

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA TANAH PENDEGRADASI SELULOSA DAN PEKTIN DARI RHIZOSFER *Aquilaria malaccensis*

### *Isolation and Identification of Cellulose and Pectin-Degrading Soil Microbes from Rhizosphere of Aquilaria malaccensis*

Adiz Adryan Ed-har<sup>1)</sup>, Rahayu Widyastuti<sup>2)</sup>, dan Gunawan Djajakirana<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Alumni Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>2)</sup> Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

#### ABSTRACT

Gaharu (*agarwood*) is one of non-timber forest product. It can be found commonly from trees of genus *Aquilaria*. Gaharu has been used in religious rituals, as perfume, incense, fragrance, even for medicines. Agarwood formation is caused by microbial infection inside plant tissue host. This research aims to explore soil microbes in rhizosphere of *Aquilaria malaccensis* which have ability to degrade cellulose and pectin. Screening was conducted to observe cellulase and pectinase activities. In this research, 26 isolates of fungi and 29 isolates of bacteria were isolated. It was found that seven isolates of fungi and six isolates of bacteria showed positive result with clear zone around the cultures. The results of identification showed soil microbes with the highest cellulose and pectin solubilizing index are *Bacillus brevis* for bacteria and genus *Helicoma* for fungi.

**Keywords:** Agarwood, *Aquilaria malaccensis*, soil microbes

#### ABSTRAK

Gaharu adalah kayu berwarna kehitaman dan mengandung resin. Tanaman yang menghasilkan gaharu umumnya berasal dari genus *Aquilaria*. Pemanfaatan gaharu secara tradisional untuk ritual keagamaan, pengharum ruangan, parfum, kosmetik, bahkan bahan obat-obatan. Para peneliti meyakini terbentuknya gaharu diakibatkan oleh infeksi patologi berupa mikroba yang masuk ke dalam jaringan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi mikroba tanah pada rhizosfer *Aquilaria malaccensis* yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa dan pektin. Metode penelitian dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba tanah yang berasal dari kelompok bakteri dan fungi. Isolat bakteri dan fungi yang diperoleh dari hasil isolasi diujikan dalam media selektif. Identifikasi dilakukan pada isolat yang menunjukkan indeks zona bening tertinggi berdasarkan hasil pengujian aktivitas selulase dan pektinase. Di dalam penelitian ini, 26 isolat fungi dan 29 isolat bakteri telah diisolasi. Di antara isolat-isolat itu ditemukan tujuh isolat fungi dan enam isolat bakteri yang menunjukkan hasil positif dengan adanya zona bening di sekeliling koloni. Hasil identifikasi menunjukkan mikrob tanah dengan indeks pelarutan selulosa dan pektin paling baik dari jenis bakteri adalah *Bacillus brevis*, sedangkan dari jenis fungi termasuk ke dalam genus *Helicoma*.

**Kata kunci:** Gaharu, *Aquilaria malaccensis*, mikroba tanah

#### PENDAHULUAN

Gaharu adalah kayu berwarna kehitaman dan mengandung resin khas yang dihasilkan oleh sejumlah spesies pohon dari marga *Aquilaria*, terutama *Aquilaria malaccensis*. Pemanfaatan gaharu secara tradisional telah berlangsung selama ratusan tahun yang lalu oleh nenek moyang dalam ritual keagamaan, pengharum ruangan, parfum, kosmetik, bahkan bahan obat-obatan. Pemanenan yang sangat tinggi di beberapa negara seperti Indonesia, Malaysia, Thailand dan India mengakibatkan IUCN Red List mengklasifikasikan *A. malaccensis* sebagai spesies dalam status rawan (*vulnerable*) sejak 1998 serta terdaftar

dalam Appendix II pada CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*).

Penyebab timbulnya infeksi (yang menghasilkan gaharu) pada pohon penghasil gaharu hingga saat ini masih terus diamati. Para peneliti menduga bahwa ada 3 elemen penyebab proses infeksi pada pohon penghasil gaharu, yaitu (1) hipotesa patologi contohnya infeksi karena fungi, (2) perlukaan dan infeksi fungi, dan (3) hipotesa non-patologi (Ng *et al.* 1997). Masuknya mikroba ke dalam jaringan tanaman dianggap sebagai benda asing, sehingga sel tanaman akan menghasilkan suatu senyawa fitoaleksin yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap penyakit atau



patogen. Senyawa fitoaleksin tersebut dapat berupa resin berwarna coklat dan beraroma harum, serta menumpuk pada pembuluh xilem dan floem untuk mencegah meluasnya luka ke jaringan lain (Ingham 1972). Fitoaleksin adalah senyawa antimikroorganisme dengan berat molekul rendah yang terakumulasi dalam tanaman sebagai akibat dari infeksi atau stress. Oleh karena itu, fitoaleksin tidak dapat dideteksi pada tanaman sehat (Nugroho *et al.* 2002).

