

Uji Keefektifan Rizobakteri dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum* spp. Penyebab Antraknosa pada Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.)

NI LUH GEDE SRIYANTI
DEWA NGURAH SUPRAPTA*)
I KETUT SUADA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali
)Email: biop@dps.centrin.net.id

ABSTRACT

Effectiveness of Rhizobacteria to Inhibit the Growth of *Colletotrichum* spp. the Cause of Antracnose on Red Chilli (*Capsicum annuum* L.)

Colletotrichum spp. is one of pathogenic fungi that cause significant losses on red chilli. The use of rhizobacteria is considered as an alternative to control the growth of the fungus. The use of bio agent control is considered as selective and environmentally friendly. The aim of this study is to know the effectiveness of rhizobacteria and their filtrates in suppressing the growth of *Colletotrichum* spp. Results of this study showed that treatment with *Pseudomonas fluorescens* isolate TBZA on PDA medium could suppress the growth of *Colletotrichum* spp. by 94% when compared to control 14 days after inoculation. Treatment with filtrate of *P. fluorescens* isolate TBZA could suppress the antracnose disease indicated by the lower disease incidence viz 32%. It is necessary to conduct further experiment under field condition to know the effectiveness of *P. fluorescens* isolate TBZA to suppress the growth of *Colletotrichum* spp. In addition isolation and identification of antifungal compounds in the filtrate is necessary to be done.

Keywords: *rhizobacteria*, *biological agents*, and *Colletotrichum* spp.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas sayuran penting di Indonesia, karena memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi. Cabai merah paling banyak dibutuhkan dalam bentuk segar maupun olahan untuk konsumsi rumah tangga, industri pengolahan makanan, serta dimanfaatkan di dalam pembuatan obat (Setiadi, 2008). Berbagai spesies cabai telah banyak dibudidayakan, namun hanya *C. annuum* L. dan *C. frutescens* L. yang memiliki potensi ekonomis (Sulandri, 2004).

Luas pertanaman cabai di Indonesia selalu mengalami peningkatan setiap tahunnya, namun produksinya masih rendah (Sulandri, 2004). Salah satu faktor utama yang menyebabkan rendahnya produktivitas cabai di Indonesia adalah gangguan hama dan penyakit (Semangun, 2000). Antraknosa merupakan penyakit yang paling sering

dijumpai di pertanaman cabai di daerah tropis maupun subtropis. Genus yang menjadi penyebab utama penyakit antraknosa adalah *Colletotrichum*. *Colletotrichum* digolongkan menjadi lima spesies utama yaitu *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. dematium*, *C. capsici* dan *C. coccodes*. *C. gloeosporioides* dan *C. acutatum* menyebabkan kerusakan pada buah dan kehilangan hasil paling besar (Yoon, 2003). Menurut Suhardi (1989) *Colletotrichum* spp. dapat menurunkan hasil hingga 60%. Dalam kondisi lingkungan yang optimal, patogen ini dapat menghancurkan seluruh areal pertanaman cabai. Kerugian hasil akibat patogen selama transportasi dan penyimpanan dalam kurun waktu satu minggu dapat mencapai lebih dari 25%. Infeksi patogen dapat terjadi sejak tanaman di lapangan sampai tanaman di panen. *Colletotrichum* spp. dapat menurunkan produksi baik secara kualitas maupun kuantitas.

Berbagai usaha pengendalian telah banyak dilakukan oleh para petani salah satunya dengan penggunaan pestisida sintetis secara intensif. Penggunaan pestisida secara terus-menerus akan menimbulkan berbagai dampak bagi tanaman inang, hama, dan penyakit, lingkungan, dan kesehatan manusia. Sampai saat ini pengendalian penyakit antraknosa dengan penggunaan pestisida sintetis kurang efektif karena 30% pestisida terbuang ke tanah pada musim kemarau dan 80% pada musim hujan terbuang ke perairan (Suryaningsih, 2004).

