva, G. Singh, S. Garg and R. Kumar. 2011. In Vitro Antagonism of *Trichoderma viride* against Five Phytopathogenic. *Pest Technology Research Paper*. 5(1): 59-62.
- Tribak, M., J.A. Ocampo and I. Garcia-Romera. 2002. Production of Xyloglucanolytic Enzyme by *Trichoderma viride*, *Paecilomyces farinosus*, *Wardomyce inflatus* and *Pleurotus ostreatus*. *Mycologia Journal*. 3: 404-410.
- Yasmin, S., R.L. Matoo and F.A. Nehvi. 2013. Isolation, Characterization and Molecular Weight Determination of Cellulase from *Trichoderma viride*. *African Journal of Biotechnology*. 12(28): 4512-4518.

**PERBANYAKAN ANGGREK *Dendrobium heterocarpum* Lindl.
SECARA *IN VITRO* DENGAN MEDIA YANG BERBEDA**

**IN VITRO MICROPROPAGATION OF ORCHID
Dendrobium heterocarpum Lindl. WITH DIFFERENT MEDIUM**

Yuli Setiawati^{1*}, Ida Ayu Astarini², Ni Putu Adriani Astiti²

¹*Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali*

²*Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Bali*

**Email: yulisetia2011@gmail.com*

INTISARI

Dendrobium heterocarpum Lindl. merupakan salah satu jenis anggrek yang kini sering diburu. Hal ini dikarenakan anggrek ini memiliki penampilan yang mistik dan aroma yang khas. Penelitian bertujuan untuk melihat respon pertumbuhan dan perkembangan *Protocorm Like Bodies* (PLBs) *D. heterocarpum* selama 12 Minggu Setelah Tanam (MST) pada tiga media yang berbeda, yaitu *Murashige and Skoog* (MS), *Kursor C*, dan *Western 3* (W3). Benih *D. heterocarpum* ditanam pada media MS, *Kursor C* dan W3. Secara kualitatif pertumbuhan anggrek diamati berdasarkan skor pertumbuhan dan skor warna. Hasil penelitian menunjukkan waktu tumbuh benih pada media MS ialah 4 MST, lebih cepat satu minggu dibandingkan pada media *Kursor C* dan W3. Fase pertumbuhan pada media MS dan *Kursor C* hanya mencapai fase 1 sedangkan pada media W3 mencapai fase 2. Warna PLB hingga 12 MST pada media MS mencapai fase E yakni *strong yellowish green* (142A), sedangkan pada media *Kursor C* dan W3 mencapai fase D yakni *moderate yellowish green* (143D).

Kata kunci: *Dendrobium heterocarpum* Lindl, MS, *Kursor C*, W3, *in vitro*

ABSTRACT

Dendrobium heterocarpum Lindl. is one of the orchid species which is often sought. It is because this species has a mystique appearance and special fragrance. The research aimed to observe the growth and developing responses of protocorm like bodies (PLBs) of *D. heterocarpum* after 12 weeks in three different medium, i.e. *Murashige and Skoog* (MS), *Kursor C* and *Western 3* (W3). The *D. heterocarpum* seeds were planted in MS, *Kursor C* and W3 medium. Qualitatively the orchid growth were observe including growth score and colour score. The result showed that growing time of MS was 4 weeks, a week faster than the growing time on *Kursor C* and W3 medium. The growing phase on MS medium and *Kursor C* medium reached phase 1 whereas on W3 medium reached phase 2. PLB's colour after 12 weeks on MS medium reached phase E, *strong yellowish green* phase (142A). Meanwhile, on *Kursor C* and W3 was on phase D, *moderate yellowish green* (143D).

Keywords: *Dendrobium heterocarpum* Lindl, MS, *Kursor C*, W3, *in vitro*

PENDAHULUAN

Suku Orchidaceae merupakan salah satu suku pada kingdom Plantae yang memiliki banyak anggota. Menurut Luan *et al.* (2006), sebanyak ± 3500 jenis anggrek alam dapat ditemukan. *Dendrobium* merupakan salah satu genus dalam suku Orchidaceae yang memiliki anggota cukup banyak, yakni sekitar 2000 jenis (Uesato, 1996). Di Indonesia anggrek spesies alam yang berasal dari genus *Dendrobium* banyak ditemukan di kawasan Papua dan Maluku (Gandawidjaya dan Sastrapradja, 1980).

Dendrobium heterocarpum Lindl. merupakan salah satu jenis anggrek asli alam yang banyak diburu kolektor anggrek. Hal ini dikarenakan anggrek ini memiliki penampilan yang mistik dan bau yang khas (Pimda dan Bunnag, 2010). Anggrek ini dapat ditemukan di kawasan India, Indonesia, Laos, Thailand, Malaysia, Myanmar dan Nepal. *D. heterocarpum* kini di habitat aslinya mulai sulit untuk ditemukan, hal ini dapat dikarenakan adanya eksploitasi.

Salah satu upaya untuk menjaga biodiversitas anggrek ialah perbanyakkan secara *in vitro* melalui kultur jaringan tumbuhan. Salah satu bagian yang dapat digunakan ialah biji, dimana apabila secara *in vivo* kemungkinan biji anggrek untuk berkecambah sangatlah kecil (Bey dkk., 2006). Secara umum perbanyakkan anggrek secara *in vitro* akan diawali dengan tumbuhnya *Protocorm Like Bodies* (PLBs). PLB nantinya apabila diinduksi pada media tumbuh yang tepat akan berdiferensiasi menjadi tanaman baru.

Media merupakan salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Menurut Yusnita (2003), dewasa ini telah banyak upaya yang dilakukan untuk mencari formulasi media yang paling optimal untuk menumbuhkan tanaman. Penelitian mengenai penggunaan berbagai media pun telah banyak dilakukan misalnya media Knudson C untuk anggrek *Epidendrum ibaguense* (Hossain, 2008); media VW ditambah air kelapa 150 ml/L untuk anggrek *Dendrobium fimbriatum*; media W3 untuk anggrek *Coelogyne pandurata* (Claudia dkk., 2013). Selain itu penambahan bahan organik

juga memberikan efek lebih baik dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang diperbanyak dengan kultur jaringan (Syammiah, 2006). Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang pengaruh jenis media terhadap pertumbuhan dan perkembangan benih *Dendrobium heterocarpum* secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Tempat Penelitian

Kapsul anggrek *D. heterocarpum* berusia 4 bulan diambil dari *nursery* Limbata Orchid Desa Pancasari, Kecamatan Sukasada Kabupaten Buleleng Bali. Penanaman eksplan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT. Balai Benih Induk Tanaman Pangan dan Hortikultura (BBITPH) Propinsi Bali. Penelitian dilakukan bulan November 2014 hingga Mei 2015.

Pembuat larutan stok (*Murashige and Skoog* dan *Kursor C*)

Stok unsur hara makro dibuat masing-masing dengan 10 kali konsentrasi, sedangkan unsur hara mikro dibuat dengan 100 kali konsentrasi. Vitamin dibuat dengan 100 kali konsentrasi. Setiap senyawa baik makro, mikro dan vitamin ditimbang sesuai dengan komposisi, kemudian dilarutkan dengan aquades. Larutan stok diaduk hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam botol dan diberikan label. Larutan stok disimpan di dalam *refrigerator*.

Pembuatan Media MS

Stok hara makro, mikro serta vitamin (Murashige dan Skoog, 1962) masing-masing dipipet ke dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan bubur pisang ambon 150 g/L, air kelapa 100 ml/L, agar (Swallow) 8 g/L, gula 20 g/L, 2,4-D 0,5 ppm, TDZ 1 ppm dan pH media sekitar 5,6-5,8 (BBIPTH, 2013).

Pembuatan *Kursor C*

Stok hara makro, mikro serta vitamin masing-masing dipipet ke dalam *beaker glass*, lalu ditambahkan bubur pisang ambon 150 g/L, air kelapa 100 ml/L, agar (Swallow) 8 g/L, gula 20 g/L, arang aktif 2 g/L, 2,4-D 0,5 ppm, TDZ 1 ppm dan pH media sekitar 5,6-5,8 (BBIPTH, 2013).

Pembuatan Media W3

Media W3 instan ditimbang 18,49 g/L, bubur pisang ambon 60 g/L, agar (Swallow) 8 g/L, gula 20 g/L, 2,4-D 0,5 ppm, TDZ 1 ppm dan pH media sekitar 5,6-5,8 (Claudia dkk., 2013).

Pengolahan Data

Data berupa gambar diambil dengan kamera digital (Sony DSC-W830) setiap minggu selama 12 minggu dari arah luar botol. Data diolah secara kualitatif.