Proses masuknya mikroba ke dalam jaringan tanaman sedikitnya terjadi melalui tiga cara, yaitu mencerna dinding sel, masuk melalui bagian yang terluka dan menyerang melalui bukaan alami seperti stomata. Pektin merupakan salah satu dari target pertama yang dicerna oleh serangan mikroba (Ridley *et al.* 2001). Selulosa dan hemiselulosa merupakan karbohidrat yang siap dicerna oleh berbagai organisme (Zabel dan Morrell 1992). Sumber inokula patogen dapat berasal dari mikroba tanah atau jaringan sakit yang terletak pada satu pohon maupun pohon tetangga, kemudian adanya spora yang disebarkan oleh angin, air, atau serangga (Mohamed *et al.* 2010).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan September 2011 sampai Agustus 2012. Pengambilan contoh tanah dilakukan di Kabupaten Merangin, Provinsi Jambi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Tanah (Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian) dan Laboratorium Bakteriologi (Fakultas Kedokteran Hewan) Institut Pertanian Bogor untuk analisis biologi, serta Laboratorium Kesuburan Tanah (Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan) untuk analisis kimia/status hara tanah.

Contoh tanah diperoleh dari rhizosfer tanaman *Aquilaria malaccensis* di Kabupaten Merangin, Provinsi Jambi. Media yang digunakan pada analisis biologi meliputi SEA (*soil extract agar*), PDA (*potato dextrose agar*), NA (*nutrient agar*), CPAF (*citrus pectin agar for fungi*), dan CPAB (*citrus pectin agar for bacteria*).

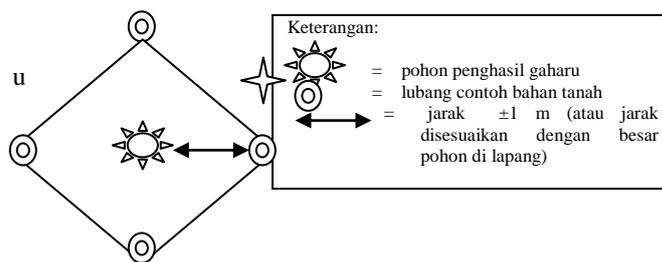
Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Erlenmeyer, pipet, tabung reaksi, cawan petri, *shaker*, *vortex*, *autoclave*, *laminar air flow*, *jarum ose*, *cork borer* Ø 5 mm, bunsen, oven, gelas piala, gelas ukur, ring sampler Ø 5 cm, timbangan, *inkubator*, cangkul, lemari pendingin, *cool box*, mikroskop, AAS (*atomic absorption spectroscopy*), Spectrophotometer UV-VIS, pH meter, *Three phase meter*.

### Pengambilan Contoh Tanah

Pengambilan contoh tanah dilakukan secara komposit pada kedalaman 0-5 cm di rhizosfer enam tanaman *A. malaccensis* yang telah menghasilkan gaharu. Tanaman dipilih secara acak di lahan kebun campuran *A. malaccensis* dan pinang.

Contoh tanah komposit yang digunakan untuk analisis biologi dan kimia diperoleh dengan cara mencangkul tanah pada kedalaman 0-5 cm dari 4 penjuru mata angin (barat, timur, utara, dan selatan) dari masing-masing tanaman *A. malaccensis* sejauh ±1 m (Gambar 1). Adapun contoh tanah tidak terganggu yang digunakan

untuk analisis bobot isi dan kadar air diambil dengan menggunakan ring sampler volume 98,13 cm<sup>3</sup> (tinggi dan diameter ring masing-masing 5 cm) dari selain 4 penjuru mata angin utama yang minim gangguan.



Gambar 1. Denah pengambilan contoh tanah

Contoh tanah komposit yang digunakan untuk analisis biologi dan kimia diperoleh dengan cara mencangkul tanah pada kedalaman 0-5 cm dari 4 penjuru mata angin (barat, timur, utara, dan selatan) dari masing-masing tanaman *A. malaccensis* sejauh ±1 m (Gambar 1). Adapun contoh tanah tidak terganggu yang digunakan untuk analisis bobot isi dan kadar air diambil dengan menggunakan ring sampler volume 98,13 cm<sup>3</sup> (tinggi dan diameter ring masing-masing 5 cm) dari selain 4 penjuru mata angin utama yang minim gangguan.

## Analisis Biologi

### Isolasi

Isolasi mikroba dilakukan menggunakan metode agar tuang dengan membuat seri pengenceran. Pengenceran 10-3-10-5 digunakan untuk mengisolasi fungi, sedangkan pengenceran 10-4-10-7 digunakan untuk mengisolasi bakteri. Media SEA digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi bakteri tanah, sedangkan media PDA dengan modifikasi penambahan antibiotik digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi fungi. Masing-masing pengenceran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Proses inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 3-7 hari.

