

Potensi *Streptomyces* sp. dalam menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum acutatum* pada cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) secara *in vitro*

Potential of *Streptomyces* sp. in preventing the *in vitro* growth of *Colletotrichum acutatum*, the causative agent of infection in *Capsicum annum* L.

Rochmalia Juniarti Putri, Retno Kawuri, A. A Ketut Darmadi, Inna Narayani

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali, Indonesia - 80361

*Email:prochmalia@gmail.com

Diterima 24 Maret 2021 Disetujui 19 November 2021

INTISARI

Tanaman cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) ialah salah satu tanaman sayuran yang sangat banyak diminati oleh masyarakat Indonesia. Salah satu faktor yang menyebabkan penurunan produktifitas cabai oleh serangan patogen adalah *Colletotrichum acutatum* yang merupakan salah satu jamur penyebab penyakit antraknosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Streptomyces* sp. di rizosfer tanaman cabai besar, kemampuan isolat *Streptomyces* sp. dalam menghambat *C. acutatum*, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dari filtrat isolat *Streptomyces* sp. dalam menghambat *C. acutatum*. Isolasi *Streptomyces* dilakukan dengan metode pengenceran dan menggunakan media selektif yaitu Yeast Malt Agar. Uji daya hambat menggunakan metode *Dual Culture* antara *Streptomyces* sp. dengan *C. acutatum* secara *in vitro*. Uji efektivitas konsentrasi filtrat *Streptomyces* sp. dan MIC dalam menghambat *C. acutatum*, menggunakan metode sumur difusi. Data yang didapatkan dalam penelitian dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA). Ditemukan 5 isolat *Streptomyces* yaitu *Streptomyces* sp.1, *Streptomyces* sp.2, *Streptomyces* sp.3, *Streptomyces* sp.4, dan *Streptomyces* sp.5 pada rizosfer tanaman *C. annum* L. sehat di Desa Daup, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli. Isolat *Streptomyces* sp. secara nyata dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. acuatatum* dengan daya hambat berkisar 50,30% sampai dengan 83,76%, Isolat *Streptomyces* sp.5 mampu memberikan persentase hambatan paling tinggi pada *C. acutatum* sebesar $83,76 \pm 2,91\%$ dengan MIC 7% (v/v) dengan diameter sebesar 6,40 mm.

Kata kunci: cabai merah, *Colletotrichum acutatum*, filtrat, MIC, *Streptomyces* sp.

ABSTRACT

Red chilli plant (*Capsicum annum* L.) is one of the most popular vegetable crops in Indonesian society. One of them the pathogens attacks is *Colletotrichum acutatum*, a fungus causing anthracnose on red chilli. This study aims to determine the existence of *Streptomyces* sp. bacteria in the rhizosphere of the red chilli plant; the ability of *Streptomyces* sp. in inhibiting *C. acutatum*; Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Streptomyces* isolates extracts in inhibiting *C. acutatum*; The *Streptomyces* isolation was carried out by dilution method using selective meida, namely Yeast Malt Agar. The *Dual Culture* method was used as an inhibition test between *Streptomyces* sp. and *C. acutatum* *in vitro*. A well diffusion method was used to test the effectiveness of the *Streptomyces* sp. and MIC filtrate concentration in inhibiting *C. acutatum*. The data obtained in this study were analyzed with *Analysis of Variance* (ANOVA) then continued with Duncan

Multiple Range Test with 5% significance. Five *Streptomyces* isolates were found, namely *Streptomyces* sp.1, *Streptomyces* sp.2, *Streptomyces* sp.3, *Streptomyces* sp.4, and *Streptomyces* sp.5 in the rhizosphere of healthy *C. annum* L. plants in Daup Village, Kintamani District, Bangli Regency. *Streptomyces* sp. isolates. can significantly inhibit the growth of the fungus *C. acutatum* with inhibitory power ranging from 50.30% to 83.76%, *Streptomyces* sp.5 isolate was able to provide the highest percentage of inhibition in *C. acutatum* of $83.76 \pm 2.91\%$ with MIC 7% (v/v) with a diameter of 6.40 mm.

Keywords: *Colletotrichum acutatum*, filtrate, MIC, *Streptomyces* sp.

PENDAHULUAN

Indonesia berupaya untuk membudidayakan tanaman yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomis tinggi adalah cabai. Kebutuhan cabai akan terus meningkat setiap tahun sejalan dengan meningkatnya jumlah penduduk dan berkembangnya industri pangan maupun bidang farmasi (Tsurayya & Kartika, 2015). Namun, kegagalan yang dialami oleh tanaman cabai merah besar diakibatkan oleh beberapa faktor seperti hama dan penyakit dan patogen yang sering ditemukan yaitu merupakan patogen tular tanah. Salah satu patogen tular tanah yang menyebabkan penyakit antraknosa pada tanaman cabai merah besar yaitu disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum acutatum* yang sangat merugikan dan mengakibatkan cabai merah besar yang telah terserang tidak dapat dipasarkan akibat adanya bercak dan busuk (Sumardiyono et al., 2011).

Salah satu cara menangani permasalahan penyakit antraknosa adalah melalui pengendalian hayati patogen tanaman. Pengendalian hayati patogen tanaman sebagai upaya mengurangi kepadatan patogen yang disebabkan penyakit atau aktifitas patogen yang dapat menyebabkan penyakit tanaman. Pengendalian hayati melibatkan satu atau beberapa mikroorganisme antagonis (Muthahanas & Listiana, 2017). Bakteri *Streptomyces* sp. sering dipergunakan sebagai agen anti jamur karena memiliki metabolit primer maupun sekunder yang dapat membunuh jamur patogen (Sari et al., 2012). Khamna et al. (2009) melaporkan bahwa sifat antijamur ekstrak kasar *S. spectabilis* CMU-PA101 yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Alternaria porri* dan *Colletotrichum*

gloeosporioides yaitu dengan berubahnya bentuk morfologi dan hancurnya miselium. Manivasagan et al. (2015) menyatakan bahwa pada saat ini diperkirakan lebih dari 50% dari 11.900 jenis antibiotik yang sudah dikenal, diproduksi oleh galur dari *Streptomyces*.