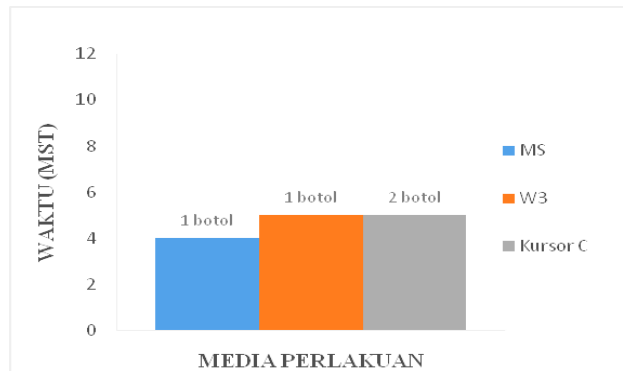
Fase pertumbuhan protokorm ialah **fase 0**: benih belum menunjukkan ada perkecambah, **fase 1**: benih sudah membentuk protokorm, **fase 2**: protokorm yang terbentuk sudah mulai memiliki primordia daun, **fase 3**: protokorm dengan daun telah memiliki akar, **fase 4**: protokorm telah memiliki beberapa daun dan akar, **fase 5**: protokorm telah tumbuh/berkembang menjadi *plantlet* (Nurfadillah,

2011).

Fase warna ialah sebagai berikut: **A**: *Vivid yellowish green* (RHS 154A), **B**: *Brilliant yellowish green* (RHS 150A), **C**: *Light yellowish green* (RHS 144D), **D**: *Moderate yellowish green* (RHS 143D), dan **E**: *Strong yellowish green* (RHS 142A) (RHS Colour Chart, 1966).

HASIL

Berdasarkan hasil pengamatan perkembangan benih *D. heterocarpum* pada tiga macam media selama 12 MST didapatkan hasil bahwa waktu tumbuh benih pada media MS yaitu 4 MST, lebih cepat dibandingkan dengan media *Kursor C* dan media W3 yaitu 5 MST (Gambar 1).



Gambar 1. Waktu tumbuh benih *D. heterocarpum* pada media perlakuan

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini, hingga benih berusia 12 MST pada media MS dan *Kursor C* fase yang dicapai ialah fase 1, yakni biji telah membentuk protokorm. Media W3 menunjukkan fase yang dicapai hingga benih berusia 12 MST ialah fase 2, yakni

protokorm dengan primordia daun (Tabel 1.). Selain fase terdapat juga perbedaan tekstur PLB *D. heterocarpum* pada ketiga jenis media, dimana pada media MS dan *Kursor C* PLB cenderung berair dan pada media W3 PLB cenderung kering.

Tabel 1. Pertumbuhan dan perkembangan PLB *D. heterocarpum*

WAKTU (MST)	JENIS MEDIA PERLAKUAN		
	MS	<i>Kursor C</i>	W3
4	1B+K	1A+K	1B+K
5	1B+K	1A+K	1C+K

Tabel 1. (lanjutan)

WAKTU (MST)	JENIS MEDIA PERLAKUAN		
	MS	Kursor C	W3
6	1C+K	1A+K	1C+K
7	1C+R*	1B+K*	1C+KΘ
8	1C+R*	1B+R*	1C+R Θ
9	1D+R*	1C+R*	1D+R Θ
10	1D+R*	1C+R*	2D+R Θ
11	1E+R*	1C+R*	2D+R Θ
12	1E+R*	1D+R*	2D+R Θ

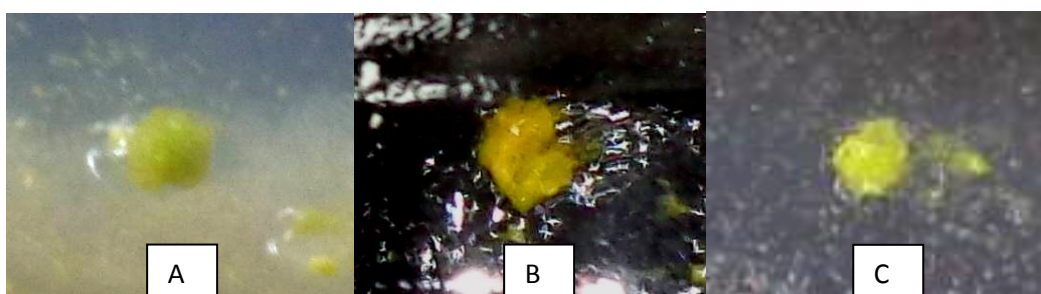
Keterangan : 0 – 5 : fase pertumbuhan (Nurfadillah, 2011)

A – E : skor warna PLB (RHS, 1966)

+/- : mengembang/tidak mengembang

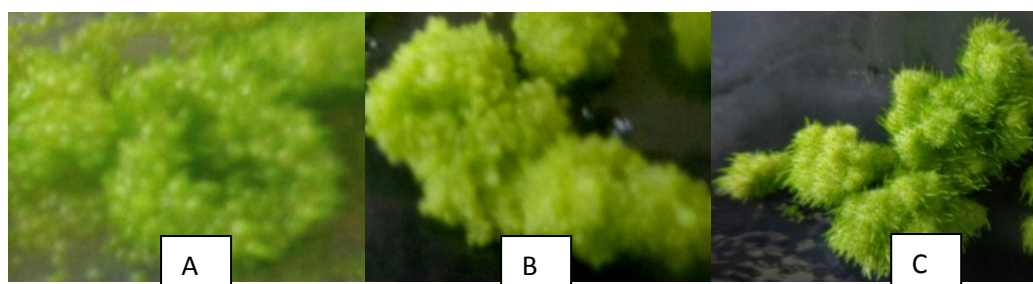
R/K : remah/kompak

*/ Θ : berair/kering



Gambar 2. Tekstur dan warna PLB *D. heterocarpum* 4 MST

(A). Media MS, (B). Media *Kursor C*, (C). Media W3



Gambar 3. Tekstur dan warna PLB *D. heterocarpum* 12 MST

(A). Media MS, (B). Media *Kursor C*, (C). Media W3

PEMBAHASAN

Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu tumbuh pada ketiga media. Menurut Claudia dkk. (2013), perbedaan waktu tumbuh benih anggrek dapat disebabkan karena adanya perbedaan komposisi unsur hara makro dan mikro yang terkandung di dalam media. Media MS merupakan media yang cukup

komplit unsur hara makro maupun mikronya (Gunawan, 1990). Hal ini diduga dapat mempengaruhi waktu tumbuh benih anggrek yang diperbanyak secara *in vitro*.

Waktu tumbuh benih anggrek *D. heterocarpum* berhubungan dengan proses perkecambahan benih. Perkecambahan benih anggrek diawali dengan munculnya protokorm

dan dilanjutkan dengan munculnya plumula dan radikula (Amilah dan Astuti, 2006). Menurut George *et al.* (2007), pada perkecambahan benih unsur makro yang cukup memegang peranan penting ialah magnesium (Mg) dan fosfor (P). Kedua unsur tersebut berperan dalam mengaktifkan enzim-enzim yang dibutuhkan saat proses perkecambahan benih.

Perbedaan media MS, *Kursor C* dan W3 dilihat dari kandungan hara makronya terletak pada ketersediaan unsur nitrogen (N). Media MS menggunakan amonium nitrat (NH_4NO_3) sebagai sumber nitrogen, sedangkan pada media *Kursor C* dan W3 sumber nitrogen tersedia dalam bentuk amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Menurut Mukaromah dkk. (2013), amonium nitrat merupakan sumber nitrogen yang optimum untuk perkembangan serta pertumbuhan benih anggrek *Dendrobium lanxiflorum* secara *in vitro*. Unsur nitrogen merupakan salah satu unsur yang sangat penting terkandung di dalam media, hal ini dikarenakan nitrogen sangat dibutuhkan dalam sintesis protein (Hosiholan dkk., 2000).

Secara kualitatif PLB pada *D. heterocarpum* yang ditumbuhkan pada media MS, *Kursor C* dan W3 memiliki perbedaan dalam hal tekstur dan warna. PLB pada media MS dan *Kursor C* hingga 12 MST menunjukkan tekstur yang remah dan berair. Tekstur remah dapat disebabkan karena kondisi lingkungan serta penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Yelnititis, 2012). Tekstur berair pada media MS dan *Kursor C* dapat disebabkan karena proses metabolisme dan respirasi sel yang optimum, sehingga produk akhir berupa H_2O (air) menjadi lebih banyak. Selain itu ketersediaan unsur K dapat memicu terbentuknya kantung air (misel) di dalam dinding sel. Dapat diduga ketika misel-misel yang terdapat di bagian dalam dinding sel terbentuk dan kemudian di dalam media MS tersedia unsur Chlor (Cl) dan Natrium (Na) maka tekanan osmosis sel akan menjadi lebih besar (George dan Sherington, 1984). Pada media W3 tekstur PLB terlihat lebih kering, diduga disebabkan karena senyawa-senyawa yang terkandung di dalam media W3 mampu

menekan unsur K untuk tidak membentuk misel di bagian dalam dinding sel.

