



## Kemampuan Isolat Rizobakteri sebagai Agens Antagonis *Fusarium verticillioides* Penyebab Penyakit Busuk Tongkol pada Tanaman Jagung (*Zea mays Linnaeus*), secara Invitro

**Ability of Rhizobacterial Isolates as Antagonistic Activity for *Fusarium Verticillioides* Invitro, Causes of Maize Ear Cob (*Zea mays Linnaeus*)**

**Aisyah Harpani<sup>1)</sup>, Martinius<sup>2)\*</sup>, Yunisman<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup> Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang

<sup>2)</sup> Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang

E-mail: Martiniustin@gmail.com

### ABSTRACT

Rhizobacteria is an alternative biocontrol of *Fusarium verticillioides* Sacc. Nirenberg caused ear rot on maize. The aim of this study was to screen rhizobacteria isolates that had ability as antagonist agent against *F. verticillioides* in vitro. Rhizobacteria was isolated from rhizosphere of healthy maize from two villages of West Pasaman. Twenty six rhizobacteria isolates were obtained, then tested for hypersensitive reaction (HR), pectinase enzyme production, initial inhibitory activity, and hemolytic test. Two selected isolates: RBPas1 10-6 1 and RBPas2 10-5 2 could inhibit the growth of *F. verticillioides*. The inhibitory activity of both isolates were observed with dual culture method, using complete random design (CRD) with 2 treatments and 5 replications, furthermore physiological characterization was conducted. RBPas1 10-6 1 and RBPas2 10-5 2 isolates had the percentage inhibition of micelial growth: 46.16% and 31.30% respectively. Physiological characterization showed that RBPas1 10-6 1 was gram negative with baciliform cells, produced chitinase enzyme, siderophores and fluorescent. RBPas2 10-5 2 was gram positive with bacilliform cells, did not produce chitinase enzyme, siderophores and fluorescent.

**Keywords:** Siderophores, hemolytic test, chitinolytic test, fluorescent

### PENDAHULUAN

Jagung merupakan tanaman pangan yang penting di dunia, selain padi dan gandum (Semangun, 1990). Jagung tidak hanya sebagai bahan pangan tetapi juga digunakan sebagai pakan ternak dan bahan baku industri. Salah satu faktor pembatas produktivitas jagung adalah penyakit busuk tongkol fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium* spp. (Shurtleff, 1986). Fusarium merupakan salah satu jamur patogen tanaman yang sulit dikendalikan (Singh et al., 1999) dan sangat merugikan secara ekonomi karena

bersifat polifag (Gonsalves dan Ferreira, 1994). Selain menyerang tongkol, patogen ini juga dapat menyerang batang dan menyebabkan busuk batang (*stalk rot*). Jamur ini dapat terbawa oleh biji dan menyebabkan penyakit semai (*damping off*) (Oren et al., 2003).

Gejala busuk tongkol ditandai dengan matinya sebagian tanaman, kelobot tongkol terlihat berwarna hitam. Ketika kelobot dibuka di antara biji ditemukan adanya massa berwarna putih-merah muda yang diduga sebagai miselia jamur. Tongkol yang terinfeksi

tidak menunjukkan pengisian biji yang maksimal sehingga lebih ringan dibandingkan tongkol yang sehat. Intensitas serangan penyakit busuk tongkol pada jagung di Sumatera Barat berkisar antara 10%-50%. Intensitas yang sangat tinggi (50%) terjadi di Kabupaten Pasaman Barat dan salah satu spesies Fusarium yang menyebabkan penyakit busuk tongkol pada jagung di Sumatera Barat adalah *Fusarium verticillioides* (Rahma et al., 2014).

Patogen *F. verticillioides* pada tanaman jagung ditularkan melalui udara (*air born*), benih (*seed born*), dan tanah (*soil born*) (Oren et al., 2003). Infeksi juga dapat terjadi pada tempat pengeringan dan penyimpanan biji jagung (Djaenuddin dan Muis, 2013). Maryam et al. (2007) menambahkan, ada hal penting untuk diwaspadai dari infeksi jamur *F. verticillioides* yaitu produksi mikotoksin jenis fumonisins yang dapat menyebabkan penyakit kronis pada hewan dan manusia.

Pengendalian menggunakan agens hayati merupakan pilihan yang perlu dikembangkan, sebab relatif murah dan mudah dilakukan, serta bersifat ramah lingkungan (Soesanto, 2013). Agens hayati yang sudah banyak dilaporkan berperan sebagai agens antagonis patogen tanaman adalah rizobakteri.