### Pemurnian

Pemurnian (*purification*) bertujuan agar diperoleh biakan murni yang diinginkan tanpa ada kontaminan dari mikroba lain. Pemilihan koloni mikroba yang dimurnikan berdasarkan perbedaan kenampakan morfologi koloni, baik dari segi warna, elevasi, tekstur permukaan, garis-garis radial, lingkaran konsentris maupun tetes eksudat sehingga diperoleh isolat murni. Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan cara memindahkan bakteri menggunakan metode garis yang kemudian ditumbuhkan pada media NA, sedangkan pada pemurnian isolat fungi menggunakan metode titik dalam proses pemindahan ke dalam media PDA.

## Pengujian Isolat dalam Mendegradasi Selulosa dan Pektin

Isolat bakteri dan fungi yang diperoleh selanjutnya menjalani uji kemampuan mendegradasi selulosa dan pektin. Masing-masing isolat ditumbuhkan

pada media khusus yaitu CMC, CPAF berdasarkan penelitian Molina *et al.* (2001), dan CPAB berdasarkan penelitian Soares *et al.* (1999) dengan beberapa modifikasi. Isolat-isolat yang ditumbuhkan dalam media selektif tersebut diinkubasi pada suhu ruangan selama 3 hari. Di akhir masa inkubasi, isolat yang ditumbuhkan pada media CMC digenangi larutan *Congo Red* 0,1%, sedangkan untuk isolat yang ditumbuhkan pada media CPAF dan CPAB digenangi larutan iodine-potassium iodide atau iodine Gram. Penggenangan berlangsung minimal 15 menit. Adanya zona bening di sekeliling isolat menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat mendegradasi selulosa atau pektin. Pengukuran diameter koloni dan diameter zona bening dilakukan untuk mengetahui indeks pelarutan selulosa maupun pektin. Berikut ini rumus perhitungan indeks pelarutan:

Indeks pelarutan = diameter zona bening / diameter koloni

Contoh perhitungan:

Isolat fungi 7 yang ditumbuhkan pada media CPAF selama 3 hari pada suhu ruangan, kemudian digenangi larutan iodine Gram. Menunjukkan diameter koloni 13 mm dan diameter zona bening 37 mm. Maka:

$$\begin{aligned} \text{Indeks pelarutan} &= 37 \text{ mm} / 13 \text{ mm} \\ &= 2,85 \end{aligned}$$

### Identifikasi Isolat

Koloni mikroba yang menunjukkan kemampuan mendegradasi selulosa dan pektin dengan indeks pelarutan tinggi selanjutnya menjalani proses identifikasi. Proses identifikasi untuk isolat fungi meliputi kenampakan morfologi dan mikroskopiknya, sedangkan untuk isolat bakteri proses identifikasi berdasarkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* melalui hasil uji biokimia.

### Analisis Kimia

Analisis kimia bertujuan untuk mengetahui jumlah unsur-unsur kimia tanah yang turut berperan dalam kehidupan mikroba tanah, antara lain: P-tersedia, N-total, C-organik, Mn, Zn, Cu, Fe, Mg dan Ca. P-tersedia dalam tanah ditetapkan menggunakan metode Bray-1 dengan menggunakan alat ukur Spectrophotometer UV-VIS ( $\lambda=660 \text{ nm}$ ).

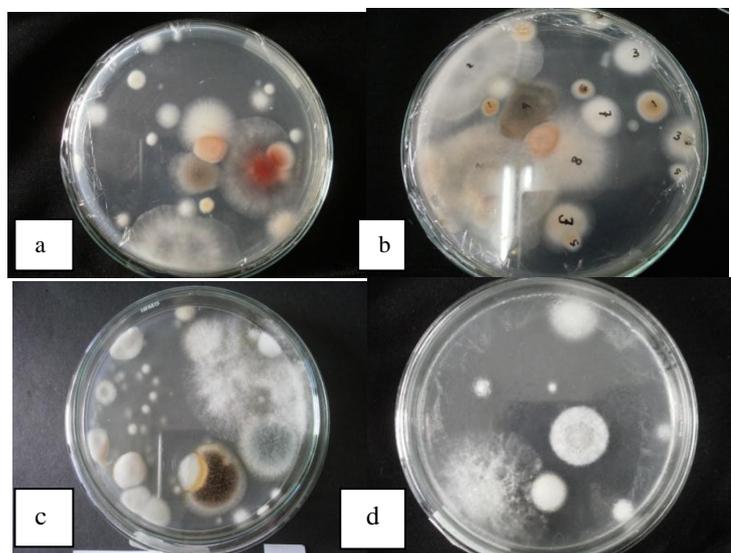
Metode Kjeldhal digunakan untuk penetapan N-total sedangkan penetapan C-organik digunakan metode Walkley & Black. Pada penetapan unsur-unsur makro (Ca dan Mg) digunakan ammonium asetat ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ , pH7) sebagai larutan pengekstrak, sedangkan HCl 0,05 N digunakan pada penetapan unsur-unsur mikro (Mn, Zn, Cu dan Fe). Alat ukur yang digunakan pada penetapan unsur-unsur mikro tersebut yaitu AAS (*atomic absorption spectroscopy*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