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Streptomyces* sp. di rizosfer tanaman cabai besar serta kemampuan isolat *Streptomyces* sp. dalam menghambat *C. acutatum* pada cabai penyebab penyakit antraknosa.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Waktu penelitian dilakukan dari 30 Desember 2019 hingga 28 Desember 2020. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi FMIPA UNUD. Proses pengambilan sampel untuk mengisolasi bakteri *Streptomyces* yang berada pada rizosfer tanaman cabai merah besar di Desa Daup, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Bali pada lahan perkebunan tanaman cabai. Isolat *C. acutatum* yang didapatkan berasal dari koleksi di Laboratorium Biokimia Program Studi Biologi FMIPA UNUD.

Persiapan sampel

Sampel tanah diambil dari rizosfer jenis tanaman cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dengan kedalaman ± 15 cm sebanyak 100 g kemudian dimasukkan kedalam kantong plastic klip dan diberi label. Sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi FMIPA UNUD untuk diteliti.

Isolasi dan Identifikasi bakteri *Streptomyces*

Tanah ditimbang secara aseptik sebanyak 10 g dan dimasukkan kedalam botol kaca dan diberi air steril hingga 100 mL, kemudian larutan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-5} dan diambil 1 mL kemudian dituang pada Petri dish yang telah berisi media *Yeast Malt Agar/International Streptomyces Project (ISP4)*. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 28°C selama 5 hari. Koloni yang tumbuh yang diduga sebagai *Streptomyces* berikutnya diuji dengan pewarnaan Gram untuk melihat apakah biakan mempunyai sifat Gram + atau -. Dilanjutkan observasi mikroskopik untuk melihat spora dan hifa. Pewarnaan tahan asam untuk membedakan kultur tersebut *Streptomyces* ataupun *Nocardia*, serta dilanjutkan uji katalase. Kultur murni berikutnya diidentifikasi dengan kunci determinasi dari buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994) berdasarkan struktur hifa serta konidia.

Re-isolasi jamur *C. acutatum*

Kultur murni *C. acutatum* merupakan koleksi dari Laboratorium Biokimia Prodi Biologi UNUD. Oleh sebab itu perlu dilakukan konfirmasi untuk memastikan kembali bahwa isolat tersebut adalah *C. acutatum*. Jamur *C. acutatum* diambil menggunakan jarum ose dan ditanam pada media PDA selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 5 hari. Koloni yang tumbuh diamati secara mikroskopis dan makroskopis dan dicocokkan dengan ciri-ciri *C. acutatum* memiliki konidia berbentuk bulat silinder, hifa bersekat dan hifa bercabang pada buku Fungal Biodiversity (Crous et al., 2009).

Uji daya hambat isolat *Streptomyces* sp. terhadap jamur *Colletotrichum acutatum* secara *in vitro*

Koloni *Streptomyces* sp. dan *C. acutatum* dipotong menggunakan *cork borer* yang berukuran 5 mm. Kedua koloni tersebut diletakkan berhadapan dengan jarak 1 cm pada cawan Petri yang telah berisi media PDA dan

diinkubasi pada suhu 28°C (Montoc, 2011). Perlakuan dari masing-masing *Streptomyces* diulangi sebanyak empat kali. Perlakuan pada kontrol yaitu hanya menanam *C. acutatum*. Seluruh cawan Petri diinkubasi pada temperatur 28°C selama 5 hari. Persentase zona hambat yang terbentuk dihitung menggunakan metode Whipps (1987), yaitu:

$$\text{Daya hambat} = \frac{\text{Diameter koloni kontrol} - \text{diameter koloni perlakuan}}{\text{Diameter koloni kontrol}} \times 100\%$$

Streptomyces terbaik dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. acutatum* dari uji *Dual Culture* digunakan untuk uji selanjutnya.

Pembuatan filtrat *Streptomyces* sp.

Koloni *Streptomyces* sp. usia 5 hari dipotong menggunakan *cork borer* berukuran 5 mm kemudian dimasukkan 5 potongan koloni pada media *Yeast Malt Broth* sebanyak 100 mL pada Erlenmeyer. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C dan di homogenkan menggunakan *shaker* berbalasan dengan kecepatan 100 rpm selama 14 hari. Sel bakteri dipanen pada hari ke 14 dan dipisahkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan, kemudian disaring dengan filter ukuran $0,45 \mu\text{m}$ (Ramazani et al., 2013). Filtrat yang diperoleh kemudian dipartisi dengan memasukkan 100 mL filtrat ke dalam labu pemisah dan ditambahkan 100 mL pelarut n-butanol dengan perbandingan 1:1 (v/v). Kedua larutan dihomogenkan dan didiamkan selama 24 jam sampai fase air dan fase n-butanol terpisah. Fase n-butanol dievaporasi dengan mesin *rotary evaporator* dengan suhu 40°C hingga didapatkan sebanyak ± 5 mL filtrat yang dianggap sebagai konsentrasi 100% (Kawuri et al., 2018). Filtrat yang didapat adalah filtrat kasar dari *Streptomyces* sp.5 dan hasil tersebut selanjutnya diuji secara *in vitro* terhadap *C. acutatum* dengan metode sumur difusi.