Rizobakteri merupakan bakteri saprofit yang hidup pada daerah perakaran dan mengkoloniasi sistem perakaran tanaman. Rizobakteri telah banyak diaplikasikan pada tanaman karena dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen tanaman. Rizobakteri telah banyak dikembangkan sebagai agens antagonis patogen tanaman diantaranya adalah *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp (Abidin et al., 2015), *Actinomycetes* sp (Sallytha et al., 2014) dan *Serratia* sp (Sutariati dan Wahab, 2010).

Rizobakteri dari perakaran tanaman cabai rawit mampu menekan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *F. oxysporum* (Maharta et al., 2013). Penelitian Syamsuddin dan Ulim (2013) memperlihatkan bahwa rizobakteri dari perakaran tanaman cabai mampu mengendalikan *Phytophthora capsici* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman cabai. Lopez et al. (2016) juga melaporkan bahwa rizobakteri dari perakaran tanaman jagung mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan jamur *F. verticillioides* penyebab penyakit busuk akar, batang dan tongkol pada tanaman jagung tersebut.

Nawangsih (2006) menjelaskan syarat suatu bakteri dapat dijadikan agens biokontrol adalah tidak menimbulkan pengaruh negatif atau fitotoksitas dan tidak menimbulkan dampak buruk bagi lingkungan dan manusia, oleh karena itu perlu dilakukan uji reaksi hipersensitif, uji pektinase, dan uji hemolitik. Sebagai agens antagonis patogen tanaman, rizobakteri mampu memicu ketahanan sistemik terinduksi pada tanaman, sehingga memberikan perlindungan terhadap tanaman dari serangan fitopatogen (Maharta et al., 2013). Rizobakteri juga mampu menghasilkan senyawa siderofor yang dapat mengikat ion Fe sehingga membuatnya tidak tersedia bagi patogen, selain itu rizobakteri memiliki kemampuan dalam memproduksi enzim yang mampu mendegradasi komponen penyusun dinding sel patogen, salah satunya yaitu enzim kitinase (Soesanto, 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat rizobakteri yang memiliki kemampuan sebagai agens antagonis jamur *F. verticillioides* secara *in vitro*.

## METODOLOGI

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas

Pertanian, Universitas Andalas Padang, mulai dari April-Juni 2016.

### **Uji pendahuluan**

Rizobakteri diperoleh menggunakan metode eksplorasi yaitu mengambil sampel dari tanah perakaran tanaman jagung sehat di antara tanaman jagung yang terserang busuk tongkol di nagari Lingkuang Aua dan Aia Gadang, Kecamatan Pasaman, Kabupaten Pasaman Barat. Sampel dibawa dan selanjutnya di isolasi dengan metode pengenceran di laboratorium lalu diidentifikasi. Isolat rizobakteri yang diperoleh kemudian diseleksi dengan pengujian reaksi hipersensitif (HR), uji pektinase, uji daya hambat awal dan uji hemolitik.

### **Daya hambat isolat rizobakteri terpilih**

Dua isolat terpilih (RBPas1  $10^{-6}$  1 dan RBPas2  $10^{-5}$  2) dan satu kontrol, diuji kembali daya hambatnya menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 ulangan. Satu koloni kedua isolat diambil dengan jarum ose kemudian digores pada media TSA. Miselia jamur *F. verticillioides* yang telah diremajakan diambil menggunakan *cork borer* dengan diameter 5 mm dan ditempatkan pada jarak 3 cm dari tepi cawan petri. Kemudian masing-masing isolat rizobakteri digoreskan memanjang dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri berlawanan arah dengan letak jamur *F. verticillioides* (Rosadiah et al., 2015).

### **Karakterisasi rizobakteri**

Uji karakterisasi rizobakteri ini meliputi uji Gram KOH 3%, uji pewarnaan Gram, uji kitinolitik, uji siderofor, dan uji fluorescent. Uji Gram KOH dilakukan dengan meletakkan larutan KOH 3% sebanyak 1 tetes diletakkan di atas kaca objek menggunakan pipet tetes, kemudian diambil biakan murni isolat rizobakteri uji dan dicampurkan dengan larutan tersebut (Schaad et al., 2001).

Untuk uji pewarnaan gram, isolat bakteri diambil dengan jarum ose dan digoreskan pada permukaan preparat

Harpani et al. Uji Kemampuan Isolat Rizobakteri

steril kemudian dilakukan fiksasi. Kristal violet sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat pada lapisan bakteri tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan air sampai zat warna luntur. Preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah kering, larutan lugol sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan air. Preparat dibilas dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur kemudian dibilas kembali dengan air. Preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah kering, safranin sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat dan didiamkan selama 45 detik. Preparat dicuci dengan air dan dikeringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x (Pratita dan Putra, 2012).

