

SELEKSI DAN PEMANFAATAN ACTINOMYCETES SEBAGAI MIKROBA ANTAGONIS YANG RAMAH LINGKUNGAN TERHADAP *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* SECARA IN VITRO

I MADE SUDARMA

Staf Dosen Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana
E-mail. Sudarma_made@yahoo.com

ABSTRACT

A total of 119 different actinomycete isolate were recovered from banana crop habitats with and without *Fusarium* wilt disease symptom. These were than assessed for their antagonist ability against *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) *in vitro*. Results indicated that four of all actinomycete isolate active against Foc. The four of actinomycete isolates were *Streptomyces* sp.1 (AAo4), *Streptomyces* sp.2 (AAo32), *Streptomyces* sp.3 (AAo33) and *Streptomyces* sp. 4 (AAo35). It was can inhibit the Foc mycelium growth, 79,63%, 72,22%, 78,89% and 72,22% respectively. After tested with the 3 times replication, the four *Streptomyces* spp. isolate effective to control the Foc that attack Bali banana cultivars, such as Susu, Saba, Raja and Ketip.

Keywords: *Fusarium*, Banana

PENDUHLUAN

Pisang merupakan salah satu tanaman hortikultura yang mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi dan merupakan tanaman yang selalu diusahakan oleh para petani sebagai tanaman sela. Pendapatan masyarakat semakin meningkat dan kesadaran terhadap nilai kesehatan juga semakin meningkat, maka permintaan buah pisang semakin tinggi. Hal ini meningkatkan minat para petani di pedesaan untuk lebih intensif membudidayakan tanaman pisang, baik sebagai tanaman sela maupun dibudidayakan secara monokultur (Sudana *et al.*, 2000). Tanaman pisang di beberapa daerah telah mengalami kerusakan akibat serangan patogen penyebab penyakit layu yakni *Pseudomonas solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Semangun, 1989). Berdasarkan pengamatan penulis, dari kedua patogen tersebut yang umum ditemukan di daerah Bali adalah *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc).

Budidaya pertanian pada beberapa dekade tahun terakhir sangat tergantung terhadap penggunaan *agro-chemical* (zat kimia sintetis), sebagai metode yang dapat dipercaya untuk perlindungan tanaman dengan stabilitas ekonomi menyangkut operasinya. Kenaikan penggunaan input zat kimia mengakibatkan beberapa pengaruh negatif, seperti : meningkatkan ketahanan patogen dan berdampak terhadap pencemaran lingkungan. Oleh karena itu perlakuan alternatif diperlukan dalam hal pengendalian penyakit tumbuhan. Pemanfaatan mikroorganisme untuk mengendalikan patogen tumbuhan, dikenal sebagai pengendalian hayati (*biological control*) yang sekarang sedang diterapkan. Hal ini dapat diterima sebagai pengendalian alternatif yang cocok dan ramah lingkungan atau langkah tambahan untuk menurunkan penggunaan zat kimia

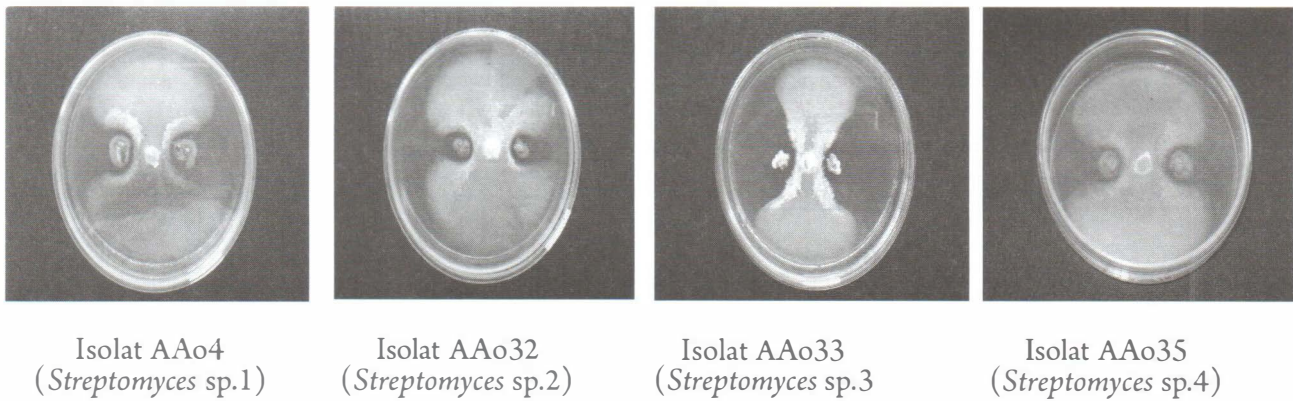
sintetis dalam bidang pertanian dalam menghadapi pengelolaan penyakit tumbuhan (Anitha dan Rabeeth, 2009). Pengendalian hayati dengan memanfaatkan *Streptomyces* spp. telah banyak dilakukan terhadap biji, bibit dan media tanam untuk menurunkan patogen rebah kecambah dan patogen tular tanah (*Soil borne pathogen*) (Lahdenpera, 2000).