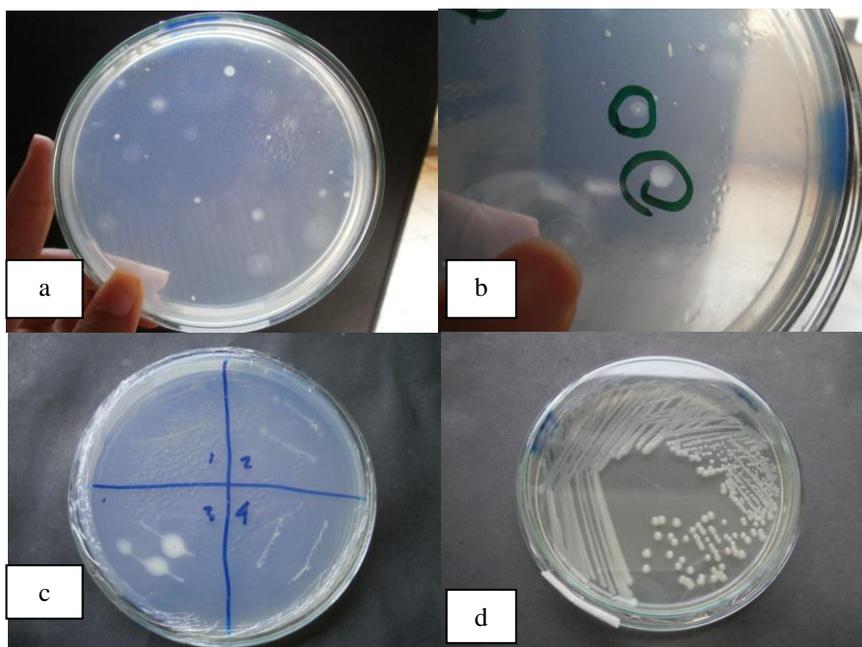
### Isolasi Mikroba Tanah

Kegiatan isolasi pada penelitian ini dikhususkan hanya kelompok fungi dan bakteri. Fungi yang tumbuh ketika proses isolasi seringkali membentuk koloni yang tumpang tindih satu sama lain (Gambar 2). Oleh karena itu, diperlukan tahap pemurnian yang berfungsi memisahkan masing-masing koloni sesuai dengan perbedaan kenampakan morfologi secara makroskopis. Setelah melewati tahap pemurnian, diperoleh 26 isolat fungi yang memiliki ciri-ciri morfologi yang khas, baik dari segi warna, elevasi, bentuk permukaan koloni, kenampakan pada sebalik koloni (*reverse side*), garis-garis radial, lingkaran-lingkaran konsentris, serta tetes eksudat. Kenampakan warna permukaan koloni fungi yang tumbuh pada tahap isolasi didominasi oleh putih (Gambar 2c dan 2d), meskipun demikian kita dapat membedakan jenis-jenis fungi melalui ciri morfologi lain, salah satunya melalui kenampakan pada *reverse side* yang ditunjukkan Gambar 2a dan 2b.

Pada tahap isolasi kelompok bakteri membutuhkan waktu inkubasi cukup lama ( $\pm 7$  hari) hingga nampak koloni yang tumbuh pada media SEA (Gambar 3a). Pada tahap pemurnian media diganti menjadi NA agar waktu inkubasi menjadi lebih singkat karena pemurnian dilakukan sebanyak 2-3 tahap hingga diperoleh isolat murni (Gambar 3c dan 3d). Bakteri yang diperoleh setelah melewati tahap pemurnian yaitu 29 isolat.



Gambar 2. Beragam fungi tumbuh dalam cawan berisi PDA pada proses isolasi



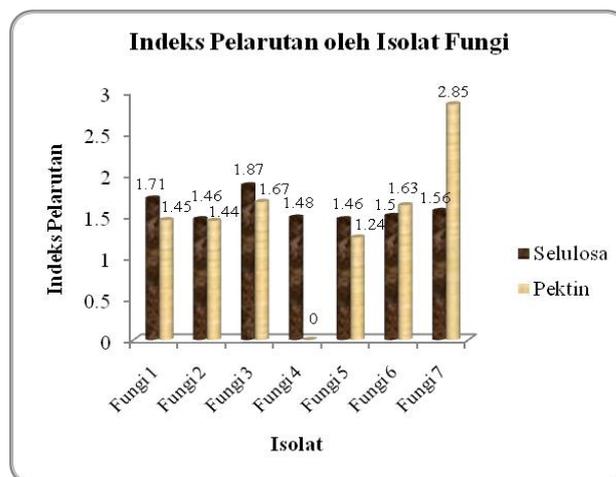
Gambar 3. Tahap isolasi (a) dan pemurnian (b-c) hingga diperoleh isolat bakteri murni (d)