Beberapa jenis bakteri memiliki kemampuan sebagai agensia hayati, baik itu bakteri yang terdapat di sekitar perakaran maupun endofit perakaran tanaman. Potensi bakteri sebagai agensia hayati adalah dengan melihat karakter fisiologisnya. Beberapa karakter fisiologis yang dapat digunakan di antaranya kemampuan bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler (kitinase, protease, dan selulase), hidrogen sianida (HCN), pelarut fosfat, dan aktivitas fluoresensi (Munif, 2001). Rizobakteri dari kelompok *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., dan *Serratia* spp. berpotensi sebagai agen antagonis terhadap *Colletotrichum*. *P. fluorescens* mampu memproduksi hidrogen sianida, siderofor, dan antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum*. Sedangkan *Bacillus* spp. memiliki mekanisme antibiosis, kompetisi, dan parasitisme terhadap jamur patogen dan *Serratia* spp. mampu menghasilkan mannitol dan salisin (Sutariati *et al.*, 2006).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah rizobakteri dan filtrat rizobakteri yang diisolasi dari zona perakaran tanaman cabai merah dapat menekan pertumbuhan jamur *Colletotrichum* spp. penyebab antraknosa pada cabai merah.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keefektifan rizobakteri dan filtrat rizobakteri dalam menekan pertumbuhan jamur *Colletotrichum* spp.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi data potensi rizobakteri dari zona perakaran tanaman cabai merah dalam menekan pertumbuhan *Colletotrichum* spp. penyebab penyakit antraknosa pada cabai merah. Hasil penelitian ini juga dapat memberikan referensi alternatif dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada cabai merah.

2. Bahan dan Metode

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana, dari bulan Desember 2013 sampai dengan April 2014.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat jamur *Colletotrichum* spp., isolat rizobakteri yang diisolasi dari perakaran tanaman cabai merah, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media cair PDB (*Potato Dextrose Broth*), dan akuades. Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, *Erlenmeyer*, tabung reaksi, gelas ukur, pipet mikro, autoklaf, *laminar air flow*, vorteks, kompor, panci, lampu Bunsen, jarum Ose, *shaker*, mikroskop, timbangan digital, tissue, pinset, kain kasa, saringan, aluminium foil, kapas, dan oven.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

2.3.1 Isolasi patogen dan uji Postulat Koch

Buah cabai yang memiliki gejala antraknosa diambil dari kebun petani di Desa Pancasari, Kecamatan Sukasada, Kabupaten Buleleng. Buah tersebut dibersihkan dengan air mengalir dan dibilas dengan air steril, kemudian diletakkan di atas tissue steril untuk menyerap airnya. Potongan buah dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm yang mengandung bagian sakit, ditanam pada media PDA yang mengandung Levofloxacin sebanyak 500 mg/liter yang berfungsi untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Setelah diinkubasi dalam suhu kamar selama 3-5 hari. Jamur yang tumbuh diidentifikasi dengan melakukan pengamatan di bawah mikroskop kemudian mencocokkan ciri-ciri jamur dengan pustaka, sehingga dapat diketahui jamur tersebut adalah *Colletotrichum*. Setelah jamur tersebut disubkultur sampai didapat biakan murni, selanjutnya buah cabai yang sehat dibersihkan terlebih dahulu dengan air steril, kemudian pada bagian tengah buah dilubangi menggunakan jarum, kemudian diinokulasi dengan isolat di atas. Setelah muncul gejala, jamur diisolasi kembali dan dicocokkan dengan ciri-ciri isolat *Colletotrichum* sebelumnya. Isolat jamur yang diperoleh selanjutnya ditumbuhkan pada media PDA miring dan digunakan pengujian selanjutnya.

2.3.2 Isolasi rizobakteria

Isolasi rizobakteri dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat. Tanah dari akar tanaman cabai sebanyak 1 gram, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril. Suspensi tanah tersebut divortex dan sebanyak 1 ml suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml air steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan dengan cara yang sama sampai 10^{-6} . Suspensi pengenceran ke-5 dan ke-6 diambil sebanyak 1 ml untuk dikultur pada media PDA. Selanjutnya biakan murni agen hayati diuji antagonistiknya terhadap jamur *Colletotrichum* spp.