Seleksi mikroorganisme untuk memproduksi antibiotik berguna telah dilakukan secara terus menerus dengan intensif oleh para ilmuwan. Antibiotik telah banyak digunakan dalam bidang pertanian, peternakan dan industri farmasi. Actinomycetes telah mampu mensintesis banyak senyawa aktif yang berbeda-beda berupa metabolit sekunder, yakni : antibiotik, herbisida, pestisida, antiseptik, dan enzim seperti selulase, xylanase dan digunakan dalam perlakuan sampah (Os-kay *et al.*, 2004). Kemampuan beberapa isolat Actinomycetes sebagai mikroba antagonis perlu diuji untuk mengendalikan Foc.

METODOLOGI PENELITIAN

Isolasi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

Patogen diisolasi dari pisang yang bergejala layu *Fusarium* yang berlokasi di sentra penanaman pisang di Bali. Setiap tanaman yang bergejala sakit batang semunya diambil dimasukkan dalam plastik, kemudian di label untuk diamati di laboratorium. Isolasi patogen dilakukan dengan memotong bonggol atau batang palsu pisang sakit kira-kira 1 x 1 cm, setelah itu dicelupkan dalam *Beaker glass* yang berisi alkohol 70% selama dua menit untuk menghilangkan kontaminasi pada bagian luarnya, kemudian dibilas dengan mencelupkannya ke dalam akuades steril sebanyak tiga kali. Potongan bonggol/batang sakit diletakkan pada media PDA



Gambar 1. Uji awal antagonistik *Streptomyces* spp. terhadap Foc

yang sebelumnya telah diisi dengan antibiotik livoploxacin (0,5%) dan diinkubasikan selama tiga hari pada suhu kamar. Bentuk spora (mikrokonidia, makrokonidia dan klamidospora) dilihat di bawah mikroskop dan difoto.

Isolasi *Streptomyces* spp.

Media tumbuh Actinomycetes yang digunakan adalah media KenKnight yang terdiri dari : dextrose 1g, KH_2PO_4 0,10g, NaNO_3 0,10g, KCl 0,10g, MgSO_4 7 H_2O 0,10g, agar 15 g dan Aquadest 1000 ml (Rao, 1994), antibiotika nystatin (penghambat jamur) (0,15%).

Tanah sampel yang diambil kemudian dilakukan pengenceran yang diulang 3 kali (3 piring Petri), kemudian dihitung jumlah coloni (cfu = colony forming unit). Isolasi Actinomycetes dengan jalan 10 g tanah yang diambil dari habitat tanaman pisang sehat, dilarutkan dalam 90 ml akuades diaduk secara merata sehingga volume menjadi 100 ml, selanjutnya dilakukan pengenceran untuk Actinomycetes 10^{-3} – 10^{-5} . Cairan diambil sebanyak 1 ml untuk dipindahkan masing-masing ke dalam media KenKnight dan diinkubasikan selama 3 hari. Kelompok yang muncul merupakan jenis mikroba, yang selanjutnya di lakukan perhitungan CFU (colony forming unit), dengan tiga kali ulangan. Identifikasi bakteri dan actinomycetes dengan uji *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt et al., 1994); dan Atlas Actinomycetes yang diakses dari internet. Seanjutnya untuk membandingkan apakah jumlah Actinomycetes lebih banyak pada habitat tanaman pisang dengan dan tanpa gejala layu *Fusarium* dilakukan uji Chi kuadrat.

Koloni yang tumbuh dimurnikan untuk mengisolasi *Streptomyces*, kemudian ditumbuhkan dalam media miring dari PDA ((kentang 200 g, gula 15 g, agar 20 g dalam 1 liter aquadest). Setelah berumur 2 – 3 minggu diidentifikasi dilihat di bawah mikroskop, selanjutnya difoto.