Menurut Shin *et al.* (2011), warna PLB yang baik ialah berwarna hijau. Warna hijau yang tampak berasal dari klorofil. Klorofil merupakan zat hijau daun yang dibutuhkan dalam proses fotosintesis. Menurut Bahri (2010), di dalam fotosintesis fungsi utama dari klorofil ialah sebagai penangkap energi matahari sehingga fiksasi CO_2 akan terjadi. Fiksasi CO_2 yang telah terjadi akan memproduksi karbohidrat. Faktor yang mempengaruhi terjadinya sintesis klorofil ialah cahaya, gula atau karbohidrat, air, temperatur, faktor genetik, unsur-unsur hara seperti N, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, S dan O (Hendriyani dan Setiari, 2009).

Seperti pada penelitian ini, media MS dan *Kursor C* ditambahkan 100 ml/L air kelapa. Menurut Sari dkk. (2011), air kelapa merupakan salah satu bahan organik yang dapat memicu proliferasi sel serta memicu terjadinya metabolisme sehingga respirasi sel menjadi lancar. Air kelapa mengandung karbohidrat, vitamin, mineral serta zat pengatur tumbuh seperti auksin, sitokinin dan giberelin (Husain, 2012). Penambahan pisang ambon di dalam media *Kursor C* diduga dapat memenuhi kekurangan-kekurangan unsur hara yang terkandung di dalam media. Menurut Widiastoety dan Purbadi (2003), penambahan bubur pisang ambon 50 g/L dapat menyebabkan pertumbuhan tunas pada anggrek genus *Dendrobium* menjadi optimum.

SIMPULAN

Benih anggrek *D. heterocarpum* pada media MS dan *Kursor C* hingga kurun waktu 12 MST hanya mencapai fase 1, yakni fase terbentuknya protokorm, sedangkan pada media W3 pada 12 MST menunjukkan hasil mencapai fase 2, dimana fase ini mulai muncul primordia daun.

Warna PLB pada masing-masing media menunjukkan hasil yang berbeda pada 12 MST, pada media *Kursor C* dan W3 fase warna mencapai fase D, yakni *brilliant yellowish green*, sedangkan pada media MS di akhir masa

pengamatan menunjukkan fase warna mencapai fase E yakni *strong yellowish green*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Ir. I Nengah Suta Maryana MMA selaku kepala UPT. Balai Benih Induk Tanaman Pangan dan Hortikultura Propinsi Bali dan Ibu Ir. Ni Made Sriasih MMA. selaku Koordinator Seksi Hortikultura beserta seluruh staf atas segala ide serta penyediaan sarana dan prasarana untuk memperlancar penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Amilah dan Y. Astuti. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada Media Vacin and Went (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.). Bulletin Penelitian No.09 Tahun 2006.
- Bahri, S. 2010. Klorofil. Diktat Kuliah Kapita Selektia Kimia Organik. Universitas Lampung.
- Balai Benih Induk Tanaman Pangan dan Hortikultura (BBIPTH). 2013. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. Tabanan- Bali.
- Bey, Y., W. Syafii dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (GA3) dan Air Kelapa terhadap Perkecambahan Bahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara *In Vitro*. Jurnal Biogenesis. 2 (2): 41-46.
- Claudia, V., I.A. Astarini. dan S.K. Sudirga. 2013. Uji Viabilitas Benih Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dengan Masa Simpan yang Berbeda. Jurnal Simbiosis I (2).
- Gandawidjaya, D. dan S. Sastrapradja. 1980. Plasma nutfah *Dendrobium* Asal Indonesia. Bull. Kebun Raya 4(4): 113-125.
- George E.F., M.A. Hall. and G.J. De Klerk. 2007. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition: Volume 1. The Background. Exegetic, Basingstone. United Kingdom.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exergetics Ltd. United Kingdom.
- Gunawan, L.W. 1990. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hendriyani, I. S. dan N. Setiari. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. J. Sains & Mat. 17(3): 145-150.
- Hosiholan, M.P., M.S., Suprihatin dan R.I. Muryas. 2000. Pengaruh Perbandingan Nitrat dan Ammonium terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Selada (*Lactusa sativa* L.) yang Dibudidayakan secara Hidroponik. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Hortikultura Memasuki Indonesia Baru. Salatiga.
- Hossain, M.M. 2008. Asymbiotic Seed Germination and *In Vitro* Seedling Development of *Epidendrum ibaguense* Kunth. (Orchidaceae). African Journal of Biotechnology. 7(20): 3614-3619.
- Husain, I. 2012. Induksi Protocorm pada Eksplan Bawang Putih pada Media MS Minim Hara Makro dan Mikro yang Ditambahkan Air Kelapa. JATT 1(1): 31.
- Luan, V.Q., N.Q. Thien, D.V. Khiem and D.T. Nhut. 2006. *In vitro* Germination Capacity and Plant Recovery of Some Native and Rare Orchid. Proceeding of International Workshop of Biotechnology in Agriculture. Ho Chi Minh City, October 20-21, 2006.
- Mukaromah, L., T. Nurhidayati dan S. Nurfadilah. 2013. Pengaruh Sumber dan Konsentrasi Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji *Dendrobium laxiflorum* J.J Smith secara *In Vitro*. Jurnal Sains dan Seni POMITS. 2(1).
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant. 15: 473-479.

- Nurfadilah, S. 2011. The Effect of Light on The Germination and The Growth of The Seeds of *Dendrobium spectabile* Bl. (Orchidaceae) *In Vitro*. Prosiding Makalah Seminar Kebun Raya Cibodas. LIPI, Bogor.
- Pimda, W. and S. Bunnag. 2010. Cryopreservation of *Dendrobium heterocarpum* Lindl. Via Encapsulation – Dehydration Method. J. Elba Bioflux. II-Issue 1.
- Royal Horticultural Society. 1966. RHS Colour Chart 1st Ed. London.
- Sari, Y.P., H. Manurung dan Aspiah. 2011. Pengaruh Pemberian Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Anggrek Kantong Semar (*Paphiopedilum supardii* Braem & Loeb) pada Media Knudson secara *In Vitro*. Mulawarman Scientifie 10(2).
- Shin Y., K. Baque, M.K. Elghamedi, S. Lee and E.J. Paek. 2011. Effects of Activated Charcoal, Plant Growth Regulators and Ultrasonic Pre-Treatments on *In Vitro* Germination and Protocorm Formation of Calanthe Hybrids. Australian Journal of Crop Science. AJCS 5(5): 582-588.
- Syammiah. 2006. Jenis Senyawa Organik Suplemen pada Medium Knudson C Untuk Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies Dendrobium* Bertacong Blue x *Dendrobium undulatum*. J. Floratek 2: 86-92.
- Uesato, K. 1996. Influences of Temperature on The Growth of Ceratophalae Type *Dendrobium*. The Organizing Committee of 2nd Asia Pacific Orchid Conference, Ujung Pandang, p. 1-4.
- Widiastoety, D. dan Purbadi. 2003. Pengaruh Bubur Ubi Kayu dan Ubi Jalar terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek *Dendrobium*. Journal of Horticultural. 13(1): 1-6.
- Yelnitis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. 6 (3): 181-194.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Jakarta: Agromedia Pustaka.