### Uji Kemampuan Mikroba Pendegradasi Selulosa dan Pektin

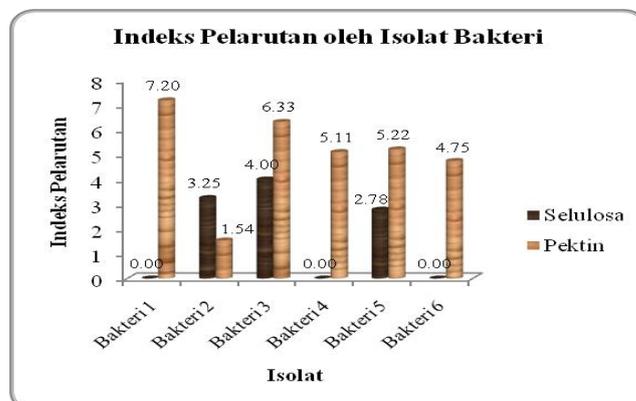
Pada pengujian 26 isolat fungi, terdapat tujuh isolat dengan indeks pelarutan selulosa dan pektin cukup tinggi (Gambar 4). Isolat fungi 7 memiliki indeks pelarutan pektin yang jauh lebih tinggi (lebih dari 2 kali lipat) dibandingkan isolat fungi lainnya. Hal ini senada dengan kemampuannya dalam mendegradasi selulosa dengan indeks pelarutan cukup tinggi yaitu 1,56. Oleh karena itu, isolat fungi 7 menjadi kandidat terbaik untuk diidentifikasi.

Pengujian 29 isolat bakteri yang diperoleh dari contoh tanah pada penelitian ini menunjukkan enam isolat (Gambar 5) memiliki indeks pelarutan/hidrolisis terhadap selulosa dan pektin cukup tinggi. Isolat bakteri 1 menunjukkan indeks pelarutan pektin paling tinggi yaitu 7,20. Namun, hal ini tidak berbanding lurus dengan kemampuannya dalam mendegradasi selulosa. Isolat bakteri 3 memiliki indeks pelarutan selulosa paling tinggi dibandingkan isolat bakteri lainnya dengan indeks pelarutan pektin yang juga cukup tinggi, kedua tertinggi setelah isolat bakteri 1. Oleh karena itu, isolat bakteri 3 yang akan menjalani proses identifikasi.

Pengujian 29 isolat bakteri yang diperoleh dari contoh tanah pada penelitian ini menunjukkan enam isolat (Gambar 5) memiliki indeks pelarutan/hidrolisis terhadap selulosa dan pektin cukup tinggi. Isolat bakteri 1 menunjukkan indeks pelarutan pektin paling tinggi yaitu 7,20. Namun, hal ini tidak berbanding lurus dengan kemampuannya dalam mendegradasi selulosa. Isolat bakteri 3 memiliki indeks pelarutan selulosa paling tinggi dibandingkan isolat bakteri lainnya dengan indeks pelarutan pektin yang juga cukup tinggi, kedua tertinggi setelah isolat bakteri 1. Oleh karena itu, isolat bakteri 3 yang akan menjalani proses identifikasi.



Gambar 4. Indeks pelarutan selulosa dan pektin oleh isolat fungi



Gambar 5. Indeks pelarutan selulosa dan pektin oleh isolat bakteri

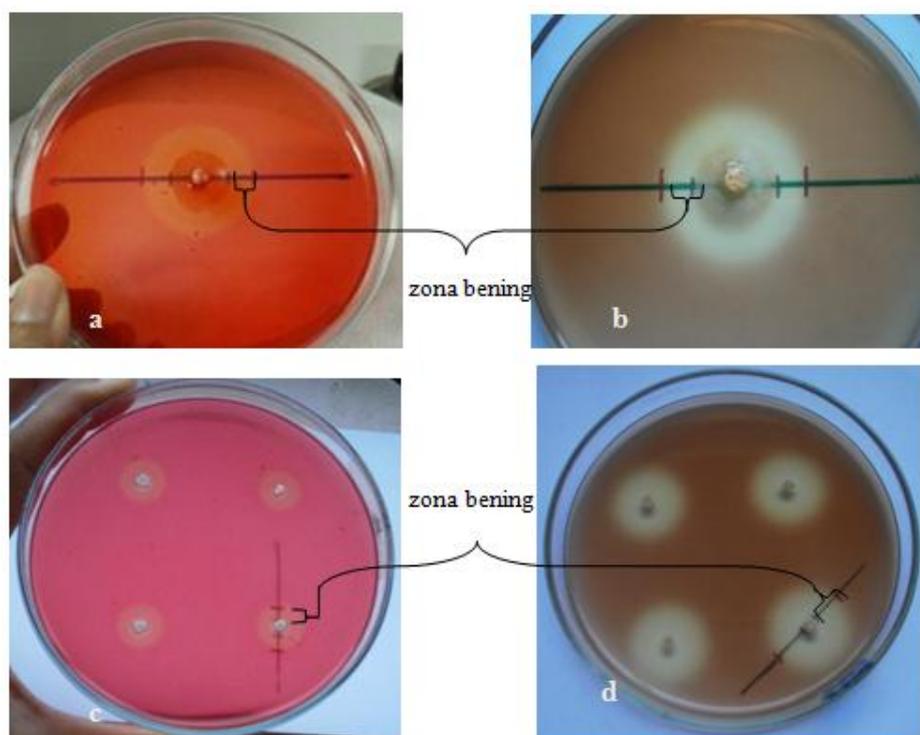
Pengujian untuk melihat adanya aktivitas selulase pada isolat bakteri dan fungi secara khas ditunjukkan dalam cawan berisi CMC. Zona bening yang terbentuk pada sekeliling koloni isolat fungi dan bakteri (Gambar 6a dan 6c) setelah digenangi larutan Congo Red merupakan indikasi adanya pelarutan/hidrolisis CMC sebagai hasil kerja enzim selulase yang disekresikan isolat. Pada pengujian isolat yang menghasilkan enzim pendegradasi pektin, isolat fungi ditumbuhkan pada CPAF sedangkan isolat bakteri pada CPAB. Zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni (Gambar 6b dan 6d) dapat terlihat setelah digenangi larutan *iodine-potassium iodide (iodine Gram)*. Penggunaan larutan *iodine Gram* merupakan substitusi larutan *hexadecyltrimethyl ammonium bromide* yang digunakan sebagai pewarna pada penelitian Molina *et al.* (2001). Meskipun metode pengujian tersebut cukup sensitif untuk isolasi dan seleksi primer mikroba pendegradasi selulosa dan pektin, namun lebar zona bening yang terbentuk tidak dapat dinyatakan sebagai kuantitas dari aktivitas enzim yang disekresi mikroba.