Uji kitinolitik dilakukan dengan menggunakan metode Singh et al. (1999). Media yang digunakan adalah media agar kitin modifikasi (media TSA yang ditambahkan colloidal chitin 0,2%). Kertas saring dengan diameter 6 mm dicelupkan ke dalam masing-masing suspensi isolat rizobakteri, lalu diletakkan di tengah media di dalam cawan petri.

Pengujian senyawa siderofor dilakukan dengan cara menyiapkan kertas saring dengan diameter 6 mm kemudian dicelupkan pada masing-masing suspensi rizobakteri dan ditempatkan di tengah media CAS (Husen, 2003). Adapun pengujian produksi fluorescent dilakukan dengan menggores biakan murni isolat rizobakteri uji pada media agar Kings'B kemudian diinkubasi selama 72 jam (Addy, 2008).

### **Pengamatan**

#### **Daya hambat**

Pengamatan daya hambat dilakukan pada hari ke 7 setelah inokulasi dan dilakukan dengan cara mengukur zona bening (ruang antara pertumbuhan jamur

*F. verticilliooides* dan rizobakteri). Pengamatan zona bening dilakukan dengan cara mengukur jarak antara ujung hifa *F. verticilliooides* dengan goresan rizobakteri menggunakan penggaris (cm) (Syamsuddin dan Ulim, 2013).

#### **Uji gram KOH 3%**

Kelompok bakteri Gram negatif (-) ditandai dengan terbentuknya lendir saat jarum ose ditarik ke atas. Bakteri Gram positif (+) ditandai dengan tidak terbentuk lendir saat jarum ose ditarik ke atas (Schaad et al., 2001).

#### **Pewarnaan Gram**

Pengamatan pewarnaan Gram dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila sel bakteri terwarnai keunguan, dan bersifat Gram negatif apabila sel bakteri terwarnai merah. Bentuk sel diamati berdasarkan pengamatan di bawah mikroskop (bulat, batang, spiral) (Pratita dan Putra, 2012).

#### **Produksi Enzim Kitinase**

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selama 7 hari. Produksi enzim kitinase ditandai dengan adanya zona bening di sekitar pertumbuhan isolat rizobakteri yang diletakkan di tengah media agar kitin (Singh et al., 1999).

#### **Produksi Senyawa Siderofor**

Pengamatan terhadap produksi senyawa siderofor dilakukan setelah inkubasi selama 72 jam yang ditandai dengan adanya zona berwarna orange di sekitar pertumbuhan isolat rizobakteri yang diletakkan di tengah media (Husen, 2003).

#### **Produksi Fluorescent**

Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi berumur 72 jam. Isolat rizobakteri kemudian diamati di bawah lampu ultraviolet (UV). Fluorescent ditandai dengan adanya pigmen hijau kekuningan atau berpendar saat

Harpani et al. Uji Kemampuan Isolat Rizobakteri pengamatan di bawah sinar UV (Addy, 2008).

#### **Analisis Data**

Data pengamatan uji daya hambat rizobakteri terhadap jamur *F. verticilliooides* dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Least Significance Difference (LSD) pada taraf nyata 5%. Data pengamatan identifikasi, seleksi dan karakterisasi isolat rizobakteri disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.

## **HASIL**

#### **Uji Pendahuluan**

Berdasarkan uji pendahuluan, diperoleh 26 isolat rizobakteri yang didominasi oleh bentuk koloni bulat, elevasi koloni datar, tepi koloni rata dan warna koloni putih (Tabel 1). Dari semua isolat tersebut, hanya 2 isolat yang memenuhi syarat untuk dilakukan uji lanjutan yaitu RBPas1  $10^{-6}$ 1 dan RBPas2  $10^{-5}$ 2 karena memiliki daya hambat positif, HR negatif, tidak memproduksi enzim pectinase, dan uji hemolitik negatif (Tabel 2).

#### **Daya hambat isolat terpilih**

Isolat rizobakteri mampu menghambat perkembangan *F. verticilliooides* sebesar 31,30 dan 46,16 %. Daya hambat RBPas1  $10^{-6}$ 1 lebih tinggi dibandingkan RBPas2  $10^{-5}$ 2 (Tabel 3).

#### **Uji gram KOH 3%**

Pengujian Gram menggunakan KOH 3% menunjukkan bahwa isolat RBPas1  $10^{-6}$ 1 tergolong Gram negatif (-) dan isolat RBPas2  $10^{-5}$ 2 tergolong Gram positif (+). Bakteri gram negatif ditandai dengan terbentuknya lendir pada jarum ose yang ditarik saat pengujian, sedangkan bakteri gram positif ditandai dengan tidak terbentuknya lendir pada jarum ose yang ditarik saat pengujian seperti yang terlihat pada Gambar 8.