Uji antagonis antara *Streptomyces* spp dengan Foc

Uji antagonis dilakukan tiga tahap, yakni : (1) uji awal antagonis untuk seluruh Actinomycetes yang

didapat terhadap Foc, (II) *Bioassay* uji antagonis dengan ulangan 3 kali *Streptomyces* spp. terhadap Foc, (III) uji antagonis *Streptomyces* spp. terhadap Foc yang berasal dari beberapa kultivar pisang di Bali. Daya hambat dapat dihitung dengan menggunakan rumus, yakni : diameter koloni kontrol dikurangi dengan diameter koloni perlakuan dibagi dengan diameter koloni kontrol kali 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 69 isolat Actinomycetes dapat diisolasi dari habitat tanaman pisang tanpa gejala layu *Fusarium* dan habitat tanaman pisang dengan gejala layu *Fusarium* sebanyak 50 isolat (Tabel 1). Setelah diadakan pemurnian dan uji identifikasi diketahui hanya 4 isolat *Streptomyces* spp. bersifat antagonis yang berasal dari habitat tanaman tanpa gejala layu *Fusarium*, yakni isolat AAo4 (*Streptomyces* sp. 1), AAo32 (*Streptomyces* sp. 2), AAo33 (*Streptomyces* sp.3) dan AAo35 (*Streptomyces* sp. 4). Keempat isolat kemudian dilakukan uji awal antagonis terhadap Foc, kelihatan ada zone hambatan yang merupakan senyawa antibiotik dikeluarkan oleh *Streptomyces* spp. dengan daya hambat masing-masing sebesar 77,78%, 77,78%, 83,33% dan 80% (Gambar 1).

Actinomycetes merupakan mikroorganisme prokaryot yang memiliki kandungan G+C tinggi dalam DNANYa, dengan menghasilkan metabolik yang beragam. Keragaman metabolik family Actinomycetes diakibatkan oleh sejumlah besar genomnya, yang memiliki ratusan faktor transkripsi yang mengendalikan ekspresi gen, sehingga memungkinkan mereka merespon terhadap kebutuhan spesifik (Singh et al., 2006).

Hasil *bioassay* (uji antagonis) dengan ulangan 3 kali, keempat : isolat AAo4 (*Streptomyces* sp.1), AAo32 (*Streptomyces* sp.2), AAo33 (*Streptomyces* sp. 3) dan AAo35 *Streptomyces* sp.4), memiliki daya hambat masing-masing $79.63 \pm 3.20\%$, $72.22 \pm 5.56\%$, 78.89 ± 1.92 dan $72.22 \pm 0\%$ (Gambar 2). *Streptomyces* merupakan genus paling besar menghasilkan antibiotik dibandingkan dengan genus yang lain dari Actinomycetes (Ningthoujam et al., 2009). Diperkirakan

Tabel 1. Jenis Actinomycetes yang ditemukan hasil isolasi dan identifikasi pada tanah sampel habitat tanaman pisang dengan dan tanpa gejala layu *Fusarium*

Jenis mikroba	Jumlah jenis Actinomycetes pada lokasi tanah sampel**					
	Ao	As	Bo	Bs	Co	Cs
Actinomycetes						
<i>Actinomyces</i> sp.	1	1	-	-	-	-
<i>Actinoplanes</i> sp.	-	-	1	2	-	-
<i>Agromyces</i> sp.	1	-	1	-	-	-
<i>Dactylosporangium</i> sp.	1	3	-	-	-	3
<i>Frankia</i> sp.	2	-	-	2	-	1
<i>Geodermatophilus</i> sp.	-	-	-	-	-	2
<i>Micrabispora</i> sp.	-	-	1	-	1	-
<i>Micromonospora</i> sp.	-	4	4	1	6	7
<i>Nocardia</i> sp.	19	1	3	4	4	-
<i>Pilimelia</i> sp.	-	-	-	-	1	-
<i>Pseudonocardia</i> sp.	1	-	-	-	-	-
<i>Sacharomonospora</i> sp.	-	-	5	12	-	-
<i>Streptomyces</i> sp.1	1	5	2	-	2	-
<i>Streptomyces</i> sp.2	1	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces</i> sp.3	1	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces</i> sp.4	4	-	-	-	-	-
<i>Streptosporangium</i> sp.	2	-	2	1	2	1
Jumlah individu	34	14	19	22	16	14
Jumlah jenis	11	5	8	6	6	5

** Jumlah individu dan jenis Actinomycetes pada lokasi tanaman pisang tanpa gejala layu *Fusarium* lebih banyak sangat nyata dibandingkan dengan pada habitat tanaman pisang bergejala layu *Fusarium* dengan uji Chi kuadrat (P<1%).