**KOMPOSISI KOMUNITAS TUMBUHAN BAWAH DI DALAM PLOT PERMANEN 1 HA
GUNUNG POHEN CAGAR ALAM BATUKAHU BALI**

**GROUND COVER PLANT COMMUNITY COMPOSITION ON 1 HA PERMANENT PLOT
OF MOUNT POHEN, BATUKAHU NATURE PRESERVE, BALI**

Sutomo

UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bali - LIPI

Candikuning, Baturiti, Tabanan 82191. Telp. (0368) 2127, 22050, Fax. (0368) 22051

Email: sutomo.uwa@gmail.com

INTISARI

Pembuatan plot sampling permanen (PSP) dengan ukuran 1 ha (100 x 100 m) yang terbagi menjadi 25 subplot ukuran 20 x 20 m dan lima tingkat/baris ketinggian tempat telah dilakukan di Hutan Gunung Pohen Cagar Alam Batukahu Bali. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur dan komposisi tumbuhan bawah di dalam plot permanen di Gunung Pohen. Hasil analisis vegetasi tumbuhan bawah mengungkap bahwa di dalam plot permanen 1 ha tersebut terdapat 69 jenis tumbuhan bawah yang termasuk ke dalam 49 suku. Suku Selaginella adalah yang paling banyak ditemukan. Indeks keanekaragaman jenis menggunakan Shannon-Wiener indeks mengungkap bahwa indeks keanekaragaman jenis cukup tinggi pada baris pertama dan ketiga (Shannon-Wiener indeks ± 3). Analisis cluster menghasilkan simpulan bahwa komposisi vegetasi tumbuhan bawah bervariasi antar baris di dalam plot 1 ha. Komposisi jenis pada baris pertama, kedua dan ketiga hampir sama satu dengan lainnya. Sedangkan komposisi jenis di tiga baris pertama tersebut berbeda dengan komposisi jenis pada baris keempat dan kelima. Lebih lanjut hasil analisis NMDS menunjukkan bahwa secara umum tumbuhan bawah ditemukan hidup secara mengelompok (*clumped*) dan hanya sebagian kecil saja yang hidup soliter.

Kata kunci: Plot sampel permanen, jenis tumbuhan bawah, struktur dan komposisi, Gunung Pohen, Cagar Alam Batukahu Bali.

ABSTRACT

A one Ha (100 x 100 m) of Permanent Sampling Plot with 25 subplots (20 x 20 m with 2 x 2 m nested plot) and 5 level rows of altitudinal difference has been established to determine groundcover species structure and composition in Pohen Mountain, Batukahu Nature Reserve, Bali. Enumeration of all groundcover species revealed that there were 69 species and 47 families with selaginaceae was the most abundant family in the 1 Ha Permanent Sampling Plot. Shannon Index revealed that groundcover species composition in the first, second and third rows were similar, but different with groundcover species composition in the fourth and fifth rows. Cluster Analysis concluded that groundcover species composition were varied. Generally, most of the groundcover species revealed clumped distribution and only a few species were solitaire.

Keywords: permanent sampling plot, groundcover species, structure and composition, Pohen Mountain, Batukahu Nature Reserve

PENDAHULUAN

Pengelolaan kawasan Cagar Alam ditujukan untuk melindungi lingkungan dan melestarikan sumber daya alam dan biodiversitas, sehingga kemampuan ekosistem wilayah tidak mengalami kemunduran. Secara umum kawasan hutan di Gunung Pohen Cagar Alam Batukahu memiliki beranekaragam jenis tumbuhan dan tingkat pohon sampai semai termasuk tumbuhan bawah sebagai komponen vegetasi di hutan cagar alam ini. Tumbuhan bawah sebagai salah satu komponen di dalam ekosistem hutan, belum banyak digali dari segi fungsi dan manfaatnya dikarenakan masih minimnya informasi.

Sementara itu tumbuhan bawah juga memiliki berbagai fungsi. Whitmore (1991) mendefinisikan tumbuhan bawah sebagai tumbuhan yang mempunyai lingkar batang (dbh) < 6,3 cm seperti anakan pohon, perdu, herba, paku-pakuan serta tumbuhan memanjat dan menjalar. Menurut Tjitrosoedirdjo dalam Supriyadi (1991), tumbuhan bawah terlibat dalam interaksi antar jenis seperti kompetisi interspesifik, alelopati dan simbiosis. Tumbuhan bawah juga merupakan tempat perlindungan yang baik bagi satwa liar dan ikut pula menentukan iklim mikro yang cocok bagi serangga.

Komunitas tumbuhan bawah menurut Supriyadi dan Marsono (2001) dapat dipakai untuk menggambarkan keadaan tanah, tingkat kesuburan tanah di lapangan dan dapat dicirikan oleh jenis tumbuhan bawah yang tumbuh secara dominan. Tumbuhan bawah juga mempunyai kemampuan untuk menahan aliran permukaan, sehingga tingkat erosi akan menjadi lebih rendah.

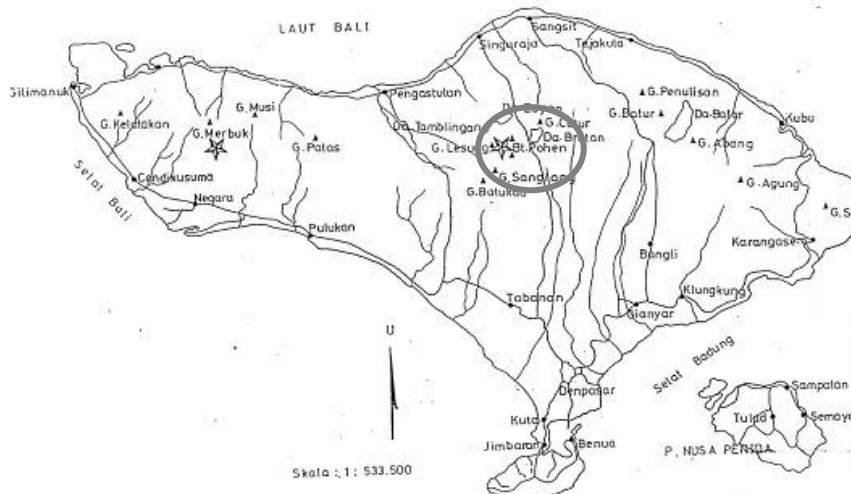
Semakin meningkatnya intensitas pemanfaatan lahan hutan oleh masyarakat di kawasan Bedugul dan Gunung Pohen Bali pada khususnya akan dapat berdampak terhadap kelestarian jenis tumbuhan bawah, oleh karenanya maka perlu dilakukan usaha-usaha konservasi jenis-jenis tumbuhan bawah berpotensi, yang dapat dimulai dengan melakukan inventarisasi komunitas tumbuhan bawah di kawasan hutan tersebut. Penelitian ini

adalah untuk mengetahui komposisi jenis komunitas tumbuhan bawah, sehingga dapat mempermudah monitoringnya melalui pembuatan plot permanen satu Ha di Gunung Pohen Cagar Alam Batukahu Bali.

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Pembuatan plot permanen dilakukan pada Bulan Juni 2010 di kawasan hutan Gunung Pohen yang merupakan salah satu situs dari Cagar Alam Batukahu. Cagar Alam Batukahu terletak di Desa Candikuning, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan, dan di Desa Asah Munduk, Kecamatan Banjar, Kabupaten Buleleng. Secara geografis terletak pada $8^{\circ} 10' - 8^{\circ} 23' \text{ LS}$ dan $115^{\circ} 02' - 115^{\circ} 15' \text{ BT}$ dengan jarak $\pm 55 \text{ km}$ Utara Kota Denpasar dan $\pm 30 \text{ km}$ Selatan Kota Singaraja (Gambar 1). Status kawasan Cagar Alam Batukahu ditetapkan berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian No. 716/KPTS/UM/11/1974 dengan luasan 1.762,80 Ha. Topografi kawasan Cagar Alam Batukahu berbukit-bukit. Kawasan ini terdiri atas tiga kelompok hutan, yaitu Batukahu I (Gunung Tapak), Batukahu II (Gunung Pohen) dan Batukahu III (Gunung Lesung). Menurut klasifikasi Schmidt dan Ferguson, termasuk tipe iklim A dengan rata-rata curah hujan 2000 mm/tahun dan rata-rata hari hujan 155,6 hari dengan suhu udara berkisar antara $11 - 25^{\circ} \text{ C}$ (KSDA, 1999).



Gambar 1. Lokasi penelitian di Gunung Pohen CA Batukahu Bali (lingkaran).

Cara Pengumpulan Data

Plot dibuat dengan ukuran 1 ha dengan sub-plot berukuran 20 x 20 m sebanyak 25 buah. Plot dibuat pada kelerengn rata-rata 60-70° dengan ketinggian antara 1600-1700. Koordinat titik-titik terluar plot satu Ha serta tiap sub-plot direkam dengan alat GPS (*Garmin GPS Map 76 csx*). Di dalam plot 1 ha ini kemudian dibagi menjadi lima baris arah horizontal. Antar baris beda ketinggiannya adalah 20 m sehingga 5 sub plot pada baris pertama terletak pada ketinggian ±1.600 mdpl, 5 sub plot selanjutnya di baris kedua pada ketinggian 1.620 mdpl, baris ketiga pada ketinggian 1.640 mdpl, baris keempat pada ketinggian 1.660 mdpl dan baris kelima pada ketinggian 1.680 - 1.700 mdpl. Perbedaan ketinggian ini dijadikan sebagai faktor pembeda tiap-tiap sub-plot pada tiap-tiap baris, sehingga akan terlihat apakah terdapat perbedaan struktur dan komposisi vegetasi tumbuhan bawah pada tiap baris pada ketinggian yang berbeda di dalam plot permanen satu ha ini. Pada setiap sub-plot 20 x 20 m tersebut di dalamnya dibuat *nested* plot kecil ukuran 2 x 2 m untuk mengamati vegetasi tumbuhan bawahnya. Parameter yang diamati dan dicatat datanya adalah nama jenis dan kelimpahannya (jumlah individunya).