Uji aktifitas filtrat *Streptomyces* sp.5 terhadap *Colletotrichum acutatum*

Uji aktifitas filtrat dilakukan dengan menumbuhkan *C. acutatum* selama 4 hari pada media PDA. Koloni *C. acutatum* diberikan air

steril sebanyak 5 mL kemudian dikeruk menggunakan ose, kemudian disaring menggunakan kertas saring 0,5 μm sehingga didapatkan suspensi spora. Suspensi spora dihitung menggunakan *haemocytometer* sehingga diperoleh kerapatan 1×10^6 spora/mL. Suspensi spora 200 μL dituang ke dalam cawan Petri dan ditambahkan media PDA dengan suhu 45°C, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Pada bagian tengah media dibuat sumur difusi dengan menggunakan *cork borer* berukuran 5 mm. *Streptomyces* sp.5 dimasukkan sebanyak 20 μL kedalam sumur difusi, diinkubasi selama 5 hari pada suhu 28°C. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan metode sumur difusi dengan beberapa persentase filtrat (v/v) yaitu 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%. Pengujian *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dimulai dari persentase filtrat 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5% dan n-butanol sebagai kontrol negatif serta fungisida sintetik Amistar yang biasanya digunakan sebagai anti jamur sebanyak 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebagai kontrol positif. Masing – masing perlakuan diulang 3 kali ulangan dan diinkubasi pada suhu 28°C. Setelah inkubasi, diamati dan diukur diameter zona hambat yang dihasilkan oleh filtrat *Streptomyces* sp.5.

Rancangan Penelitian

Uji efektivitas filtrat *Streptomyces* sp. dengan *C. acutatum* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 17 perlakuan meliputi konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, dan n-butanol sebagai kontrol negatif serta Fungisida sintetik Amistar sebagai kontrol positif dan 3 ulangan sehingga diperoleh total sampel sebanyak 51 sampel.

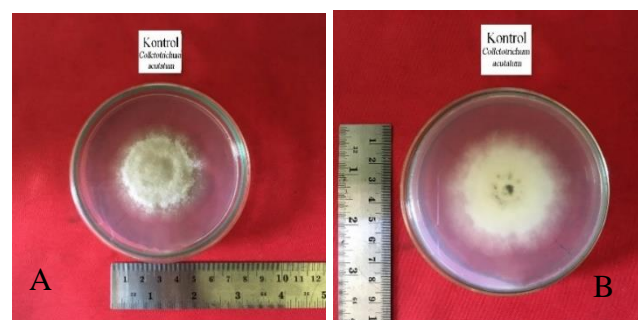
Analisis Data

Data dianalisis secara secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dilakukan dengan mendeskripsikan hasil pengamatan karakteristik makroskopis, mikroskopis, daya hambat dengan uji *dual culture* isolat *Streptomyces* sp. Secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung zona

hambat yang terbentuk dari uji MIC filtrat *Streptomyces* sp.5 terhadap *C. acutatum* dengan ANOVA menggunakan *software* SPSS for windows versi 26. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* dengan taraf signifikan 5% ($P \leq 0,05$) karena hasil ANOVA menunjukkan hasil berbeda nyata.

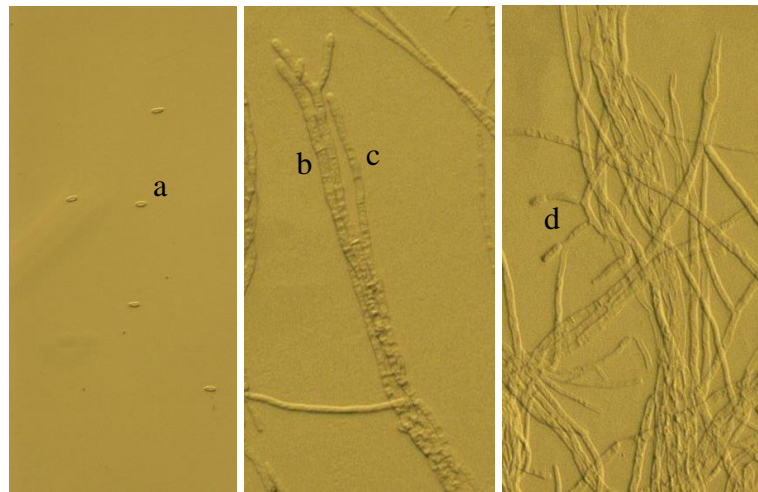
HASIL

Hasil pengamatan makroskopik jamur *C. acutatum* menunjukkan ciri – ciri yaitu memiliki diameter 63 mm pada media PDA pada hari ke-7. Koloni pada permukaan atas berwarna putih dengan pusat koloni berwarna keabuan tekstur halus seperti kapas (Gambar 1). Jamur ini terkonfirmasi sebagai penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai merah besar setelah dilakukan uji *Postulat Koch* pada buah cabai merah besar.



Gambar 1. Morfologi makroskopik jamur *C. acutatum* dalam media Potato Dextrosa Agar masa inkubasi selama 7 hari, tampak atas (A) dan tampak bawah (B).

Pengamatan ciri mikroskopis jamur seperti ukuran, bentuk, septa diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Jamur *C. acutatum* memiliki makrokonidia berbentuk bulat silinder dengan panjangnya antara 9 - 10 x 2 - 3 μm sedangkan mikrokonidia berbentuk ovoid tidak berseptata, hifa berseptat dan bercabang. Karakteristik tersebut dibandingkan dengan buku Fungal Biodiversity (Crous et al., 2009) yang menyatakan bahwa makrokonidia berbentuk bulat silinder dengan ukuran 9 – 12 x 3,4 μm , mikrokonidia berbentuk ovoid dan tidak berseptata. Bentuk mikroskopik jamur *C. acutatum* dapat dilihat pada (Gambar 2).