## Identifikasi Mikroba Pendegradasi Selulosa dan Pektin

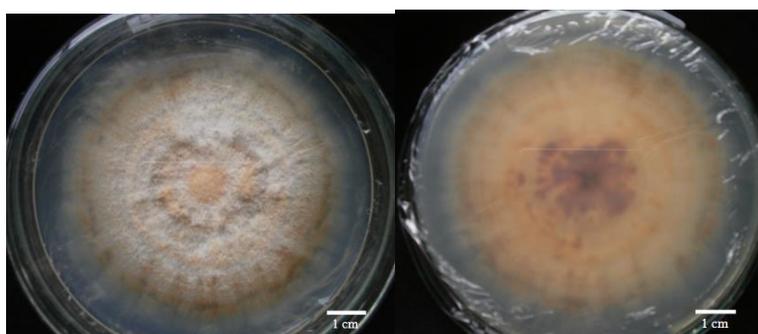
### Identifikasi Fungi

Identifikasi fungi meliputi kenampakan morfologi fungi secara makroskopis dan mikroskopis. Kenampakan isolat fungi 7 secara makroskopis (Gambar 7) memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: permukaan cottony tipis halus berwarna putih krem dengan pusat koloni berwarna coklat muda, terdapat lingkaran-lingkaran konsentris berwarna coklat muda, warna di sebaliknya (*reverse side*) coklat dengan bagian pusat koloni berwarna lebih tua, dan memiliki elevasi datar.

Pada pengamatan isolat fungi 7 secara mikroskopik (Gambar 8), dapat terlihat struktur khas dari jenis fungi tersebut. Kenampakan yang paling mencolok adalah konidia (gambar 8c) dengan struktur melingkar/menggulung (*helicoid*) yang merupakan ciri khusus dari kelompok fungi *helicospora*. Konidiofor pada isolat fungi 7 memiliki ciri-ciri berseptum, hyaline, simpel

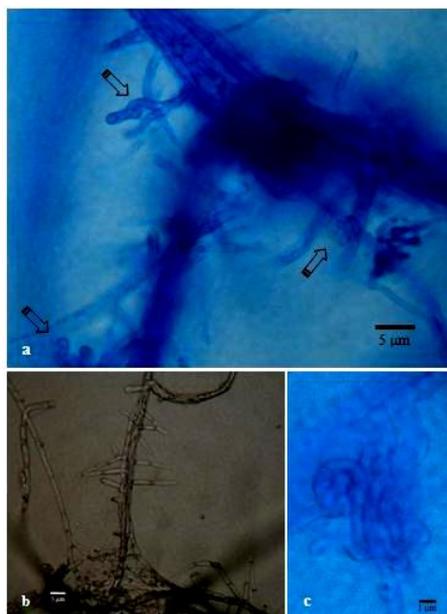


Gambar 6. Zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni fungi dan bakteri pada tahap pengujian



Gambar 7. Kenampakan permukaan koloni (a) dan *reverse side* (b) isolat fungi 7

atau bercabang, halus, tegak, lurus atau sedikit bengkok, dan ketebalan 2-3  $\mu\text{m}$  pada bagian paling lebar. Konidia diproduksi tunggal (*solitary*), hyaline, halus, berbentuk melingkar (*helicoid*) dengan ketat, berseptum, filamen konidia relatif tebal, dan bersifat non-higroskopik. Melalui ciri-ciri tersebut, isolat fungi 7 dapat dikelompokkan ke dalam genus *Helicoma*.