Analisis Data

Untuk mendapatkan gambaran struktur komunitas tumbuhan bawah, digunakan metode perhitungan indeks nilai penting tiap jenis yang

didasarkan dari penjumlahan nilai kerapatan relatif (KR) dan frekuensi relatif (FR) (Supriyadi and Marsono, 2001). Indeks Nilai Penting (INP) $INP = KR + FR$ (untuk tumbuhan bawah).

Keanekaragaman jenis tumbuhan dapat dihitung menggunakan indeks keanekaragaman Shannon-Wiener (H') dengan rumus sebagai berikut :

Shannon-Wiener (H'):

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left(\frac{n_i}{N} \right) \ln \left(\frac{n_i}{N} \right)$$

Semakin besar nilai H' menunjukkan semakin tinggi keanekaragaman jenis. Besarnya nilai keanekaragaman jenis Shannon-Wiener didefinisikan sebagai berikut:

1. $H' > 3$ keanekaragaman jenis yang tinggi pada suatu kawasan.
2. $1 \leq H' \leq 3$ keanekaragaman jenis yang sedang pada suatu kawasan.
3. $H' < 1$ keanekaragaman jenis yang rendah pada suatu kawasan.

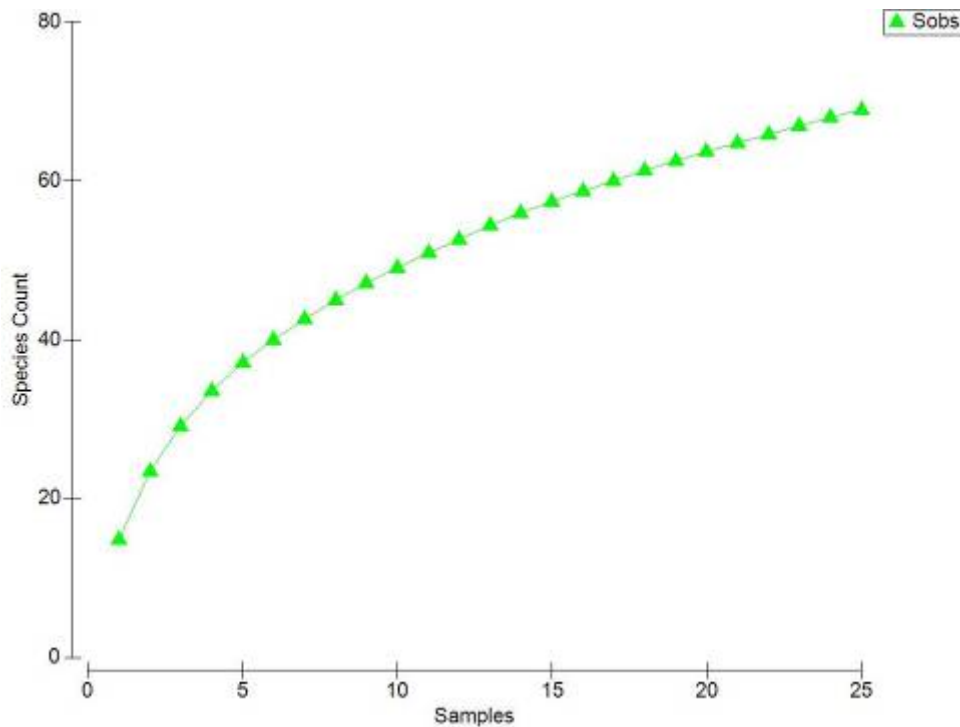
Keanekaragaman tumbuhan bawah dihitung berdasarkan indeks keanekaragaman Shannon (H''). Persamaan dalam perhitungan indeks tersebut adalah sebagai berikut :

Data kelimpahan (*abundance*) vegetasi ditabulasikan ke dalam format Excel *spreadsheet* yang akan di-*input* ke dalam software PRIMER. Data tersebut kemudian dilakukan *pre-treatment* dengan *square root transformation* sebelum kemudian dihitung matriks kemiripan (*resemblance matrix*)

berdasarkan indeks kemiripan Bray-Curtis sebagai dasar analisa selanjutnya (Clarke, 1993). Dari matriks ini kemudian di buat analisis *cluster* kemiripan tiap sub-plot per baris dengan elevasi yang berbeda. Untuk mendapatkan *general pattern* pola asosiasi spesies tumbuhan bawah di dalam plot 1 ha digunakan analisis ordinasasi *non metric multidimensional scaling* NMDS.

HASIL

Berdasarkan kurva area-spesies, plot berukuran 1 ha dengan 25 sub-plot ukuran 20 x 20 m sudah cukup untuk mewakili tipe vegetasi tumbuhan bawah di Gunung Pohen seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva area-spesies vegetasi *groundcover* dalam plot permanen seluas satu Ha di Gunung Pohen, Cagar Alam Batukahu Bali.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat 69 jenis tumbuhan bawah yang termasuk ke dalam 47 suku ditemukan di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen, Cagar Alam

Batukahu Bali. Indeks Nilai Penting tiap jenis tumbuhan bawah yang dijumpai di lokasi sampel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis *groundcover* dan sukunya serta Indeks Nilai Pentingnya yang dijumpai di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen.

No	Nama Ilmiah	Famili	INP
1	<i>Selaginella</i> sp.	Selaginaceae	40.28
2	<i>Athyrium esculentum</i> (Retz.) Copel	Woodsiaceae	11.07
3	<i>Ardisia humilis</i> Vahl.	Myrsinaceae	9.76
4	<i>Piper</i> sp.1	Piperaceae	8.81
5	<i>Pteris</i> sp.	Pteridaceae	7.28
6	<i>Pilea</i> sp.	Urticaceae	7.02
7	<i>Polypodium</i> sp.2	Polypodiaceae	6.85
8	<i>Polypodium</i> sp.1	Polypodiaceae	6.59

Tabel 1. (lanjutan)