Gambar 2. Morfologi Mikroskopis Jamur *C. acutatum* dengan Mikroskop Cahaya Perbesaran 100x

Keterangan: a. spora, b. konidiofor, c. hifa bersepta d. hifa bercabang

Hasil isolasi *Streptomyces* pada rizosfer tanaman cabai merah besar sehat yang diperoleh berlokasi di Desa Daup, Kintamani, Bali dan dapat dikarakterisasi 5 isolat *Streptomyces* sp. yang memiliki perbedaan karakteristik makroskopis. Karakteristik dari masing-masing isolat adalah sebagai berikut:

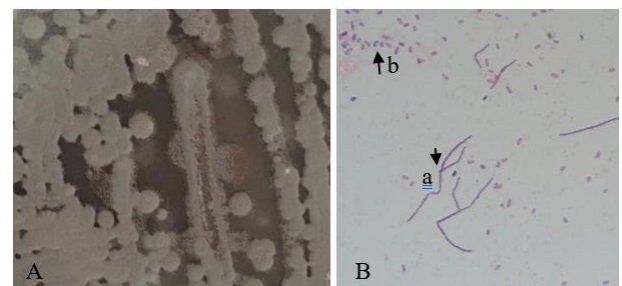
1. *Streptomyces* sp.1

Koloni berbentuk bulat tidak beraturan dan berukuran kecil. Koloni melekat erat pada media, berwarna abu-abu dengan tepi koloni bergelombang dengan permukaan yang berlekuk dan teksturnya bertepung. Koloni mampu merubah warna media YMA dari merah menjadi tidak berwarna. Pengamatan secara mikroskopis konidia berbentuk oval, terdapat konidia yang tersusun berantai pada ujung hifa dengan diameter konidia 0,42 – 0,48 μm . Hifa bergelombang tidak bersepta dengan diameter hifa mencapai 0,63 – 0,78 μm dan isolat ini termasuk Gram positif (Gambar 3).

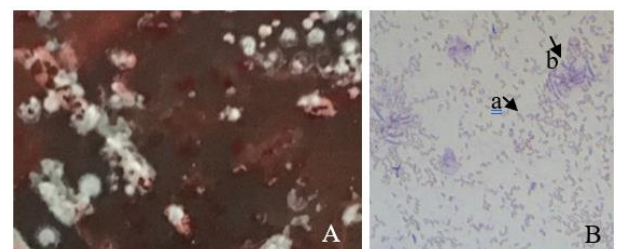
2. *Streptomyces* sp.2

Koloni berwarna putih pada bagian tengah sedangkan pada bagian tepi koloni berwarna hijau, berukuran kecil. Koloni berbentuk bulat tidak beraturan serta bergerombol dengan permukaan yang cembung. Tepi koloni bergelombang serta dapat merubah warna media menjadi tidak berwarna. Pengamatan secara

mikroskopis memiliki konidia berbentuk oval, terdapat konidia yang tersusun berantai pada ujung hifa dengan diameter konidia 0,47 – 0,52 μm . Hifa bergelombang tidak bersepta dengan diameter hifa mencapai 0,64 – 0,75 μm dan isolat ini termasuk Gram positif (Gambar 4).



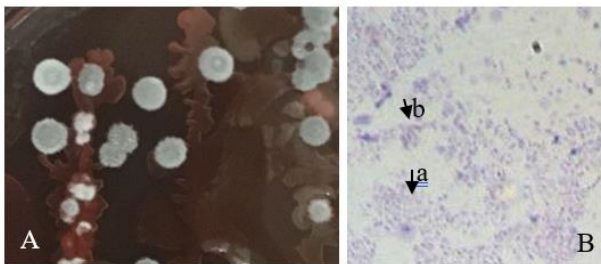
Gambar 3. Bakteri *Streptomyces* sp.1 (A) Koloni pada media YMA dengan usia kultur 7 hari, (B) gambar mikroskopis *Streptomyces* sp.1 dengan Mikroskop Cahaya pada perbesaran 1000x (a) hifa (b) konidia.



Gambar 4. Bakteri *Streptomyces* sp.2 (A) Koloni pada media YMA dengan usia kultur 7 hari, (B) gambar mikroskopis *Streptomyces* sp.2 dengan Mikroskop Cahaya pada perbesaran 1000x (a) konidia (b) hifa.

3. *Streptomyces* sp.3

Koloni berbentuk bulat dengan tepi tidak beraturan. Koloni melekat erat pada media, berwarna hijau dengan permukaan yang menonjol dan teksturnya bertepung. Koloni mampu merubah warna media dari merah menjadi tidak berwarna. Pengamatan secara mikroskopis memiliki konidia berbentuk oval, terdapat konidia yang tersusun berantai pada ujung hifa dengan diameter konidia $0,40 - 0,45 \mu\text{m}$. Hifa bergelombang tidak bersepta dengan diameter hifa mencapai $0,46 - 0,87 \mu\text{m}$ dan isolat ini termasuk Gram positif (Gambar 5).



Gambar 5. Bakteri *Streptomyces* sp.3 (A) Koloni pada media YMA dengan usia kultur 7 hari, (B) gambar mikroskopis *Streptomyces* sp.3 dengan Mikroskop Cahaya pada perbesaran 1000x (a) konidia (b) hifa.

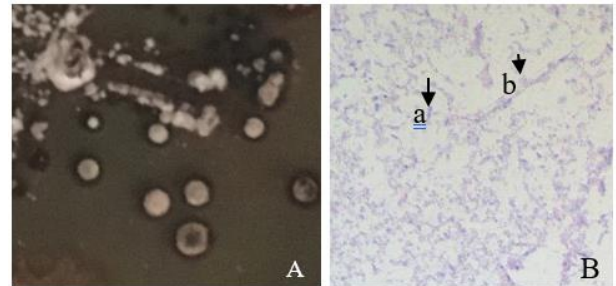
4. *Streptomyces* sp.4

Koloni berbentuk bulat, melekat erat pada media, berwarna merah muda dengan tepi koloni rata dengan permukaan yang cembung dan teksturnya bertepung. Koloni mampu merubah warna media dari merah menjadi tidak berwarna. Pengamatan secara mikroskopis memiliki konidia berbentuk oval, terdapat konidia yang tersusun berantai pada ujung hifa dengan diameter konidia $0,42 - 0,47 \mu\text{m}$. Hifa bergelombang tidak bersepta dengan diameter hifa mencapai $0,62 - 0,67 \mu\text{m}$ dan isolat ini termasuk Gram positif (Gambar 6).