Gambar 8. Kenampakan mikroskopik isolat fungi 7 dengan *helicoid* konidia ditunjukkan tanda panah (a) dan (c), preparat digenangi lactophenol-cotton blue. Konidiofor tegak (b) timbul dari miselium. Garis skala: a-b = 5  $\mu\text{m}$ ; c = 1  $\mu\text{m}$

## Identifikasi Bakteri

Proses identifikasi isolat bakteri yaitu melalui uji pewarnaan Gram dan uji biokimia yang meliputi kemampuan dalam memfermentasi gula dan pertumbuhannya dalam berbagai media. Isolat bakteri yang melalui tahap identifikasi yaitu isolat bakteri 3. Ciri-ciri umum yang ditunjukkan isolat bakteri 3 yaitu termasuk bakteri Gram-positif dengan sel berbentuk batang, dapat bersifat motil bisa juga tidak motil. Selain itu, beberapa spesies bisa tumbuh dalam suhu tinggi (50 °C) dan kondisi anaerobik. Hasil reaksi uji biokimia dengan berbagai parameter uji dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil uji-uji tersebut dengan ditunjang *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, dapat diperoleh kesimpulan isolat bakteri 3 merupakan *Bacillus brevis*.

## Pembahasan Umum

Berbagai penelitian mengenai *Aquilaria* spp. berfokus pada mencari mikroba yang dapat menstimulasi pembentukan gaharu. Namun, jenis fungi atau bakteri yang secara spesifik dapat berasosiasi pada pembentukan resin gaharu masih belum ditemukan. Chakrabarty *et al.* (1994) menyatakan bahwa tidak ada resin yang keluar secara alami maupun melalui penyadapan batang tanaman. Sehingga inokulasi fungi merupakan salah satu cara yang mungkin dilakukan untuk menghasilkan gaharu dibandingkan kayu yang tidak terinfeksi. Tamuli *et al.*

(2008) meneliti adanya aktivitas enzim selulase dan pektinase pada batang tanaman *A. malaccensis* yang terinfeksi patogen menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan tanaman sehat. Tingginya aktivitas enzim selulase dan pektinase bisa jadi bertanggung jawab atas kolonisasi patogen dalam jaringan tanaman yang terinfeksi. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Ridley *et al.* (2001) mengenai pektin sebagai salah satu target pertama yang dicerna oleh serangan mikroba, serta Isaac (1997) yang menjelaskan bahwa selulase juga termasuk enzim penting bagi patogen yang membantu masuk ke dalam jaringan tanaman hidup sehingga kebutuhan nutrisi mikroba untuk berkembang biak menjadi tersedia.

Hasil seleksi mikroba pendegradasi selulosa dan pektin yang diperoleh dari rhizosfer *A. malaccensis* diidentifikasi sebagai *Bacillus brevis* pada kelompok bakteri dan *Helicoma* spp. pada kelompok fungi. Hingga saat ini, belum ditemukan laporan mengenai penggunaan *Bacillus brevis* dan *Helicoma* spp. sebagai inokula patogen pada pembentukan gaharu.

Fungi yang secara umum ditemukan pada batang tanaman *Aquilaria* spp. yang sudah terbentuk gaharu merupakan jenis *Fusarium*, *Cunninghamella*, *Acremonium*, *Curvularia*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* (Chakrabarty *et al.* 1994; Rahayu *et al.* 1998; Mohamed *et al.* 2010). Namun hingga saat ini masih belum ditemukan laporan mengenai penelitian yang memperoleh jenis fungi *Helicoma* sebagai patogen pada tanaman *Aquilaria* spp. *Helicoma* merupakan salah satu jenis fungi anamorf dengan ciri khas memiliki *helicoid* konidia. Fungi yang termasuk ke dalam kelompok fungi helicospora biasa ditemukan di tempat lembab pada serasah tanaman, kayu dan ranting yang membusuk. Pada penelitian ini, *Helicoma* menunjukkan indeks pelarutan selulosa dan pektin yang lebih tinggi dibandingkan isolat fungi lainnya. Aktivitas enzim yang dihasilkan patogen dalam mendegradasi selulosa dan pektin merupakan faktor penting dalam proses infeksi jaringan tanaman. Oleh karena itu, *Helicoma* dapat dijadikan sebagai kandidat patogen dalam aplikasi inokula pembentuk gaharu pada tanaman *Aquilaria*.