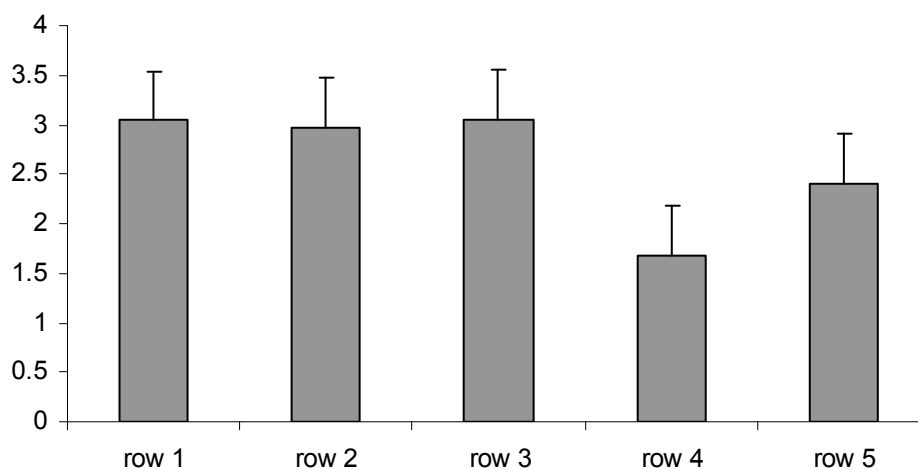
No	Nama Ilmiah	Famili	INP
9	<i>Polyosma integrifolia</i> Bl.	Saxifragaceae	6.48
10	<i>Cyclosorus</i> sp.1	Thelypteridaceae	6.44
11	<i>Rubiaceae</i>	Rubiaceae	6.03
12	<i>Clauxylon</i> sp.	Euphorbiaceae	5.86
13	<i>Cyathea</i> sp.	Cyatheaceae	5.42
14	<i>Flacourtia</i> sp.	Flacourtiaceae	4.85
15	<i>Symplocos odoratissima</i> (Bl.) Choisy.	Symplocaceae	4.56
16	<i>Hedychium coronarium</i> Koen.	Zingiberaceae	4.52
17	<i>Asplenium tenerum</i> Forst.	Aspleniaceae	4.17
18	<i>Cyperus</i> sp.1	Cyperaceae	3.96
19	<i>Helicia</i> sp.	Proteaceae	3.79
20	<i>Strobilanthes</i> sp.	Acanthaceae	3.42
21	<i>Athyrium asperum</i> (Bl.) Mild.	Woodsiaceae	3.22
22	<i>Nephrolepis coerdifolia</i> (L.) Pr.	Woodsiaceae	2.92
23	<i>Calamus ciliaris</i> Bl.	Arecaceae	2.70
24	<i>Poaceae</i>	Poaceae	2.35
25	<i>Rubus</i> sp.	Rosaceae	2.06
26	<i>Acronychia trifoliata</i> Zoll.	Rutaceae	1.80
27	<i>Pandanus</i> sp.	Pandanaceae	1.72
28	<i>Goodyera reticulata</i> (Bl.) Bl.	Orchidaceae	1.43
29	<i>Smilax</i> sp.	Smilacaceae	1.43
30	<i>Laportea</i> sp.	Urticaceae	1.42
31	<i>Litsea</i> sp.	Lauraceae	1.38
32	<i>Cyclosorus</i> sp.2	Thelypteridaceae	1.32
33	<i>Medinilla</i> sp.	Melastomaceae	1.26
34	<i>Asplenium</i> sp.1	Aspleniaceae	1.16
35	<i>Omalanthus giganteus</i> Z & M.	Euphorbiaceae	1.06
36	<i>Gynura</i> sp.	Asteraceae	1.01
37	<i>Melastoma</i> sp.	Melastomaceae	0.84
38	<i>Piper</i> sp.2	Piperaceae	0.78
39	<i>Desmodium</i> sp.	Fabaceae	0.74
40	<i>Pteris tripartita</i> Sw.	Pteridaceae	0.69
41	<i>Asplenium nidus</i> L.	Aspleniaceae	0.64
42	<i>Crypteronia</i> sp.	Crypteroniaceae	0.64
43	<i>Dysoxylum nutans</i> (Bl.) Miq.	Meliaceae	0.64
44	<i>Podocarpus imbricatus</i> Bl.	Podocarpaceae	0.64
45	<i>Psychotria</i> sp.	Rubiaceae	0.64
46	<i>Vernonia arborea</i> Buc. Ham.	Asteraceae	0.64
47	<i>Asplenium</i> sp.2	Aspleniaceae	0.42
48	<i>Vittaria ensiformis</i> Sw.	Vittariaceae	0.42
49	<i>Blumea</i> sp.	Asteraceae	0.37
50	<i>Cyperus</i> sp.2	Cyperaceae	0.37
51	<i>Platea</i> sp.	Lauraceae	0.37

Table 1 (lanjutan)

No	Nama Ilmiah	Famili	INP
52	<i>Urticaceae spesies 3</i>	Urticaceae	0.37
53	<i>Acanthaceae spesies 4</i>	Acanthaceae	0.32
54	<i>Adiantum sp.</i>	Pteridaceae	0.32
55	<i>Arisaema sp.</i>	Araceae	0.32
56	<i>Begonia sp.</i>	Begoniaceae	0.32
57	<i>Breynia sp.</i>	Euphorbiaceae	0.32
58	<i>Calanthe sp.</i>	Orchidaceae	0.32
59	<i>Gynostemma sp.</i>	Cucurbitaceae	0.32
60	<i>Cyathea latebrosa (Wall.) Copel.</i>	Cyatheaceae	0.32
61	<i>Elaeocarpus sp.</i>	Elaeocarpaceae	0.32
62	<i>Ficus sp.</i>	Moraceae	0.32
63	<i>Geniostoma sp.</i>	Loganiaceae	0.32
64	Belum teridentifikasi	-	0.32
65	<i>Lophopetalum javanicum (Zoll.) Turcz.</i>	Celastraceae	0.32
66	<i>Malvaceae spesies 5</i>	Malvaceae	0.32
67	<i>Myrsine hasseltii Bl. ex. K. Scheffer.</i>	Myrsinaceae	0.32
68	<i>Pinanga kuhlii Blume.</i>	Arecaceae	0.32
69	<i>Polygala sp.</i>	Polygalaceae	0.32

Analisis komposisi komunitas tumbuhan bawah dilihat dari tiap baris dalam plot 1 ha (untuk keterangan mengenai baris dapat dilihat di bagian metode). Tingkat keanekaragaman berdasarkan indeks Shannon, mengungkap bahwa baris ke 1, 2, dan 3 memiliki keanekaragaman jenis yang hampir sama dan

juga tertinggi dibandingkan 2 baris lainnya. Baris ke 4 adalah yang terendah tingkat keanekaragamannya (Gambar 3), sehingga rata-rata diversitas jenis tumbuhan bawah berdasarkan Shannon Index di dalam plot permanen 1 Ha Gunung Pohen ini adalah $\pm 2,62$

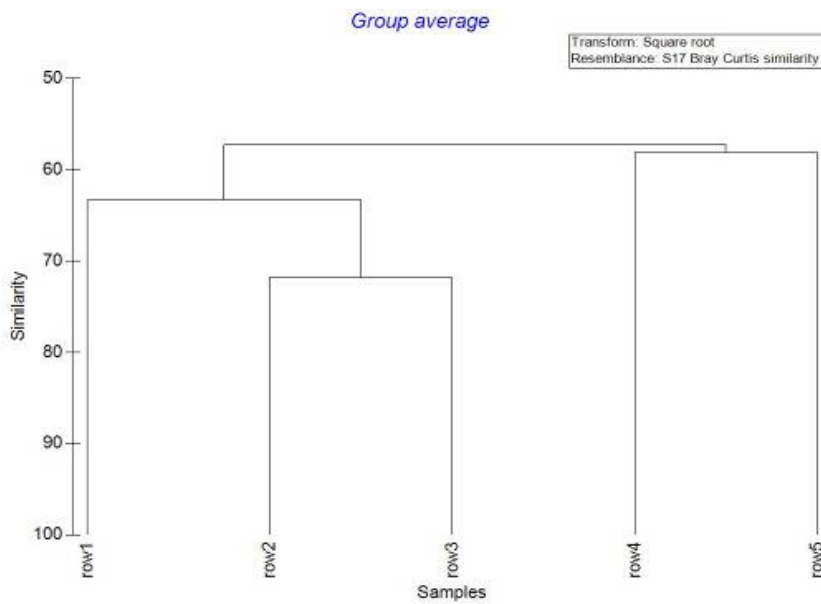


Gambar 3. Indeks diversitas Shannon spesies tumbuhan bawah di tiap baris di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen.

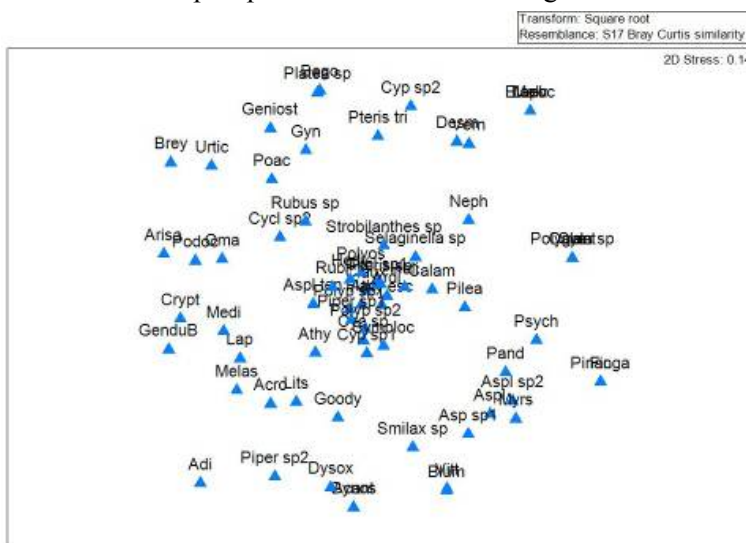
Analisis kluster menghasilkan dendrogram kemiripan sub-plot antar baris di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen (Gambar 4). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa segi komposisi vegetasi tumbuhan bawah di dalam plot permanen 1 Ha cukup bervariasi. Hasil analisis cluster menunjukkan bahwa baris ke 2 dan 3 memiliki kemiripan komunitas tumbuhan bawah yang hampir mirip dengan yang terdapat pada baris ke 1, sedangkan baris ke 4 dan 5 masing-masing

memiliki tingkat kemiripan yang tinggi. Dengan demikian dapat dikatakan komunitas tumbuhan bawah di kedua baris ini hampir sama. Lebih jauh terlihat bahwa komunitas tumbuhan bawah di baris ke 4 dan 5 tidak mirip dengan baris ke 1, ke 2 dan ke 3.