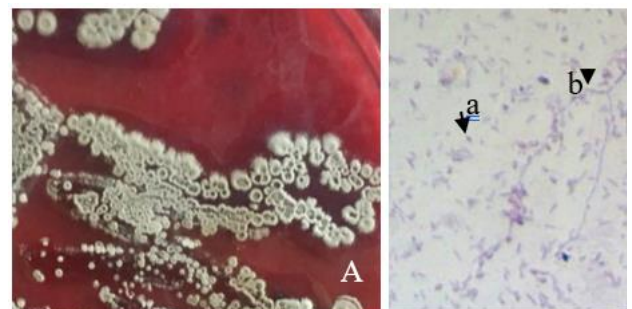
5. *Streptomyces* sp.5

Koloni berbentuk bulat, melekat erat pada media, berwarna abu-abu dengan tepi koloni bergelombang dengan permukaan yang cekung dan teksturnya bertepung. Koloni mampu

merubah warna media dari merah menjadi tidak berwarna. Pengamatan secara mikroskopis memiliki konidia berbentuk bulat, terdapat konidia yang tersusun berantai pada ujung hifa dengan diameter konidia $0,55 - 0,58 \mu\text{m}$. Hifa bergelombang tidak bersepta dengan diameter hifa mencapai $0,30 - 0,45 \mu\text{m}$ dan isolat ini termasuk Gram positif (Gambar 7).



Gambar 6. Bakteri *Streptomyces* sp.4 (A) Koloni pada media YMA dengan usia kultur 7 hari, (B) gambar mikroskopis *Streptomyces* sp.4 dengan Mikroskop Cahaya pada perbesaran 1000x (a) konidia (b) hifa.

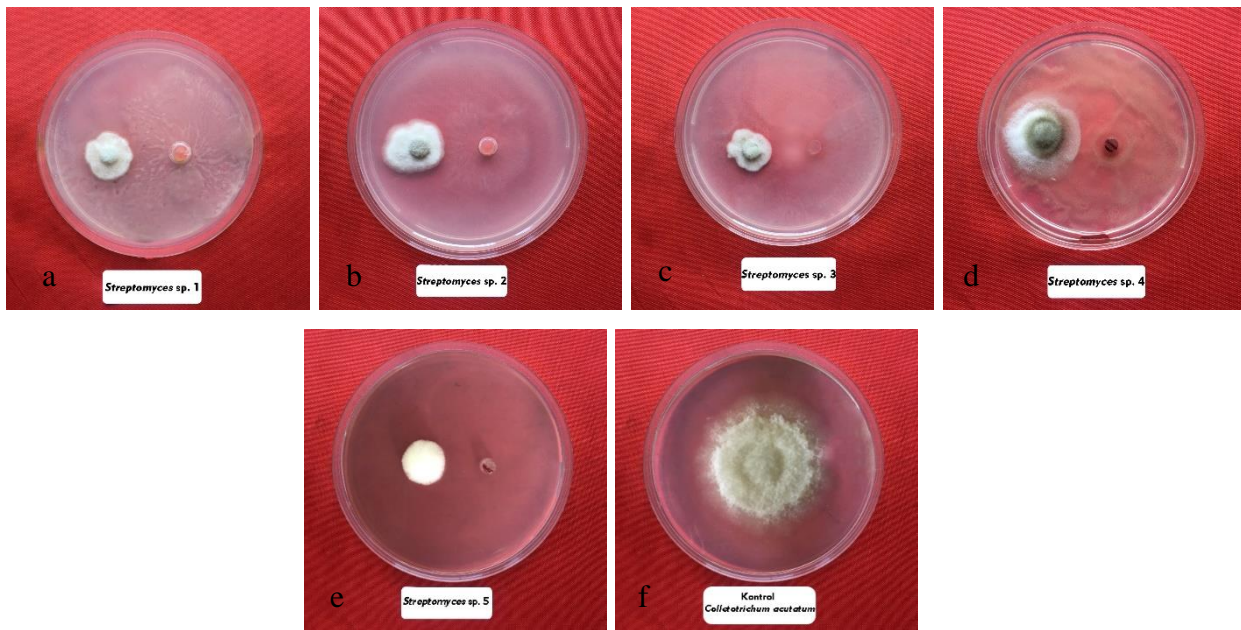


Gambar 7. Bakteri *Streptomyces* sp.5 (A) Koloni pada media YMA dengan usia kultur 7 hari, (B) gambar mikroskopis *Streptomyces* sp.5 dengan Mikroskop Cahaya pada perbesaran 1000x (a) konidia (b) hifa.

Hasil dari pewarnaan tahan asam, pewarnaan Gram, dan uji katalase dari seluruh isolat menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri *Streptomyces* (Tabel 1). Hasil uji *Dual Culture* menunjukkan bahwa semua bakteri *Streptomyces* yang diisolasi dari rizosfer tanaman cabai merah besar dapat menghambat *C. acutatum* (Gambar 8, Tabel 2).

Tabel 1. Hasil pewarnaan tahan asam, pewarnaan gram dan uji katalase isolat *Streptomyces* sp.

No.	Isolat	Pewarnaan tahan asam	Pewarnaan Gram	Uji katalase
1.	<i>Streptomyces</i> sp.1	-	+	+
2.	<i>Streptomyces</i> sp.2	-	+	+
3.	<i>Streptomyces</i> sp.3	-	+	+
4.	<i>Streptomyces</i> sp.4	-	+	+
5.	<i>Streptomyces</i> sp.5	-	+	+



Gambar 8. Uji Dual Culture *Streptomyces* sp. terhadap *C. acutatum* secara in vitro, a. *Streptomyces* sp.1, b. *Streptomyces* sp.2, c. *Streptomyces* sp.3, d. *Streptomyces* sp.4, e. *Streptomyces* sp.5, dan f. kontrol *C. acutatum*.