Organisme prokaryot dapat hidup di alam dalam kondisi fisik lingkungan dengan cakupan sangat luas, seperti konsentrasi oksigen ( $\text{O}_2$ ), pH dan suhu. Lingkungan tempat diperolehnya contoh tanah pada penelitian ini merupakan daerah tropik dengan rentang suhu 23-32°C, pada suhu ini organisme mesofilik dapat tumbuh secara optimum. Tanah pada lahan tempat pengambilan contoh tanah memiliki rata-rata bobot isi 1,11  $\text{g cm}^{-3}$  dengan pH 4,7-5,2 sehingga termasuk ke dalam jenis tanah masam. Mikroba yang dapat tumbuh pada suhu optimum di bawah netral (7.0) disebut acidofilik. Di antara eukaryot, sebagian besar fungi merupakan makhluk acidofilik. Tabel 2 menunjukkan hasil analisis kimia pada contoh tanah yang digunakan dalam penelitian ini. Hal ini dapat digunakan sebagai gambaran nutrisi yang tersedia bagi mikroba pada lingkungan alami hidupnya.

Tabel 1. Hasil uji biokimia identifikasi isolat bakteri 3

No.	Parameter uji	Hasil reaksi
1	Katalase	Positif
2	Pertumbuhan pada media NaCl 5%	Negatif
3	Pertumbuhan pada suhu 50°C	Dibus (bisa positif/bisa negatif)
4	Citrate	Dibus (bisa positif/bisa negatif)
5	Gas dalam glukosa	Negatif
Fermentasi gula :		
6	Glukosa	Dibus (bisa positif/bisa negatif)
7	Arabinose	Negatif
8	Mannitol	Dibus (bisa positif/bisa negatif)
9	Xylose	Negatif
10	Gelatin hidrolisis	Positif
11	Casein hidrolisis	Positif
12	Starch hidrolisis	Positif
13	Indol	Negatif
14	Nitrate reduction	Dibus (bisa positif/bisa negatif)
15	Voges-Proskaur test pH < 6	Negatif
16	Voges-Proskaur test pH > 7	Positif
17	Nutrient Broth pH 6,8	Positif
18	Nutrient Broth pH 5,7	Dibus (bisa positif/bisa negatif)

Tabel 2. Hasil analisis kimia contoh tanah yang digunakan

No.	Parameter uji	Satuan	Hasil
1	pH	-	4,7-5,2
2	Kadar air	%	45
3	Bobot isi	g cm <sup>-3</sup>	1,11
4	C-organik	%	3,19
5	N-total	%	0,24
6	P-tersedia	ppm	8,3
7	Ca	me 100g <sup>-1</sup>	4,69
8	Mg	me 100g <sup>-1</sup>	1,15
9	Fe	ppm	7,0
10	Cu	ppm	1,0
11	Mn	ppm	98,4
12	Zn	ppm	11,4

## SIMPULAN

Mikroba hasil isolasi dari rhizosfer *Aquilaria malaccensis* menunjukkan adanya bakteri dan fungi yang dapat mendegradasi selulosa dan pektin. Mikroba yang menunjukkan indeks pelarutan selulosa dan pektin paling baik dari jenis bakteri adalah *Bacillus brevis*, sedangkan dari jenis fungi termasuk ke dalam genus *Helicoma*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chakrabarty K, Kuner A, and Manon V. 1994. *Trade In Agarwood*. WWF India Traffic India. New Delhi.
- Ingham JL. 1972. Phytoalexins and other natural products as factors in plant disease resistance. *Bot. Rev.*, 38:343-424.
- Isaac S. 1997. How do fungi degrade and obtain nutrients from cellulose? *Mycologist*. 11(2):92-93.
- Mohamed R, Jong PL, and Zali MS. 2010. Fungal diversity in wounded stems of *Aquilaria malaccensis*. *Fungal Divers.*, 43:67-74.
- Molina SMG, Pelissari FA, and Vitorello CBM. 2001. Screening and genetic improvement of pectinolytic fungi for degumming of textile fibers. *Braz. J. Microbiol.*, 32:320-326.
- Ng LT, Chang YS, and Kadir AA. 1997. A review on agar (gaharu) producing *Aquilaria* species. *J. Trop. For. Prod.*, 2(2):272-285.
- Nugroho LH, Peltenburg-Looman AMG, Verberne MC, and Verpoorte R. 2002. Is accumulation of sesquiterpenoid phytoalexins induced in tobacco plants constitutively producing salicylic acid?. *Plant Sci.*, 162:989-993.
- Rahayu G, Isnaini Y, Situmorang J, dan Umboh MIJ. 1998. Cendawan yang berasosiasi dengan gaharu (*Aquilaria* spp.) dari Indonesia. *Dalam*. Prosiding Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI. Bandar Lampung, 16-18 Desember 1998, h.385-393.
- Ridley BL, O'Neil MA, and Mohnen D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57:929-967.
- Soares MMCN, daSilva R, and Gomes E. 1999. Screening of bacterial strains for pectinolytic activity: characterization of the polygalacturonase produces by *Bacillus* sp. *Rev. Microbiol.*, 30:299-303.
- Tamuli P, Baruah P, and Samanta R. 2008. Enzyme activities of agarwood (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) stem under pathogenesis. *J. Spices Aromat. Crop.*, 17(3):240-243.
- Zabel RA and Morrell JJ. 1992. *Wood Microbiology: Decay and Its Prevention*. Academic Pr. San Dieg.