Gambar 5 memperlihatkan bahwa secara umum, sebagian besar jenis-jenis tumbuhan bawah hidup mengelompok (*clumped*) dengan jenis lainnya, hanya beberapa jenis saja yang *solitaire*



Gambar 4. Cluster dendrogram analisis kemiripan (berdasarkan Bray Curtis Index) antar sub-plot per baris di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen.



Gambar 5. Analisis NMDS ordinası spesies tumbuhan bawah di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen.

PEMBAHASAN

Kurva spesies - area memperlihatkan bahwa dengan luasan plot 1 ha dan sub plot sebanyak 25 buah telah cukup mewakili tingkat diversitas tumbuhan bawah di kawasan Gunung Pohen. Menurut Barbour *et al.* (1980) indeks Shannon 0 - 2 dikategorikan sebagai tingkat keanekaragaman hayati yang rendah, sehingga diversitas jenis tumbuhan bawah di kawasan Gunung Pohen termasuk cukup rendah yaitu sekitar ± 2.6 (berdasarkan *Shannon Diversity Index*). Rendahnya diversitas vegetasi tumbuhan bawah di dalam plot ini dikarenakan plot ini berada di dalam bagian hutan Bukit Pohen yang masih utuh (*intact*), dengan tutupan tajuk yang cukup rapat. Dengan demikian intensitas sinar matahari yang menyentuh lantai hutan tidak begitu melimpah sehingga tidak banyak jenis-jenis yang dapat tumbuh selain jenis yang toleran terhadap naungan seperti paku-pakuan, antara lain *Selaginella* spp. (Barata, 2000; Gomez-Pompa and Vazquez-Yanes, 1981).

Komposisi spesies tumbuhan bawah di tiap-tiap baris di dalam plot permanen 1 Ha ini pun bervariasi jika dilihat dari hasil analisis kemiripan komunitas yang terdapat di dalam hasil analisis kluster. Meskipun demikian jenis-jenis *Selaginella* sp., *Athyrium esculentum* dan *Ardisia humilis* tetap menjadi jenis pionir yang mendominasi dengan INP sebesar masing-masing 40.28, 11.07 dan 9.76. Suatu hal yang menarik adalah temuan bahwa *seedling* atau anakan dari pohon yang mendominasi di kawasan Bukit Pohen ini yaitu *Podocarpus imbricatus* tidak termasuk yang memiliki nilai INP yang tinggi. Berdasarkan pengamatan tersebut terlihat bahwa proses regenerasi *Podocarpus imbricatus* akan berjalan lambat. Gunung Pohen namanya diambil dari bahasa lokal "*poheng*" yang berarti terbakar. Fenomena bahwa terdapat sabuk *Podocarpus imbricatus* yang merupakan jenis pohon yang mendominasi kawasan hutan di Gunung ini kemungkinan merupakan indikator bahwa telah sering terjadi peristiwa gangguan berupa kebakaran hutan, seperti kebakaran hutan di tahun 1994 yang menghancurkan hutan seluas 30,5 ha (Hehanusa *et al.*, 2005) yang merupakan akibat dari

aktivitas manusia di dalam hutan. *Podocarpus imbricatus* dan *Casuarina junghuhniana* sebenarnya adalah jenis pionir yang berumur panjang (*long lived pioneers*) yang tumbuh karena adanya gangguan di masa lampau di kawasan tersebut. Dominasi jenis ini menurut van Steenis (1972) hanya sementara dan akan tergantikan oleh jenis lainnya sehingga komposisi hutannya akan lebih beragam, karena regenerasi jenis ini tidak mampu tumbuh di dalam hutan yang rapat.

Groundcover yang termasuk anakan pohon (*seedling*) berdasarkan hasil analisis ordinasasi spasial spesies yang ditemukan cenderung hidup menyendiri (*solitaire*), memisah dari tumbuhan "groundcover" yang bukan anakan namun *anakan-anakan* ini cenderung untuk hidup berdekatan satu sama lain. Misalnya terlihat dari Gambar 5 anakan *Podocarpus imbricatus* cenderung untuk hidup berdekatan dengan *anakan Omalanthus giganteus* dan *Ardisia humilis*. Terlihat juga bahwa sebagian besar jenis paku-pakuan cenderung untuk hidup bersama, seperti jenis *Nephrolepis*, *Selaginella*, *Asplenium*, dan *Athyrium* yang cenderung membentuk pola mengelompok (*clumped*). Pola spasial distribusi dan asosiasi tumbuhan merupakan karakteristik penting dari suatu komunitas ekologi (Kershaw and Looney, 1985). Fenomena bahwa sebagian besar jenis-pohon tersebut hidup bersama dengan kelompok jenis-jenis tertentu dapat terjadi sebagai akibat dari interaksi biologis diantara jenis-jenis tersebut seperti adanya asosiasi positif maupun negatif. Disamping itu hal tersebut juga dapat terjadi sebagai akibat dari respon yang sama maupun berbeda-beda suatu spesies terhadap lingkungannya atau faktor abiotiknya maupun respon terhadap adanya gangguan terhadap ekosistem hutan tersebut (Dukat 2006).

SIMPULAN

Terdapat 69 jenis tumbuhan bawah yang termasuk ke dalam 47 suku ditemukan di dalam plot permanen 1 Ha di Gunung Pohen, Cagar Alam Batukahu Bali. Tingkat keanekaragaman berdasarkan indeks Shannon, mengungkap bahwa baris ke 1, 2, dan 3 memiliki

keanekaragaman jenis yang hampir sama dan juga yang tertinggi dibandingkan 2 baris lainnya. Analisis *cluster* menyimpulkan bahwa segi komposisi vegetasi tumbuhan bawah di dalam plot permanen 1 Ha cukup bervariasi dan secara umum, sebagian besar jenis-jenis tumbuhan bawah hidup mengelompok (*clumped*) dengan jenis lainnya, hanya beberapa jenis saja yang *solitaire*.

SARAN

Diperlukan lebih banyak plot sampling permanen yang akan sangat berguna dalam upaya konservasi sumber daya hayati flora termasuk vegetasi tumbuhan bawah. Melalui kegiatan monitoring tiap tahun pada beberapa plot sampling 1 ha yang tersebar di kawasan maka dinamika vegetasi hutan dapat terpantau dan terdokumentasikan dengan baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya kami ucapkan kepada Bapak Ir. I Nyoman Lugrayasa, selaku Kepala Kebun Raya Bali yang telah menugaskan kegiatan ini kepada kami. Rekan kerja Tuah Malem Bangun dan Ni Kadek Erosi Undaharta serta teknisi lapangan dan taksonomis Kebun Raya Bali I Ketut Sandi, I Putu Suparta dan I Made Suja yang banyak membantu di lapangan hingga terselesaikannya kegiatan ini.

KEPUSTAKAAN

- Barata U. W. 2000. Biomasa, komposisi dan klasifikasi komunitas tumbuhan bawah pada tegakan *Acacia nilotica* di Taman Nasional Baluran, Jawa Timur. In: *Fakultas Kehutanan*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Barbour M. G., J.H. Burk and E.D. Pitts. 1980. *Terrestrial plant ecology*. The Benjamin Cummings Publishing Company Inc., California.
- Clarke K. R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* **18**: 117-143.
- Dukat B.Z. 2006. Analysing Associations Among More Than Two Species. *Applied Ecology and Environmental Research* **4**: 1-19.
- Gomez-Pompa A. and C.Vazquez-Yanes. 1981. Successional Studies of a Rain Forest in Mexico. In: *Forest Succession: Concepts and Application* (eds D. C. West, H. H. Shugart and D. B. Botkin) pp. 246-66. Springer-Verlag, New York.
- Hehanusa P. E., R. Abdulhadi dan M.Siregar. 2005. Analisis Kawasan Penyangga Kawasan Tridanau Beratan-Buyan-Tamblingan Provinsi Bali. In: *Simposium Analisis Daya Dukung dan Daya Tampung Kawasan Tridanau Beratan, Buyan dan Tamblingan* (eds R. Abdulhadi and M. Siregar). UPT-BKT Kebun Raya "Eka Karya" Bali-LIPI, Bedugul, Bali.
- Kershaw K. A. dan J.H.H. Looney. 1985. *Quantitative and dynamic plant ecology*. Edward Arnold, London.
- KSDA. 1999. Informasi Potensi Kawasan Konservasi Propinsi Bali. KSDA, Denpasar.
- Supriyadi dan D. Marsono. 2001. *Petunjuk praktikum ekologi hutan*. Laboratorium Ekologi Hutan Jurusan Konservasi Sumber Daya Hutan Fakultas Kehutanan UGM, Yogyakarta.
- van Steenis C. G. G. J. 1972. *The Mountain Flora of Java*. E.J Brill, Leiden.
- Whitmore T. C. 1991. Tropical rain forest dynamics and its implications for management. In: *Rain forest regeneration and management* (eds G. Pompa, A., T. C. Whitmore and M. Hadley) pp. 67-86. UNESCO, France.