Tabel 1. Morfologi isolat rizobakteri tanaman jagung

| Kode Isolat        | Bentuk        | Elevasi | Tepi         | Warna       |
|--------------------|---------------|---------|--------------|-------------|
| RBPas1 $10^{-5}$ 1 | Rizoid        | Datar   | Threadlike   | Putih keruh |
| RBPas1 $10^{-5}$ 2 | Bulat         | Datar   | Rata         | Putih keruh |
| RBPas1 $10^{-5}$ 3 | Tidak Teratur | Datar   | Bergelombang | Putih       |
| RBPas1 $10^{-5}$ 4 | Tidak Teratur | Raised  | Bergelombang | Putih keruh |
| RBPas1 $10^{-6}$ 1 | Tidak Teratur | Raised  | Rata         | Putih keruh |
| RBPas1 $10^{-6}$ 2 | Tidak Teratur | Cembung | Bergelombang | Putih       |
| RBPas1 $10^{-6}$ 3 | Tidak Teratur | Cembung | Rata         | Kream       |
| RBPas1 $10^{-6}$ 4 | Bulat         | Cembung | Rata         | Kuning      |
| RBPas1 $10^{-7}$ 1 | Bulat         | Cembung | Rata         | Putih       |
| RBPas1 $10^{-7}$ 2 | Tidak Teratur | Datar   | Rata         | Putih keruh |
| RBPas1 $10^{-7}$ 3 | Bulat         | Raised  | Rata         | Putih keruh |
| RBPas2 $10^{-5}$ 1 | Tidak Teratur | Raised  | Bergelombang | Putih       |
| RBPas2 $10^{-5}$ 2 | Bulat         | Datar   | Bergerigi    | Putih       |
| RBPas2 $10^{-5}$ 3 | Bulat         | Raised  | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-5}$ 4 | Tidak Teratur | Datar   | Bergelombang | Putih       |
| RBPas2 $10^{-5}$ 5 | Bulat         | Datar   | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-5}$ 6 | Bulat         | Datar   | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-6}$ 1 | Bulat         | Raised  | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-6}$ 2 | Bulat         | Raised  | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-6}$ 3 | Bulat         | Raised  | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-6}$ 4 | Bulat         | Cembung | Rata         | Kuning      |
| RBPas2 $10^{-7}$ 1 | Bulat         | Cembung | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-7}$ 2 | Tidak Teratur | Datar   | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-7}$ 3 | Bulat         | Cembung | Rata         | Krem        |
| RBPas2 $10^{-7}$ 4 | Bulat         | Cembung | Rata         | Putih       |
| RBPas2 $10^{-7}$ 5 | Tidak Teratur | Datar   | Bergelombang | Putih       |

Tabel 2. Seleksi Rizobakteri Antagonis dari sekitar perakaran tanaman jagung sehat di Pasaman Barat

| Isolat                               | Reaksi Hipersensitif | Produksi Enzim Pektinase | Daya Hambat | Hemolisin |
|--------------------------------------|----------------------|--------------------------|-------------|-----------|
|                                      |                      |                          | Awal        |           |
| RBPas1 $10^{-5}$ 1                   | -                    | -                        | -           | Td        |
| RBPas1 $10^{-5}$ 2                   | -                    | +                        | Td          | Td        |
| RBPas1 $10^{-5}$ 3                   | -                    | -                        | -           | Td        |
| RBPas1 $10^{-5}$ 4                   | -                    | +                        | Td          | Td        |
| <b>RBPas1 <math>10^{-6}</math> 1</b> | -                    | -                        | +           | -         |
| RBPas1 $10^{-6}$ 2                   | -                    | -                        | -           | Td        |
| RBPas1 $10^{-6}$ 3                   | -                    | +                        | Td          | Td        |
| RBPas1 $10^{-6}$ 4                   | -                    | -                        | -           | Td        |
| RBPas1 $10^{-7}$ 1                   | -                    | -                        | -           | Td        |
| RBPas1 $10^{-7}$ 2                   | -                    | -                        | -           | Td        |
| RBPas1 $10^{-7}$ 3                   | -                    | +                        | Td          | Td        |

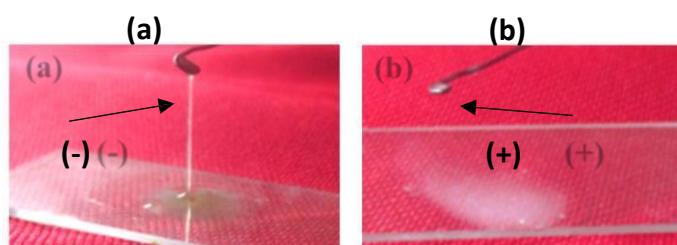
|                                      |   |   |    |    |
|--------------------------------------|---|---|----|----|
| RBPas2 $10^{-5}$ 1                   | - | - | -  | Td |
| <b>RBPas2 <math>10^{-5}</math> 2</b> | - | - | +  | -  |
| RBPas2 $10^{-5}$ 3                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-5}$ 4                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-5}$ 5                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-5}$ 6                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-6}$ 1                   | - | + | Td | Td |
| RBPas2 $10^{-6}$ 2                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-6}$ 3                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-6}$ 4                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-7}$ 1                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-7}$ 2                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-7}$ 3                   | - | + | Td | Td |
| RBPas2 $10^{-7}$ 4                   | - | - | -  | Td |
| RBPas2 $10^{-7}$ 5                   | - | - | -  | Td |