2.3.3 Pengujian daya hambat rizobakteria terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum* spp.

Persiapan media tumbuh dilakukan dengan menuangkan 15 ml media PDA yang masih encer ($\pm 50^\circ\text{C}$) pada cawan Petri, ditunggu sampai padat. Koloni jamur *Colletotrichum* spp. diletakkan dengan jarak 1cm dari tepi cawan Petri, dan isolat bakteri diinokulasikan pada sisi yang berlawanan dengan jarak 1cm dari tepi cawan Petri, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan. Luas koloni jamur *Colletotrichum* spp. dalam perlakuan dan kontrol diukur untuk menghitung daya hambat isolat. Perkembangan luas koloni jamur (A) dihitung menggunakan rumus $A = \pi r^2$. Pengamatan dilakukan terhadap luas koloni pada 2, 6, 10, dan 14 hari setelah inokulasi (hsi). Penentuan persentase daya hambat rizobakteri ditentukan dengan rumus :

$$\text{Daya Hambat} = \frac{\text{Luas koloni jamur kontrol} - \text{Luas koloni jamur perlakuan}}{\text{Luas koloni jamur kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots 1$$

2.3.4 Pengujian biomassa jamur *Colletotrichum* spp.

Pengujian biomassa dilakukan dengan menggunakan media cair PDB. Sebanyak 200 ml media PDB dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer*, kemudian disterilkan dalam *autoklaf*. Suspensi spora jamur *Colletotrichum* spp. dimasukkan sebanyak 1 ml pada masing-masing perlakuan ke dalam media cair PDB, kemudian dimasukkan juga 1 ml biakan rizobakteri berumur 24 jam. Biakan diinkubasi selama 1 minggu dalam suhu kamar. Setelah masa inkubasi biomassa jamur disaring menggunakan kertas saring. Kertas saring beserta koloni jamur dimasukkan ke dalam kertas amplop dan dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 7 hari. Setelah 7 hari, biomassa jamur ditimbang untuk mengetahui berat kering jamur pada tiap perlakuan.

2.3.5 Penghitungan kerapatan spora jamur *Colletotrichum* spp.

Pengujian dilakukan dengan menggunakan media cair PDB, sebanyak 100 ml media PDB dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* kemudian disterilkan dalam *autoklaf*. Sebanyak $200\mu\text{l}$ spora jamur dicampurkan dengan PDB bersama dengan isolat rizobakteri, dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 3-5 hari. Setelah masa inkubasi perlakuan diambil sebanyak $100\mu\text{l}$, kemudian dimasukkan ke dalam alat

Haemocytometer, selanjutnya dilihat secara mikroskopis kerapatan sporanya. Kerapatan spora dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kerapatan spora} = \frac{\text{Spora yang dihitung pada semua kotak}}{\text{jumlah kotak}} \times 100.000 \text{ sel/ml} \dots\dots\dots 2$$

2.3.6 Pembuatan filtrat rizobakteri dan pengujian menggunakan metode Sumur Difusi

Pembuatan filtrat rizobakteri dilakukan dengan menambahkan suspensi rizobakteri sebanyak 1 ml ke dalam *Erlenmeyer* yang berisi media *Potato Dextrose Broth Yeast* (PDBY) sebanyak 500 ml pada setiap perlakuan. Kultur rizobakteri tersebut dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 14 hari. Kultur disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 15 menit, kemudian supernatan disaring menggunakan *membrane millipore* 0,45 μm (Nihon Millipore Ltd.Yonezawa). Selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat filtrat menggunakan metode sumur difusi. Isolat jamur pada media miring diencerkan menggunakan air steril dan sebanyak 200 μl dituang ke cawan Petri. Sebanyak 15 ml media PDA yang masih encer ($\pm 50^\circ\text{C}$) dituangkan pada cawan Petri tersebut, kemudian cawan Petri digoyang-goyangkan secara melingkar sampai media dan suspensi spora bercampur rata. Setelah media memadat, media dilubangi dengan *cork borer*, sebagai sumur difusi dengan diameter 5 mm. Selanjutnya sumur difusi diisi filtrat sebanyak 20 μl dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 3-5 hari, kemudian diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan penggaris.