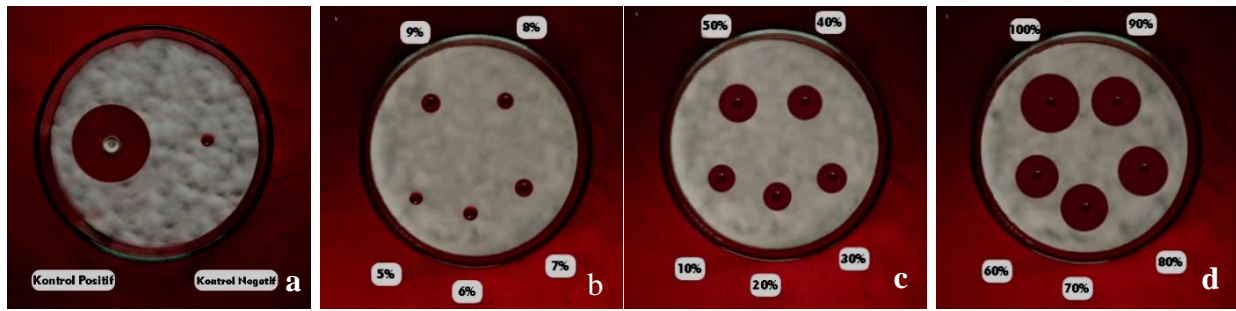
Tabel 2. Persentase hambatan oleh *Streptomyces* sp. terhadap pertumbuhan *C. acutatum* dalam uji in vitro Dual Culture

No.	Isolat	%Hambatan**
1.	Kontrol	0,00 ± 0,00 ^a
2.	<i>Streptomyces</i> sp. 1	72,23 ± 3,25 ^c
3.	<i>Streptomyces</i> sp. 2	67,13 ± 5,08 ^c
4.	<i>Streptomyces</i> sp. 3	68,36 ± 10,82 ^c
5.	<i>Streptomyces</i> sp. 4	50,30 ± 4,58 ^b
6.	<i>Streptomyces</i> sp. 5	83,76 ± 2,91 ^d

**Nilai-nilai pada tabel 2 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari empat kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan uji analisis sidik ragam (ANOVA)

Uji filtrat N-butanol *Streptomyces* sp.5 terhadap jamur *C. acutatum* diperoleh hasil filtrat mampu menghambat pertumbuhan jamur uji.

Hasil daya hambat ditunjukkan filtrat yang dilarutkan dengan pelarut N-butanol, yaitu sebesar 21,50 ± 0,44 mm pada konsentrasi 100%. Fungisida sintetik Amistar yang digunakan sebagai kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat terbesar 30,54 ± 0,35 mm. Pada kontrol negatif yaitu N-butanol tidak terdapat zona hambat. Hasil MIC ditemukan pada konsentrasi 7% dengan diameter sebesar 6,40 mm. Perlakuan filtrat *Streptomyces* sp.5 secara nyata (P<0,05%) dapat menghambat pertumbuhan jamur uji. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi filtrat terhadap lebar diameter zona hambat yang dihasilkan, semakin besar konsentrasi filtrat maka semakin lebar diameter zona hambat yang dihasilkan (Gambar 9 dan Tabel 3).



Gambar 9. Uji konsentrasi filtrat N-butanol *Streptomyces* sp.5 dengan *C. acutatum* a (kontrol positif dan kontrol negatif), b (perlakuan 5% - 9%), c (perlakuan 10% -50%), d (perlakuan 60-100%).

Filtrat N-butanol dari *Streptomyces* sp. 5 dilakukan uji efektivitas dalam menghambat *C. acutatum*. Dari uji yang dilakukan, konsentrasi 100% - 7% terdapat zona hambat, yaitu $21,50 \pm 0,44$ mm sampai dengan $6,40 \pm 0,16$ mm (Tabel 3).

Tabel 3. Uji *Minimum Inhibitory Concentration* dari Filtrat *Streptomyces* sp.5

No.	Isolat	Diameter (mm)**
1.	Kontrol Positif	$30,54 \pm 0,35^n$
2.	Konsentrasi 100%	$21,50 \pm 0,44^m$
3.	Konsentrasi 90%	$19,29 \pm 0,27^l$
4.	Konsentrasi 80%	$18,37 \pm 0,43^k$
5.	Konsentrasi 70%	$17,35 \pm 0,15^j$
6.	Konsentrasi 60%	$16,50 \pm 0,44^i$
7.	Konsentrasi 50%	$14,21 \pm 0,25^h$
8.	Konsentrasi 40%	$13,48 \pm 0,30^g$
9.	Konsentrasi 30%	$11,40 \pm 0,40^f$
10.	Konsentrasi 20%	$10,45 \pm 0,22^e$
11.	Konsentrasi 10%	$9,78 \pm 0,17^d$
12.	Konsentrasi 9%	$7,31 \pm 0,35^c$
13.	Konsentrasi 8%	$6,69 \pm 0,35^b$
14.	Konsentrasi 7%	$6,40 \pm 0,16^b$
15.	Konsentrasi 6%	$0,00 \pm 0,00^a$
16.	Konsentrasi 5%	$0,00 \pm 0,00^a$
17.	Kontrol Negatif	$0,00 \pm 0,00^a$

**Nilai-nilai pada tabel \pm standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Notasi huruf yang berbeda di setiap kolom menunjukkan perlakuan berbeda nyata ($P \leq 0,05$), berdasarkan uji Duncan setelah analisis sidik ragam (ANOVA).

PEMBAHASAN

Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2 tentang ciri morfologi makroskopis dan mikroskopis *C. acutatum* serupa dengan yang dilaporkan oleh Ibrahim et al. (2017), bahwa pada media PDA, pertumbuhan koloni *C. acutatum* yang lambat memiliki ciri morfologi miselium yang berwarna putih pusat koloni berwarna abu-

abu seperti kapas dan halus serta tepi koloni yang rata. Koloni yang sudah tua akan terdapat noda hitam pada permukaan koloni. Hasil sesuai dengan buku identifikasi Fungal Biodiversity (Crous et al., 2009). Berdasarkan pada karakteristik tersebut, maka isolat yang dipakai pada penelitian ini terkonfirmasi sebagai *Colletotrichum acutatum*. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Anggraeni et al. (2019) dimana hasil pengamatan *C. acutatum* dibawah mikroskop cahaya menunjukkan ciri-ciri yaitu jamur *Colletotrichum* memiliki konidia hialin dengan 1 sel, berbentuk ovoid hingga sabit sedangkan pada *C. acutatum* memiliki bentuk konidia elips hingga gelendong, terdapat makrokonidia berbentuk silindris atau ujung tumpul sedangkan mikrokonidia berbentuk ovoid. Konidiofor bercabang dan bersekat.