Keterangan: Td = Tidak diuji

Tabel 3. Daya hambat isolat rizobakteri terhadap jamur *Fusarium verticillioides*

| Isolat             | Rata-rata daya hambat isolat (%) |   |
|--------------------|----------------------------------|---|
| RBPas1 $10^{-6}$ 1 | 46,16                            | a |
| RBPas2 $10^{-5}$ 2 | 31,30                            | b |
| Kontrol            | 0,00                             | c |
| KK = 22,05%        |                                  |   |

Angka pada lajur yang sama diikuti huruf kecil yang sama adalah berbeda nyata menurut uji lanjut LSD taraf 5%.

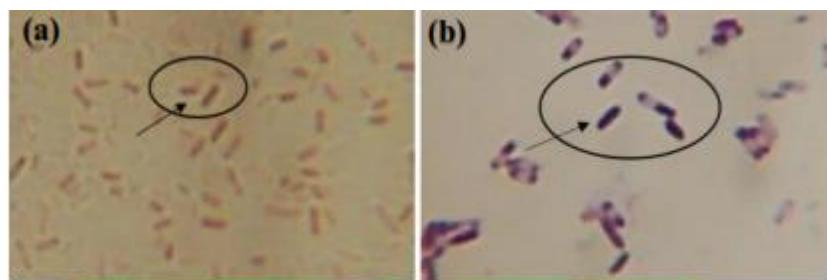


Gambar 8. Sifat Gram bakteri dengan pengujian Gram KOH 3%: (a) Isolat RBPas1  $10^{-6}$  1 yang merupakan bakteri Gram negatif (-) ditandai dengan terbentuknya lendir. (b) Isolat RBPas2  $10^{-5}$  2 yang merupakan bakteri Gram positif (+) ditandai dengan tidak terbentuknya lendir.

#### Pewarnaan gram

Pewarnaan Gram terhadap 2 isolat rizobakteri menunjukkan isolat RBPas1  $10^{-6}$  1 adalah bakteri bersifat Gram negatif yang ditandai dengan sel bakteri terwarnai kemerahan serta sel berbentuk batang,

sedangkan isolat RBPas2  $10^{-5}$  2 adalah bakteri bersifat Gram positif yang ditandai dengan sel bakteri terwarnai keunguan serta sel berbentuk batang. Uji pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 9.

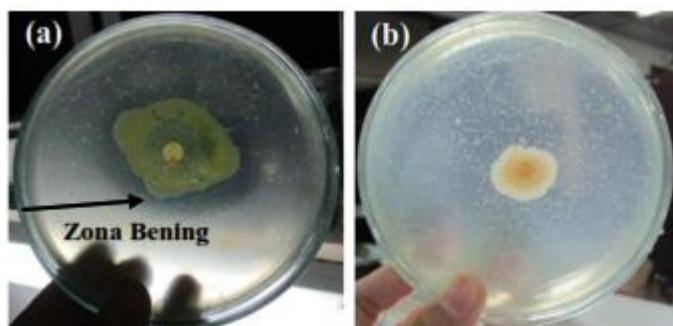


Gambar 9. Bentuk sel bakteri di bawah mikroskop pada perbesaran 1000x: (a). isolat RBPas 1  $10^{-6}$ 1 (b). isolat RBPas 2  $10^{-5}$ 2.

#### Produksi enzim kitinase

Pengujian terhadap 2 isolat rizobakteri menunjukkan bahwa isolat RBPas1  $10^{-6}$ 1 adalah rizobakteri yang memproduksi enzim kitinase yaitu ditandai dengan terbentuknya zona bening di

sekitar koloni isolat, sedangkan isolat RBPas2  $10^{-5}$ 2 adalah rizobakteri yang tidak memproduksi enzim kitinase yaitu ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar koloni isolat (Gambar 10).



Gambar 10. Uji kitinolitik dengan media agar kitin: (a). isolat RBPas1  $10^{-5}$  1 yang membentuk zona bening pada uji kitinolitik (b). isolat RBPas2  $10^{-6}$ 2 yang tidak membentuk zona bening pada uji kitinolitik.