2.3.7 Pengujian filtrat pada buah cabai merah

Pengujian filtrat rizobakteri pada buah cabai dilakukan dengan mencelupkan buah cabai yang sehat ke dalam filtrat yang sudah disaring menggunakan *membrane millipore*, kemudian diletakkan di dalam wadah plastik dan pada kedua ujung cabai dilukai dengan satu tusukan menggunakan jarum. Selanjutnya suspensi spora jamur *Colletotrichum* spp. konsentrasi 2×10^5 spora/ml disemprotkan ke seluruh permukaan buah, kemudian ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu kamar. Perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan filtrat yaitu: kontrol (buah dicelupkan ke dalam air steril dan disemprot patogen), perlakuan TBZA (buah dicelup ke dalam filtrat TBZA dan disemprot patogen), perlakuan TBZC (buah dicelup ke dalam filtrat TBZC dan disemprot patogen), perlakuan BTBA (buah dicelup ke dalam filtrat BTBA dan disemprot patogen), dan perlakuan TBZO (buah dicelup ke dalam filtrat TBZO dan disemprot patogen). setiap perlakuan diulang sebanyak lima kali.

Variabel yang diamati adalah luas bercak dan persentase penyakit. Luas bercak dihitung dengan rumus $A = \pi r^2$ (A = luas bercak, $\pi = 3,14$, dan r = jari-jari bercak). Jari-jari (r) ditentukan dengan merata-ratakan panjang dan lebar bercak yang telah diukur dengan penggaris.

$$P = \frac{n}{N} \times 100 \% \dots\dots\dots 3$$

P= Persentase penyakit, n = Jumlah buah yang busuk,
N = jumlah buah total

2.4 Analisis Data

Data dianalisis dengan sidik ragam. Apabila pengaruh perlakuan berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Isolasi dan Identifikasi Jamur *Colletotrichum spp.*

Hasil isolasi dan identifikasi jamur dari cabai merah besar yang menunjukkan gejala antraknosa, menunjukkan jamur tersebut adalah *Colletotrichum acutatum*. Hasil pengamatan menunjukkan, ciri-ciri jamur *C. acutatum* adalah konidia jamur berbentuk ellips berwarna abu-abu, meruncing pada salah satu ujungnya, Secara visual koloni jamur berwarna putih, kemudian menjadi pink atau oranye dengan bertambahnya umur koloni.

3.2 Pemilihan Rizobakteri sebagai Agen Hayati terhadap Jamur *C. acutatum*.

Hasil isolasi rizobakteri diperoleh 30 isolat, setelah diskriming didapat 4 isolat rizobakteri yang berpotensi sebagai agen hayati terhadap jamur *C. acutatum*. Isolat tersebut adalah BTBA, TBZA, TBZO, dan isolat TBZC. Isolat rizobakteri TBZA merupakan isolat yang paling tinggi kemampuannya dalam menekan pertumbuhan jamur *C. acutatum*, oleh karena itu bakteri isolat TBZA diidentifikasi menggunakan "OXOID MICROBACT™ GNB KITS", dan diketahui bahwa isolat TBZA merupakan bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

3.3 Uji Daya Hambat Rizobakteri terhadap Pertumbuhan Jamur *C. acutatum*

Daya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *C. acutatum* pada pengamatan 2, 6, 10, dan 14 hsi, perlakuan *P. fluorescens* isolat TBZA menunjukkan persentase tertinggi secara berturut-turut yaitu sebesar 56,00%, 83,00%, 91,80%, dan 94,00%. Daya hambat isolat BTBA secara berturut-turut yaitu sebesar 31,00%, 41,99%, 76,37%, dan 77,00%. Isolat TBZC dengan persentase daya hambat secara berturut-turut yaitu sebesar 31,00%, 65,60%, 88,82%, dan 89,00%, sedangkan isolat TBZO yaitu sebesar 26,00%, 39,23%, 75,83%, dan 77,00%. (Tabel 1).

Pertumbuhan jamur tanpa diberikan perlakuan rizobakteri (kontrol) dapat tumbuh dengan baik, karena tidak adanya kompetisi dalam memanfaatkan nutrisi. Peningkatan terjadi mulai 2 hsi hingga 14 hsi. Berbeda dengan pertumbuhan jamur yang diberikan perlakuan rizobakteri, pertumbuhan koloni jamur terhambat akibat adanya interaksi yang terjadi antara bakteri antagonis dengan jamur *C. acutatum*.