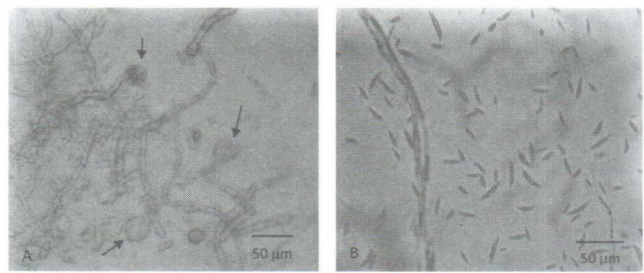
Keterangan :

Tanah sampel yang diambil dari habitat tanaman pisang tanpa gejala layu *Fusarium* (tanah supresif) :

Ao = Desa Pesedahan-Karangsem, Bo = Desa Pesinggahan-Klungkung, dan Co = Desa Yehsumbul-Jembrana. Tanah sampel yang diambil dari habitat tanaman pisang dengan gejala layu *Fusarium* (tanah kondusif) : As = Desa Buitan-Karangsem, Bs = Desa Belatung-Klungkung dan Cs = Desa Pekutatan-Jembrana.

80% produk antibiotik dihasilkan oleh *Streptomyces* (Singh *et al.*, 2006). *Streptomyces* sebagai mikroba prokaryotik diketahui memegang peranan penting dalam siklus nutrisi, fiksasi nitrogen, produksi metabolik sekunder dan memacu pertumbuhan tanaman. Di dalam memacu pertumbuhan tanaman dapat terjadi baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung termasuk menghasilkan fitohormon, fosfat terlarut, fiksasi nitrogen dan menaikkan pengambilan nutrisi. Secara tidak langsung dapat mengendalikan patogen melalui produksi metabolik sekunder, kompetisi, parasitisme, dan menginduksi ketahanan (Barreto *et al.*, 2008). Patogen (Foc) yang mengalami tekanan akibat antibiotik yang dikeluarkan oleh *Streptomyces* sp. (Oskay *et al.*, 2004). Jamur ini cenderung akan membentuk spora sebagai alat untuk bertahap hidup seperti klamidospora. Berdasarkan hasil pengamatan di bawah mikroskop terlihat sejumlah klamidospora, sedikit ditemukan mikrospora dan tidak terlihat adanya makrospora (Gambar 3).

Hasil uji antagonis keempat isolat *Streptomyces* spp. terhadap Foc yang berasal dari beberapa kultivar pisang, menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan Foc secara *in vitro*. Daya hambat keempat isolat kultivar *Streptomyces* spp. bervariasi terhadap Foc yang berasal dari empat kultivar. Paling tinggi daya hambat keempat isolat terlihat



Gambar 3. Perbandingan pertumbuhan Foc setelah diuji antagonis (A), dan tanpa perlakuan (B)

pada Foc asal kultivar Saba, diikuti Raja, Ketip dan yang paling kecil daya hambatnya pada kultivar pisang Susu (Tabel 2).

Tabel 2. Uji antagonis *Streptomyces* spp. terhadap Foc yang berasal dari berbagai kultivar pisang

Isolat <i>Streptomyces</i> spp.	Daya hambat <i>Streptomyces</i> spp. terhadap Foc yang berasal dari berbagai kultivar pisang (%)			
	Susu	Saba	Raja	Ketip
AAo4 (<i>Streptomyces</i> sp. 1)	79,63 ± 3,20	80,74 ± 2,56	81,11 ± 2,94	83,33 ± 5,57
AAo32 (<i>Streptomyces</i> sp. 2)	72,22 ± 5,56	80 ± 2,22	79,63 ± 3,20	74,08 ± 6,41
AAo33 (<i>Streptomyces</i> sp. 3)	78,89 ± 1,92	80,74 ± 2,79	76,3 ± 1,28	72,22 ± 5,56
AAo35 (<i>Streptomyces</i> sp. 4)	72,22 ± 0	81,48 ± 3,2	82,59 ± 1,28	77,04 ± 1,28