#### PEMBAHASAN

Hasil uji daya hambat awal 20 isolat rizobakteri, didapatkan hanya 2 isolat yang memiliki kemampuan dalam menghambat *F. verticillioides* yaitu isolat RBPas1  $10^{-6}$ 1 dan isolat RBPas2  $10^{-5}$ 2. Kemampuan kedua isolat dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan jamur *F. verticillioides* secara in vitro diduga terjadi melalui mekanisme antagonis yaitu antibiosis, produksi enzim lisis seperti kitinase, produksi senyawa siderofor dan persaingan nutrisi. Zhang (2004) menjelaskan bahwa kemampuan antagonisme antara rizobakteri dengan jamur patogen dapat terjadi melalui mekanisme antibiosis, kompetisi, parasitis-me, produksi enzim ekstraseluler, dan induksi resistensi.

Uji hemolitik pada kedua isolat menunjukkan respon negatif yang ditandai dengan tidak timbulnya zona bening di sekitar pertumbuhan koloni pada media agar darah. Hal ini diduga bahwa isolat RBPas1  $10^{-6}$ 1 dan RBPas2  $10^{-5}$ 2 berkemungkinan bukan bakteri patogen terhadap manusia dan hewan. Lopez et al. (2016), Pradana et al. (2016), dan Radhapriya et al. (2015) menjelaskan bakteri yang membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri adalah bakteri yang menghasilkan toksin  $\beta$ -hemolis dan toksin  $\alpha$ -hemolis yang berpotensi membahayakan kesehatan manusia dan hewan, sehingga tidak digunakan sebagai agens hayati pengendali penyakit tanaman. Beberapa penelitian juga melakukan uji hemolitik yang digunakan sebagai pendekripsi bakteri penghasil

biosurfaktan yaitu zat yang dihasilkan bakteri yang bersifat mengurangi tegangan permukaan (Thavasi et al., 2008; Mohammadipour et al., 2009). Tabatabae et al. (2005) menambahkan, terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media agar darah menunjukkan adanya aktifitas dari hemolisin dan biosurfaktan yang bersama-sama dalam meliskan eritrosit.

Dari hasil pengujian daya hambat isolat terpilih, isolat RBPas1  $10^{-6}$  memiliki rata-rata daya hambat yang lebih besar (46,16%) dibandingkan isolat RBPas2  $10^{-5}$  (31,30%). Adanya perbedaan daya hambat oleh kedua isolat diduga karena isolat tersebut memiliki kemampuan yang berbeda pula dalam mensekresi senyawa metabolit sekunder yang bersifat anti jamur. Perbedaan daya hambat tersebut diduga karena isolat RBPas1  $10^{-6}$  memperlihatkan adanya produksi enzim kitinase, senyawa siderofor dan fluores-cent, sedangkan isolat RBPas2  $10^{-5}$  tidak memproduksinya. Syamsuddin dan Ulim (2013) dan Soesanto (2013) menjelaskan perbedaan efektivitas daya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan koloni patogen berhubungan dengan kemampuan isolat dalam mensekresikan senyawa metabolit sekunder yang bersifat anti mikroba, seperti antibiotik, sintesis berbagai enzim degradasi dinding sel seperti kitinase, selulase, lipase, protease, toksin serta produksi siderofor.

Enzim kitinase adalah enzim yang bertindak sebagai pengurai kitin, dimana kitin merupakan senyawa utama penyusun dinding sel jamur (Soesanto, 2013). Penelitian Ferniah et al. (2008) memperlihatkan bahwa bakteri kitinolitik adalah bakteri yang menghasilkan enzim kitinase, menghambat dan mengganggu proses pertumbuhan jamur *F. oxysporum*. Hal ini disebabkan karena bakteri kitinolitik memanfaatkan kitin pada dinding sel jamur untuk didegradasi, dan

hasil degradasinya digunakan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri, oleh sebab itu pertumbuhan jamur terhambat karena miselium tidak dapat terbentuk dengan baik.

Siderofor adalah senyawa pengikat Fe dalam kondisi lingkungan kekurangan Fe yang disekresikan oleh mikroorganisme salah satunya *plant growth promoting rhizobacteria* (Glick dan Pasternak 2003; Dwivedi dan Johri, 2003). Unsur Fe memiliki fungsi penting dalam respirasi, sintesis DNA, fotosintesis, dan fiksasi nitrogen (Datnof et al., 2007 dalam Parida, 2012). Beberapa bakteri penghasil siderofor yang telah digunakan dalam bidang pertanian diantaranya *Pseudomonas aeruginosa* (Budzikiewicz 2001; Wahyuni et al., 2010), *Pseudomonas fluorescens*, (Budzikiewicz, 2001; Rachid dan Ahmed, 2005; Soesanto, 2013), *Pseudomonas putida* (Budzikiewicz 2001; Wahyuni et al., 2003) dan *Bacillus* sp. (Wahyudi et al. 2011b).