Kemampuan suatu agen hayati khususnya rizobakteri dalam menekan patogen, biasanya melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan, baik itu sebagai penghasil antibiotik, toksin, enzim, kompetisi ruang dan nutrisi, penghasil siderofor dan HCN. Agen hayati biasanya mampu tumbuh lebih cepat dari patogen, untuk mendominasi ruang yang tersedia, sehingga tidak memungkinkan patogen untuk berkembang. Kajian lain menunjukkan bahwa mayoritas bakteri mengeluarkan siderofor, yaitu senyawa bersifat kelat yang kuat mengikat besi. Di antara siderofor yang dikeluarkan oleh bakteri rizosfir, hanya *pyoverdines* atau *pseudobactins* yang dihasilkan oleh *P. fluorescens* yang berimplikasi terhadap ketahanan terimbas (Duijff *et al.*, 1994). Dalam kondisi kahat besi, *P. fluorescens* menghasilkan siderofor *pseudobactin pendarfluor*, *asam salisil*, dan *pseudomonine* yaitu sejenis siderofor yang mengandung sebagian asam salisil. Menurut Neilands & Leong (1986) siderofor dari golongan katekol lebih kuat affinitasnya terhadap unsur besi dari pada siderofor golongan hidroksamat yaitu siderofor yang umumnya dihasilkan oleh jamur. Kompetisi terhadap unsur Fe^{3+} menjadi salah satu mekanisme antibiosis dari bakteri golongan *P. fluorescens*. Sedangkan HCN yang dihasilkan oleh rizobakteri dapat menghambat patogen dengan menguraikan dinding sel jamur. HCN merupakan suatu inhibitor potensial terhadap sitokrom c oksidase dan beberapa metaloenzim yang lainnya (Blumer & Haas, 2000), sehingga patogen dapat mengalami kematian akibat efek merusak dari HCN.

Tabel 1. Daya Hambat Rizobakteri terhadap Pertumbuhan Jamur *C. acutatum*

Perlakuan	Pengamatan (%)			
	2 hsi	6 hsi	10 hsi	14 hsi
BTBA	31,00 b	41,99 c	76,37 b	77,00 c
TBZA	56,00 a	83,00 a	91,80 a	94,00 a
TBZO	26,00 c	39,23 c	75,83 b	77,00 c
TBZC	31,00 b	65,60 b	88,82 a	89,00 b
Kontrol	0,00 d	0,00 d	0,00 c	0,00 d

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsine $\sqrt{(X + 0,5)}$.

3.4 Pengaruh Rizobakteri terhadap Biomassa Jamur *C. acutatum*

Semua isolat rizobakteri secara nyata dapat menekan biomassa jamur *C. acutatum*. Biomassa jamur terendah ditunjukkan oleh perlakuan *P. fluorescens* isolat TBZA sebesar 0,00 g, diikuti oleh perlakuan BTBA, TBZC, dan TBZO, masing-masing sebesar 0,05 g, 0,06 g, dan 0,10 g (Tabel 2).

Rendahnya biomassa jamur *C. acutatum* yang terbentuk, disebabkan karena isolat rizobakteri mampu menghambat pembentukan spora jamur yang mengakibatkan jumlah spora, koloni, dan berat hifa jamur semakin rendah. Terhambatnya pembentukan spora dan perkembangan hifa diduga dikarenakan rizobakteri mampu

menghambat sintesis protein dari jamur patogen, sehingga pertumbuhan jamur terganggu (Wang *et al.*, 2005).

Adanya kompetisi juga berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur patogen. Rizobakteri dan jamur *C. acutatum* yang berada dalam satu tempat selama pengujian, mengakibatkan terjadinya kompetisi dalam memanfaatkan nutrisi dan ruang yang tersedia. Rizobakteri menghasilkan senyawa-senyawa berupa enzim, toksin dan antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan *C. acutatum* selama berinteraksi.

Beberapa golongan bakteri antagonis seperti *Pseudomonas* mampu menghasilkan senyawa *volatile* berupa amonia, alkil piron, dan hidrogen sianida yang dapat meracuni mikroba lain, disamping itu *Pseudomonas* juga memproduksi sejumlah substansi ekstraselular seperti enzim kitinase, protease, dan antibiotik yang menekan pertumbuhan pesaingnya (Compant *et al.*, 2005). Kemampuan menghasilkan enzim kitinase menurut Gupta *et al.* (2006) menyebabkan terjadinya abnormalitas hifa jamur target seperti perforasi, lisis, dan terfragmentasi. Aktivitas kitinase yang tinggi selama mekanisme antagonisme efektif menghambat pertumbuhan jamur. Enzim kitinase merupakan enzim hidrolitik yang dapat menghidrolisis ikatan β -1,4 antar subunit N-asetilglukosamin (NAcGlc) pada polimer kitin. Rusaknya polimer kitin yang merupakan salah satu komponen penting dinding sel hifa jamur dapat menghambat pertumbuhan hifa (Wang *et al.*, 2005).