Hasil penelitian Anitha dan Rabeeth (2009) dengan menggunakan *Streptomyces griseus* yang diformulasikan dalam bentuk tepung dan diberikan sebelum infeksi oleh *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. (FOL) pada tanaman tomat dapat menurunkan intensitas penyakit. Lebih jauh dijelaskan oleh Lahdenpera (2000), mekanisme penghambatan patogen tanaman oleh *S. griseoviridis* yakni : (1) melalui kompetisi yang terjadi di rhizosfer. Umumnya *Streptomyces* memiliki kemampuan kompetisi yang buruk dalam tanah, tetapi apabila berada pada tanah yang lembab terutama pada zone rhizosfer, mereka akan menggunakan eksudat akar secara baik untuk pertumbuhannya. (2) Hiperparasitisme, jamur *S. griseoviridis* dapat mempenetrasi dinding miselium jamur patogen *Pythium*, *Rhizoctonia solani* dan *Fusarium oxysporum*. Enzim pemecah dinding sel diperlukan dalam hiperparasitisme. Jamur *S. griseoviridis* menghasilkan enzim ekstraseluler. (3) Eksresi auxin, *S. griseoviridis* menghasilkan indole-3-acetic acid (IAA) secara *in vitro*. Metabolit ini dapat memacu pertumbuhan tanaman. (4) menghasilkan senyawa metabolit antimikroba. *S. griseoviridis* menghasilkan senyawa heptaene polyene aromatic yang menghambat pertumbuhan jamur patogen, tetapi peranan senyawa ini terhadap pengendalian penyakit belum sepenuhnya diketahui.

SIMPULAN

Sejumlah 119 isolat actinomycetes yang terdiri dari 69 isolat berasal dari tanah sampel habitat tanaman pisang tanpa gejala layu *Fusarium*, dan 50 isolat yang berasal dari habitat tanaman pisang dengan gejala layu *Fusarium*. Dari keseluruhan isolat hanya 4 isolat yang menunjukkan kemampuan antagonis terhadap Foc. Semua berasal dari habitat tanaman pisang tanpa gejala layu *Fusarium*. Keempat isolat tersebut teridentifikasi yakni isolat AAo4 (*Streptomyces* sp.1), AAo32 (*Streptomyces* sp.2), AAo33 (*Streptomyces* sp. 3) dan AAo35 (*Streptomyces* sp. 4). Kemampuan antagonis keempat isolat terhadap Foc yang berasal dari empat kultivar pisang yang terserang Foc, menunjukkan daya hambat yang hampir sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Dewa Ngurah Suprpta, MSc. selaku Ketua Laboratorium Biopestisida, Fakultas Pertanian Universitas Udayana, atas bantuan yang diberikan selama penulis mengadakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Anitha, A. and M. Rabeeth. 2009. Control of *Fusarium* Wilt of Tomato by Bioformulation of *Streptomyces griseus* in Green House Condition. *African Journal of Basic & Applied Sciences* 1 (1-2): 9-14.

- Barreto, T.R., A.C.M. da Silva, A.C. F. Soares and J.T. de Souza. 2008. Population Densities and Genetic Diversity of Actinomycetes Associated to the Rhizosphere of *Theobroma cacao*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 39: 464-470.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Lipincott Williams & Wilkins. Pp. 787. H.
- Lahdenpera, M.L. 2000. How Mycostop acts in the control of fungal plant diseases. *Infoletter. Verdera*. 5: 1-2.
- Ningthoujam, D.S., S. Sunasam and S. Nimaichand. 2009. *American Journal of Biochemistry ang Biotechnology*. 5(4) : 221-225.
- Oskay, M., A. U. Tamer and C. Azeri. 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology*. 3(9) : 441-446.
- Oskay, M., O. U. Tamer and C. Azeri. 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology*. 3(9) : 441-446.
- Rao, N.S.B. 1994. *Mikoorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi kedua. Penerbit Universitas Indonesia. (UI-Press). 353 h.
- Semangun, H. 1989. *Penyakit-penyakit Penting Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Singh, L.S., I. Baruah and T.C. Bora. 2006. Actinomycetes of Lottak Habitat : Isolation and Screening for Antimicrobial Activities. *Biotchnology*. 5(2): 217-221.
- Sudana, M., D.N. Suprpta, N. Arya dan G.P. Wirawan. 2000. *Penelitian Pengendalian Penyakit Layu Tanaman Pisang Tersebar di 9 (Sembilan) Kabupaten/Kota di Bali. Kerjasama antara Dinas Pertanian Tanaman Pangan Provinsi Bali dengan Fakultas Pertanian Universitas Udayana*. Fak. Pertanian Unud. Denpasar. 44 h.