Menurut Mayer (2000), siderofor diketahui efektif menekan pertumbuhan penyakit *F. oxysporum*. Hal ini karena Fe yang dibutuhkan *F. oxysporum* untuk berkecambah tidak tersedia akibat dikelat oleh siderofor (Budzikiewicz 2001). Senyawa siderofor juga berkaitan dengan dihasilkannya fluorescent. Glick dan Pasternak (2003) menjelaskan semua produk fluorescent dari *Pseudomonas* secara stuktural berkaitan dengan siderofor yang berbeda, terutama dalam jumlah dan konfigurasi dari asam amino dan rantai peptida yang membentuk ikatan utama. Soesanto (2013) menambahkan, *P. fluorescens* menghasilkan siderofor berpendar berwarna kuning kehijauan dan berguna bagi tanaman karena sebagian bertanggung jawab terhadap peningkatan pertumbuhan tanaman.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh 2 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium verticillioides*, yaitu isolat RBPas1  $10^{-6}$  1 memiliki daya hambat 46,16% dan isolat RBPas2  $10^{-5}$  2 memiliki daya hambat 31,30%. Isolat RBPas1  $10^{-6}$  1 adalah bakteri bersifat Gram negatif dengan sel berbentuk batang, memproduksi enzim kitinase, senyawa siderofor dan fluorescent sedangkan isolat RBPas2  $10^{-5}$  2 adalah bakteri bersifat Gram positif dengan sel berbentuk batang, tidak memproduksi enzim kitinase, senyawa siderofor dan fluorescent.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z, L Aini, dan AL Abadi. 2015. Pengaruh bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap pertumbuhan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. penyebab penyakit rebah semai pada tanaman kedelai. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan 3(1):1-10.
- Addy HS. 2008. Aktivitas *Pseudomonas Pendar Fluor* dalam mengendalikan penyebab penyakit patik (*Cercospora nicotianae*) pada tembakau. Universitas Jember. Jurnal Pengendalian hayati 1(2): 98-103.
- Budzikiewicz H. 2001. Siderophore-antibiotic conjugates used as trojan horses against *Pseudomonas aeruginosa*. Current Topics in Medicinal Chemistry 1(1): 73-82.
- Dwivedi D dan BN Johri. 2003. Antifungals from *Fluorescent Pseudomonads*: biosynthesis and regulation. Current Science 85(12): 1693-1703. Expt Bot 52:487-511.
- Ferniah RS, S Pujiyanto, S Purwantisari dan Sapriyadi. 2008. Interaksi kapang pathogen *Fusarium oxysporum* dengan bakteri kitinolitik rizosfir tanaman jahe dan pisang. Jurnal Natur Indonesia 14(1):56-60.
- Glick BR dan JJ Pasternak. 2003. Molecular biotechnology. ASM Press. Washington DC.
- Gonsalves AK dan SA Fereira. 1994. *Fusarium Primer*, [http://www.Extento.hawaii.Edu/kbase/crop/Type/fusarium\\_primer.htm](http://www.Extento.hawaii.Edu/kbase/crop/Type/fusarium_primer.htm).
- Husen E. 2003. Screening of soil bacteria plant growth promotion activities in vitro. Indonesian Jurnal of Agriculture Science 4(1): 27-31.
- Lopez AMF, JDC Ramirez, JCM Alvarez, ML Mayer, GJL Sanchez, RF Gastelum, CC Martines dan IEM Mendoza. 2016. Rizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. Springer Plus 5(330): 1-12.
- Mahartha KA, K Khalimi dan GNAS Wirya. 2013. Uji efektivitas rizobakteri sebagai agen antagonis terhadap *Fusarium oxysporum f.sp.capsici* penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). Agro-ekoteknologi Tropika 2(3): 145-154.
- Maryam R, Verarytha, S Djuariah dan Sulastri. 2007. Produksi fuminosin oleh *Fusarium verticillioides* dan *Fusarium nygamai* pada media jagung. Jurnal Mikologi Kedokteran Indonesia 7(1-2): 3-8.
- Mayer JM. 2000. Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent pseudomonasspecie. Archiver of microbiology 174(3): 135-142.
- Mohammadipour M, M Mousivand, GS Jouzani dan S Abbasalizadeh. 2009. Molecular and biochemical characterization iranian surfactin-producing bacillus isolates and evaluation of their biocontrol potential against *Aspergillus flavus* and *C. gloeosporioides*. Canadian