Bakteri antagonis yang mampu menghasilkan senyawa siderofor serta hidrogen sianida (HCN) seperti bakteri *P. fluorescens*, mampu berperan penting dalam aktivitas biokontrol terhadap jamur patogen. Hal itu dikarenakan ion Fe yang dibutuhkan oleh jamur *C. acutatum* untuk proses perkecambahan tidak tersedia akibat dikelat oleh *siderofor* (Budzikiewicz, 2001).

Tabel 2. Biomassa Jamur *C. acutatum*

Perlakuan	Biomassa jamur <i>C. acutatum</i> (g)
BTBA	0,05 c
TBZA	0,00 d
TBZO	0,10 b
TBZC	0,06 c
KT	0,13 a

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsine $\sqrt{(X + 0,5)}$.

3.5 Daya Hambat Rizobakteri terhadap Pembentukan Spora *C. acutatum*

Semua isolat rizobakteri mampu menekan pertumbuhan spora jamur patogen. Perlakuan dengan menggunakan bakteri *P. fluorescens* isolat TBZA memberikan jumlah spora paling sedikit yaitu $2,125 \times 10^4$, dengan daya hambat sebesar 96,54%. Diikuti oleh perlakuan TBZC, BTBA, dan TBZO, secara berturut-turut sebesar 7,125

$\times 10^4$, $11,750 \times 10^4$, dan $12,375 \times 10^4$, dengan daya hambat terhadap pertumbuhan spora jamur masing-masing sebesar 88,39%, 80,85%, dan 79,84% (Tabel 3).

Perlakuan rizobakteri menyebabkan jumlah spora lebih sedikit jika dibandingkan dengan spora kontrol, karena perlakuan rizobakteri mampu menghambat pertumbuhan spora jamur *C. acutatum*. Rizobakteri mampu menghasilkan senyawa yang bersifat antispore yang dapat menghambat koloni *C. acutatum* dalam memproduksi spora (Compant *et al.*, 2005). Terhambatnya pertumbuhan jamur *C. acutatum* karena adanya penurunan pengambilan oksigen dan kerusakan pada mitokondria akibat adanya aktivitas senyawa antifungi yang dihasilkan oleh rizobakteri. Hal inilah yang kemudian menyebabkan energi yang dihasilkan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan sel jamur menjadi berkurang yang mengakibatkan pertumbuhannya terhambat (Griffin, 1981).

Tabel 3. Daya Hambat Rizobakteri terhadap Pembentukan Spora Jamur

Perlakuan	Kerapatan spora ($\times 10^4$ spora/ml)	Daya hambat (%)
BTBA	11,75 b	80,85 c
TBZA	2,125 c	96,54 a
TBZO	12,375 b	79,84 d
TBZC	7,125 bc	88,39 b
KT	61,375 a	0,00 e

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsine $\sqrt{(X + 0,5)}$.

3.6 Pengujian Filtrat Menggunakan Metode Sumur Difusi

Perlakuan filtrat dari bakteri *P. fluorescens* isolat TBZA memiliki potensi tertinggi untuk menghambat pertumbuhan jamur *C. acutatum* sebesar 21 mm, diikuti oleh perlakuan isolat BTBA, TBZO, dan TBZC, masing-masing sebesar 8,0 mm, 7,8 mm, dan 8,6 mm, sedangkan kontrol tidak terdapat zona bening di sekitar sumur. Perlakuan *P. fluorescens* isolat TBZA dikategorikan memiliki daya hambat sangat kuat, sedangkan perlakuan isolat BTBA, TBZC, dan TBZO memiliki daya hambat yang lemah.

Menurut Ardiansyah (2005), respon hambatan ditentukan sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih mempunyai respon hambatan “sangat kuat”, 16-20 mm respon hambatannya “kuat”, 10-15 mm respon hambatan “sedang” dan daerah hambatan kurang dari 10 mm respon hambatannya “lemah”.