METAMORFOSA Journal of Biological Sciences

Author Guidelines

METAMORFOSA adalah jurnal ilmiah elektronik (on-line: ISSN: 2302-5697) yang diterbitkan secara berkala (2 kali dalam satu tahun: bulan Maret dan September) oleh S2 Ilmu Biologi Pasca Sarjana Universitas Udayana, memuat karya-karya ilmiah dibidang Ilmu Biologi. Karya ilmiah asli (belum pernah dipublikasikan) dan ditulis menggunakan Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris. Editor akan menolak dan tidak berkewajiban mengembalikan naskah yang formatnya tidak sesuai dengan pedoman atau tidak memenuhi kaedah bahasa Indonesia atau bahasa Inggris yang benar.

Persiapan Naskah (Manuscripts preparation)

Semua materi dan informasi harus disampaikan melalui e-mail (ke: jurnal_metamorfosa@yahoo.co.id). Format naskah soft copy dalam bentuk *Microsoft Word* (MS). Grafik, tabel dan diagram harus dalam MS Word dan gambar dalam format JPG menggunakan resolusi tinggi jika memungkinkan. Naskah diketik dalam *Times New Roman*, ukuran Font - 12 point, dengan jarak 2 spasi di kertas ukuran A4. Artikel ditulis maksimum 14 halaman termasuk gambar dan tabel, yang terdiri dari

Judul (Title page): Judul harus relatif singkat tapi informatif. Setiap penulis harus memberikan nama lengkap mereka (tampa gelar) diikuti dengan alamat mereka dengan alamat kelembagaan dan email. Penulis utama harus ditandai dengan tanda bintang (sebagai penulis corespondensi). Selain itu, penulis utama harus menyertakan alamat telepon/ E-mail di bawah penulis sesuai nama. Jika salah satu ko-penulis dari berbagai organisasi, alamat mereka juga harus disebutkan dan ditunjukkan menggunakan nomor setelah nama mereka.

Abstrak (Abstract): Abstrak terdiri dari maksimal 250 kata, secara singkat dan jelas mengutarakan tujuan, metode dan hasil penelitian serta manfaatnya. Abstrak ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris, diketik dengan jarak 1 spasi.

Kata kunci (Key words): Kata kunci ditulis dibawah abstrak dan abstract dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris. Terdiri dari 3-6 kata, atau kata majemuk/prasa.

Pendahuluan (Introduction): Memberikan penjelasan singkat dari latar belakang, dasar pemikiran, maksud dan tujuan penelitian yang disajikan di naskah.

Bahan dan Metode (Material and Methods): Metode yang digunakan harus diuraikan secara singkat, mengutip referensi. Metode baru atau diubah dapat dijelaskan secara rinci. Metode

statistik dan tingkat signifikansi yang dipilih harus dinyatakan secara jelas.

Hasil (Results): Bagian yang mengandung cukup penjelasan dan interpretasi untuk memungkinkan pembaca memahami informasi apa yang diperoleh dalam pengamatan atau percobaan. Semua tabel dan gambar harus dirujuk dalam teks.

Tabel dibuat dengan bentuk terbuka dan diberi judul singkat tentang isi tabel. Keterangan isi tabel, bila diperlukan, dicantumkan sebagai catatan kaki, diberi nomor yang diikuti kurung tutup (nomor keterangan diketik sebagai superscript, misalnya ^{1), 2)}, dan seterusnya). Contoh:

Tabel 1. Daya dukung rusa timor di TNBB

	Produksi	konsumsi	daya dukung
Nutrien	kg/ha	kg/individu	individu/ha
Bahan kering (DM)	2517,1734	949,04	2,65
Protein kasar (CP)	350,07	163,167	2,15
Energi Bruto (GE) ¹⁾	42114,28	15799,025	2,67
Calcium (Ca)	28,182	13,140	2,17
Phospor (P)	6,468	2,920	2,16

Keterangan:

¹⁾ GE dalam MJ/ha.

Pembahasan (Discussion): Memberikan interpretasi dari hasil yang diperoleh dalam perspektif hasil penelitian sebelumnya dan penelitian saat ini yang relevan dengan hasil penelitian ini. Memastikan bahwa hasil dari masing-masing tujuan dinyatakan dan diinterpretasikan.

Hasil (results) dan pembahasan (discussion) bisa dikombinasikan dalam satu bagian.

Kesimpulan (Conclusion): Ini memuat kesimpulan singkat dari tujuan penelitian diikuti dengan prospek masa depan

Ucapan Terima Kasih (Acknowledgement): Informasi mengenai dukungan hibah atau dukungan lainnya dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan.

Daftar Pustaka (References): Daftar pustaka diketik mengikuti acuan sebagai berikut:

Contoh penulisan Pustaka :

Buku

Boertjes, C., and A. M. V. Harten. 1989. Mutations In Vegetatively Propagated Crops. USA:

Timber Press.

Bab dalam Buku

Gamborg, O.L., and J.P. Syluk. 1981. Nutrition, media, and characteristic of plant cell and tissue cultures. In T.A. Torpe (ed). *Plant Tissue Culture: Methods and Application in Agriculture*. Acad. Press.

Makalah dalam Jurnal

Delagne, A., A.F. Prouvost, V. Coge, J.P. Bohin, J.M Lacroix, and N.H. Cotte-Pattat. 2007. Characterization of the *Erwinia chrysanthemi* gen Locus, Involved in Galactan Catabolism. J. Bacteriol. 189 (19): 7053-7061

Makalah dalam Internet

Moser, B., M. Schu`tz and K.E. Hindenlang. 2006. Importance of alternative food resources for browsing by roe deer on deciduous trees: The role of food availability and species quality. Forest Ecology and Management (226): 248–255. Available from: <http://www.sceincedirect.com>.

Makalah dalam Buku/Prosiding

Klomp, H., and P. Gruys. 1965. The analysis of factors affecting reproduction and mortality in a natural population of the pine looper (*Bupalus piniarius* L.) *Proc. Int. Congr. Ent. 12 London*, 1964: 369 –372

Skripsi/Thesis/Disertasi:

Aisyah, S.I. 2006. “Induksi Mutagen Fisik pada Anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.) dan Pengujian Stabilitas Mutannya yang Diperbanyak Secara Vegetatif” (Disertasi). Bogor, Institut Pertanian Bogor.

Bila nama penulis tidak dicantumkan dalam penerbitan, dalam daftar pustaka dituliskan nama lembaganya (bukan “Anonim”)

Contoh:

TNBB (Taman Nasional Bali barat). 1998. Laporan Inventaris Rusa tImor di Kawasan TNBB. Balai TNBB. Cekik, Negara Bali.

Proses Telaah (review process)

Semua naskah akan ditelaah (reviewed) oleh dewan redaksi dan *reviewer*. Review mencakup aspek sistematika/format, alur penulisan, kedalaman isi tulisan, dan aspek orisinalitas tulisan. Keputusan naskah diterima, direvisi atau ditolak akan disampaikan kepada penulis melalui e-

mail segera sebelum periode publikasi pada volume bersangkutan.

Biaya Publikasi:

Tiap naskah yang diterima dikenakan biaya untuk proses publikasi sebesar Rp 300.000 (tiga ratus ribu rupiah).

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. The submission has not been previously published, nor is it before another journal for consideration (or an explanation has been provided in Comments to the Editor).
2. The submission file is in OpenOffice, Microsoft Word, RTF, or WordPerfect document file format.
3. Where available, URLs for the references have been provided.
4. The text is single-spaced; uses a 12-point font; employs italics, rather than underlining (except with URL addresses); and all illustrations, figures, and tables are placed within the text at the appropriate points, rather than at the end.
5. The text adheres to the stylistic and bibliographic requirements outlined in the [Author Guidelines](#), which is found in About the Journal.
6. If submitting to a peer-reviewed section of the journal, the instructions in [Ensuring a Blind Review](#) have been followed.

Copyright Notice



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](#)

Privacy Statement

The names and email addresses entered in this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.

Author Fees

This journal charges the following author fees.

Article Submission FREE: 0.00 (USD)

Fast-Track Review FREE: 0.00 (USD)

Article Publication: 23.00 (USD)

If this paper is accepted for publication, you will be asked to pay an Article Publication Fee to cover publications costs.

If you do not have funds to pay such fees, you will have an opportunity to waive each fee. We do not want fees to prevent the publication of worthy work.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). [ISSN 2302-5697](https://doi.org/10.1186/ISSN2302-5697)