- Journal of Microbiology 55: 395-404.
- Nawangsih AA. 2006. Seleksi dan karakterisasi bakteri biokontrol untuk mengendalikan penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tomat. Desertasi. Institut Pertanian. Bogor.
- Oren L, S Ezrati, D Cohen dan A Sharon. 2003. Early event in the *Fusarium verticillioides*-Maize interaction characterized by using a green fluorescent protein-expressing transgenic isolate. Applied and Environment Microbiology 69(3): 1693-1701.
- Parida I. 2012. Seleksi dan karakterisasi bakteri penghasil siderofor sebagai agens antagonis *Ralstonia solanacearum* pada tomat. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pradana AP, A Munif dan Supramana. 2016. Bakteri endofit asal berbagai akar tanaman sebagai agens pengendali nematoda puru akar *Meloidogyne incognita* pada tomat. Jurnal Fitopatologi Indonesia 12(3): 75-82.
- Pratita MYE dan SR Putra. 2012. Isolasi dan identifikasi bakteri termofilik dari sumber mata air panas di songgoriti setelah dua hari inkubasi. Jurnal Teknik Pomits 1(1): 1-5.
- Rachid D dan B Ahmed. 2005. Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*. African Journal of Biotechnology 4(7):697-702.
- Radhapriya P, A Ramachandran, R Anandam dan S Mahalingam. 2015. *Pseudomonas aeruginosa* RRALC3 enhances the biomass, nutrient and carbon contents of *Pongamia pinnata* seedling in degraded forest soil. Plos One 10(10): 1-19.
- Rahma H, Martinus, T Maryono dan R Wulandari. 2014. Deteksi cepat patogen terbawa benih jagung dengan teknik PCR dalam sistem sertifikasi benih. Laporan Hasil Kegiatan. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Universitas Andalas.
- Rosadiah FN, Ilyas S dan Manohara D. 2015. Perlakuan benih cabai (*Capsicum annuum* L.) dengan rizobakteri secara tunggal atau kombinasi dapat mengendalikan *Phytophthora capsici* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. J. Hort. Indonesia 6(1): 1-10.
- Sallytha AAM, HS Addy dan PA Mihardjo. 2014. Penghambatan actinomycetes terhadap *Erwinia carotovora* sub.sp. carotovora secara in vitro. Berkala Ilmiah Pertanian 1(4): 70-72.
- Schaad NW, JB Jones dan W Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society Press. USA.
- Semangun H. 1990. Penyakit-penyakit tanaman pangan di Indonesia. Gajah Mada Univiversity Press. Yogyakarta.
- Shurtleff MC. 1986. Compendium of corn disease. The American Phytopathological Society Press. USA.
- Singh PP, YC Shin, CS Park dan YR Chung. 1999. Biological control of fusarium wilt of cucumber by chitinolitic bacteria. Phytopathology 89: 92-99.
- Soesanto L. 2013. Pengantar pengendalian hayati penyakit tanaman edisi kedua. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Sutariati GAK dan A Wahab. 2010. Isolasi dan uji kemampuan rizobakteri indigenus sebagai agensi pengendali hayati penyakit pada

- tanaman cabai. Jurnal Hortikultura 20(1): 86-95.
- Syamsuddin dan MA Ulim. 2013. Daya hambat rizhobakteri kandidat agens biokontrol terhadap pertumbuhan koloni patogen *Phytophtora capsici* secara in vitro. Jurnal Floratek 8: 64-72.
- Tabatabaee A, MM Assadi, AA Noohi dan VA Sajadian. 2005. Isolation of biosurfactan producing bacteria from oil reservoirs. Iranian Journal of Environment, Health, Science and Engineering 2(1): 6-12.
- Thavasi R, S Jayalakshmi, T Balasubramanian, Ibrahim dan M Banat. 2008. Production and characterization of a glycolipid biosurfactant from *Bacillus megaterium* using economically cheaper sources. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 917–925.
- Wahyudi AT, S Meliah dan AA Nawangsih. 2011. *Xantomonas oryzae* pv *oryzae* bakteri penyebab hawar daun pada padi: Isolasi, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. Makara Sains 15(1): 89-96.
- Wahyuni WS, A Mudjiharjati dan N Sulistyaningsih. 2010. Compost extracts of vegetable wastes biopesticide to control cucumber mosaic virus. Jurnal of Biosciences Hayati 17(2): 95-100.
- Wahyuni WS, Yutrionoj dan S Winarso. 2003. Pengaruh konsentrasi besi dalam media tanam pada aktivitas *Pseudomonas putida* pf-20 untuk menginduksi ketahanan tembakau terhadap cucumber mozaik virus. Jurnal Pengendalian Hayati 10(4): 130-133.
- Zhang Y. 2004. Biocontrol of sclerotinia stem rot of canola by bacterial antagonists and study of biocontrol mechanisms involved. Thesis. University of Manitoba. Canada.