Isolasi *Streptomyces* pada rizosfer tanaman cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) diperoleh 5 isolat *Streptomyces* sp. dengan struktur mikroskopis dan makroskopis yang berbeda. Kelima isolat *Streptomyces* yang diperoleh memiliki bentuk koloni, warna dan struktur permukaan yang berbeda-beda. Widyanti & Giyanto (2013) mengemukakan bahwa koloni *Streptomyces* mempunyai ukuran diameter yang kecil, awal pertumbuhan permukaan koloni licin, kemudian membentuk miselium udara yang bentuknya seperti bubuk. Kumalasari et al. (2012) menunjukkan bahwa koloni *Streptomyces* menghasilkan bau yang khas seperti tanah, yang disebabkan oleh produksi asam asetat, acetildehida, etanol, isobutanol dan isobutyl asetat.

Isolat *Streptomyces* sp. secara nyata ($P > 0,05$) dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. acutatum* dengan daya hambat berkisar 53,5% sampai dengan 83,76%. Variasi persentase daya hambat terbentuk disebabkan oleh perbedaan kemampuan antagonis masing-masing isolat *Streptomyces* dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen. Perbedaan ini juga dapat dipengaruhi oleh produksi siderophore (Palaniyandi et al., 2011), antibiosis (Purnomo et al., 2017), atau dengan senyawa toksik lainnya seperti HCN (Amaresan et al., 2018).

Streptomyces sp.5 merupakan isolat yang memiliki persentase terbesar yaitu 83,76% dalam menghambat pertumbuhan patogen. Hal serupa juga dilaporkan oleh peneliti lain, seperti Yurnaliza et al. (2011) yang melaporkan bahwa bakteri *Streptomyces* RKt5 sangat efektif menghambat patogen tular tanah. Kemampuan kitinase dari *Streptomyces* RKt5 mampu melisiskan dinding sel dari miselium jamur *F. oxysporum*. Bakteri antagonis *Streptomyces* sp. merupakan genus bakteri yang mendominasi di lingkungan rizosfer. Menurut Yutthasin et al. (2015) menyatakan bahwa melalui pengujian secara *in vitro* *C. acutatum* pertumbuhannya mampu dihambat oleh enzim hidrolitik yang dihasilkan oleh *Streptomyces* PR22 dan *Streptomyces* PR87 sehingga terjadi pelisisan dinding sel fungi.

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dari *Streptomyces* sp.5 yaitu pada konsentrasi 7% sebesar 6,40 mm. Hal ini sesuai dengan Nurkanto dkk, (2010) mengemukakan bahwa semakin rendah nilai MIC dari filtrat maka filtrat yang diuji memiliki potensi antijamur. Hal ini disebabkan oleh semakin kecil konsentrasi, filtrat tersebut masih mampu menunjukkan zona hambat. Penelitian Nguyen et al. (2015) menyatakan bahwa filtrat *S. griseus* H7602 menghasilkan asam 1H-pirol-2karboksilat (PCA) dengan menggunakan analisis spektra mampu menghambat *P. capsici* secara *in vitro* dengan nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 64 $\mu\text{g mL}$. *Streptomyces deccanensis* QY-3 menunjukkan aktivitas antijamur yaitu asam

antranilat dan sangivamycin yang dapat menghambat perkecambahan konidia serta dapat mematahkan hifa dari *C. gloeosporioides* dengan nilai MIC masing-masing kedua senyawa yaitu 29,3 dan 23,0 $\mu\text{g mL}$. (Gu et al., 2020).

SIMPULAN

Ditemukan 5 isolat *Streptomyces* yaitu *Streptomyces* sp.1, *Streptomyces* sp.2, *Streptomyces* sp.3, *Streptomyces* sp.4, *Streptomyces* sp.5. Isolat – isolat *Streptomyces* sp. secara nyata dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. acutatum* dengan daya hambat berkisar 53,5 sampai dengan 83,76%. *Streptomyces* sp.5 mampu memberikan persentase hambatan pada *C. acutatum* sebesar $83,76 \pm 2,91\%$ dengan MIC 7% (v/v) dengan diameter 6,40 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Sang Ketut Sudirga, S.Si., M.Si selaku Kepala Laboratorium Biokimia Program Studi Biologi FMIPA Universitas Udayana yang telah menyediakan isolat *C. acutatum*, serta Drs. Yan Ramona, M.App.Sc. dan Ph.D, Dr. Dra. Junita Hardini, M.Si. atas masukannya pada penelitian ini.

KEPERPUSTAKAAN

- Amaresan N, Kumar K, Naik JH, Bapatla KG, Mishra RK. 2018. *Streptomyces* in Plant Growth Promotion Mechanisms and Role. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. 125-135.
- Anggraeni W, Wardoyo ERP, Rahmawati. 2019. Isolasi dan Identifikasi Jamur Pada Buah Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang Bergejala Antraknosa Dari Lahan Pertanian Di Dusun Jeruk. *Jurnal Protobiont*. **8(2)**: 94:100.
- Cihak M, Kamenik Z, Smidova K, Bergman K, Benada O, Kofronova O, Petricknova K, Bobek J. 2017. Secondary Metabolites Produced during the Germination of *Streptomyces coelicolor*. *Frontiers in Microbiology*. **2495(8)**: 1-8.

- Crous PW, Verkley GJM, Groenewald JZ, Samson RA. 2009. *Fungal Biodiversity*. CBS KNAW Fungal Biodiversity Center Utrecht, the Netherlands.
- Gu L, Zhang K, Zhang N, Li X, Liu Z. 2020. Control of the Rubber Anthracnose Fungus *Colletotrichum gloeosporioides* using Culture Filtrat Extract from *Streptomyces deccanensis* QY-3. **113(11)**: 1573-1585.
- Holt JG, Krieg NP, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. New York
- Ibrahim R, Hidayat SH, Widodo. 2017. Keragaman Morfologi, Genetika, dan Patogenisitas *Colletotrichum acutatum* Penyebab Antraknosa Cabai di Jawa dan Sumatera. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. **13(1)**: 9-16.
- Kawuri R. 2012. Pemanfaatan *Streptomyces thermocarboxydus* untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Daun pada Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) di Bali. (Disertasi). Universitas Udayana. Bali.
- Kawuri R, Suprpta DN, Nitta Y. 2018. Antagonistic Activity of *Streptomyces thermocarboxydus* to *Fusarium oxysporum*: The cause of Leaf Rot Disease on Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Mill.) in Bali, Indonesia. *Malaysian Journal of Microbiology*. 10-15.
- Khamna S, Yokota A, Lumyong S. 2009. Actinomycetes Isolated from Medicinal Plant Rhizosphere Soil: Diversity and Screening of Antifungal Compound, Indole-3-Acetic Acid and Siderophore Production. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. **25(4)**:649-655.
- Kumalasari AM, Fathurahman N, Nur M. 2012. Potensi Actinomycetes Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif Antibiotik dari Kawasan Karst Bantimurung, Sulawesi Selatan. *Pelita-Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*. **7(1)**: 59-72.
- Montoc HS. 2011. Uji Antagonisme *Saccharomyces* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Sembilan Jamur Patogen. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. *Skripsi Sarjana*. Fakultas Pertanian. Universitas Udayana
- Muthahanas I, Listiana E. 2017. Skrining *Streptomyces* sp. Isolat Lombok Sebagai Pengendali Hayati Beberapa Jamur Patogen Tanaman. *CROP AGRO Scientific Journal of Agronomy*. **1(2)**: 130-136.
- Nellawati NLCA, Kawuri R, Arpiwi NL. 2016. Uji Daya Hambat *Streptomyces roseoflavus* AL2 Terhadap *Xanthomonas* sp. Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri (HBD) pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. **3(1)**: 1-7.
- Nguyen XH, Naing KW, Lee YS, Kim YH, Moon JH, Kim KY. 2015. Antagonism of Antifungal Metabolites from *Streptomyces griseus* H7602 against *Phytophthora capsici*. *Journal of Basic Microbiology*. **55(1)**: 45-53.
- Nurkanto A, Listyaningsih F, Julistiono H, Augusta A. 2010. Eksplorasi Keanekaragaman Aktinomisetes Tanah Ternate Sebagai Sumber Antibiotik. *Jurnal Biologi Indonesia*. **6(3)**: 325-339.
- Palaniyandi SA, Yang SHD, Cheng JH, Meng L, Suh JW. 2011. Biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in yam *Streptomyces* sp. MJM5763. *Journal of applied microbiology*. **111(2)**: 443-455.
- Pertiwi PH, Lukiswanto BS, Rochmah K. 2015. Isolasi dan Identifikasi dan Penapisan Aktivitas Antimikroba *Streptomyces* sp. Isolat Tanah Lumpur Lapindo Sidoarjo. *Veterinari Medika*. **8(1)**: 51-58.
- Purnomo E, Mukarlina, Rahmawati. 2017. Uji Antagonis Bakteri *Streptomyces* spp. Terhadap Jamur *Phytophthora palmivora* BBK10 Penyebab Busuk Buah pada Tanaman Kakao. *Protobiont*. **6(3)**: 1-7.
- Ramazani A, Moradi S, Sorouri R, Javani S, Garshasbi M. 2013. Screening for Antibacterial Activity of *Streptomyces* Species Isolated from Zanjan Province, Iran. *IJPCBS*. **3(2)**: 342-349.
- Sari DR. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Tanah yang Terdapat di Sekitar Perakaran Tanaman. *Jurnal Bio-Site*. **1(1)**: 21-27.
- Sari NM, Kawuri R, Khalimi K. 2012. *Streptomyces* sp. Sebagai Biofungisida Patogen *Fusarium oxysporum* (Schlecht) f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder. Et Hans. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Toman (*Solanum lycopersicum* L.).

- Agrotrop: Journal on Agriculture Science*. **2(2)**: 161-169.
- Soeka YS, Triana, E. 2016. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (Indonesian Journal of Applied Chemistry)*. **18(1)**: 91-101
- Sumardiyono C, Joko T, Kristiawati Y, Chinta YD. 2011. Diagnosis dan Pengendalian Penyakit Antraknosa pada Pakis dengan Fungisida. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. **11(2)**: 194-200.
- Tsurayya S, Kartika L. 2015. Kelembagaan dan Strategi Peningkatan Daya Saing Komoditas Cabai Kabupaten Garut. *Jurnal Manajemen & Agribisnis*. **12(1)**: 1-13.
- Whipps JM. 1987. Effect of Media on Growth and Interactions between a Range of Soil-Borne Glasshouse Pathogens and Antagonistic Fungi. *The New Phytologist*. **107(1)**: 127-142.
- Widyanti N, Giyanto. 2013. Kemampuan Aktinomiset Menghambat Pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* dan Pembiakannya pada Medium Serbuk Gergaji. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. **9(1)**: 7-14.
- Yurnaliza Y, Margino S, Sembiring L. 2011. Kemampuan Kitinase *Streptomyces* RKt5 sebagai Antijamur terhadap Patogen *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Natur Indonesia*. **14(1)**: 42-46.
- Yutthasin R, Thummabenjapone P, Hiransalee A. 2015. Antagonistic *Streptomyces* Selection to Broad Spectrum for Biological Control of *Colletotrichum* spp., Causal Agent of Anthracnose in Chilli. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. **9(4)**: 2705-2715.