Perlakuan menggunakan filtrat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *C. acutatum* secara visual nampak sebagai zona bening yang terbentuk disekitar sumur difusi pada cawan petri. Zona tersebut menandakan adanya suatu mekanisme penghambatan akibat senyawa antifungi yang dihasilkan oleh bakteri dan terdifusi dalam media, sehingga menghambat pertumbuhan jamur. Antibiosis merupakan mekanisme yang umum terjadi pada bakteri antagonis akibat senyawa antibiotik yang

dihasilkannya, sehingga mampu memblokir zona tumbuh jamur patogen. Bakteri *P. fluorescens* mampu menghasilkan senyawa antibiotika seperti *pyoluteorin*, *siderofor fluoresen*, *fenazin karboksilat*, *pyoverdin*, *pyocyanin*, dan *2,4-diacetylphloroglucinol* yang bersifat menghambat dan mematikan patogen (Tomashow & Weller, 1996).

Terhambatnya pertumbuhan jamur disebabkan karena adanya aktivitas antibiosis bakteri antagonis. Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri secara umum mengakibatkan terjadinya pertumbuhan yang abnormal pada hifa (malformasi), yang ditunjukkan dengan pembengkakan dan pemendekan hifa, sehingga mengakibatkan hifa tidak dapat berkembang dengan sempurna. Pembengkakan yang ditunjukkan oleh hifa jamur terjadi karena senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri dapat masuk ke dalam sel patogen dan menyebabkan *protoplasmic dissolution* (Compant *et al.*, 2005).

Selain itu, kemampuan bakteri dalam menguraikan kitin, dapat membatasi pertumbuhan jamur patogen. Aktivitas kitinase, mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan hifa, karena Enzim kitinase dapat menghidrolisis ikatan β -1,4 antar subunit N-asetilglukosamin (NAcGlc) pada polimer kitin (Wang *et al.*, 2005). Mekanisme lain yang ditunjukkan oleh bakteri antagonis dalam menekan pertumbuhan patogen, dengan menghasilkan siderofor pada kondisi yang terbatas unsur besi, dengan mengikat ion Fe yang dibutuhkan oleh jamur patogen (Schulz *et al.*, 2006).

Tabel 4. Zona Bening di Sekitar Sumur pada Masing-masing Perlakuan Filtrat

Perlakuan	Diameter Zona Bening (mm)
BTBA	8,0 b
TBZA	21 a
TBZO	7,8 b
TBZC	8,6 b
KT	0,0 c

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke $\arcsine \sqrt{(X + 0,5)}$

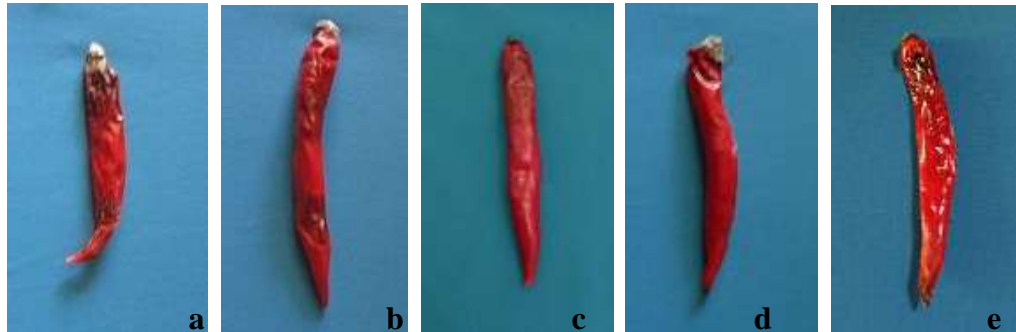
3.7 Pengujian Filtrat Rizobakteri pada Buah Cabai Merah

Berdasarkan pengujian yang dilakukan, bercak terkecil ditunjukkan oleh perlakuan filtrat TBZA yaitu 7,79 mm², diikuti oleh perlakuan isolat TBZC, TBZO, dan BTBA, masing-masing sebesar 47,99 mm², 61,90 mm², dan 70,40 mm². Bercak terluas ditunjukkan pada perlakuan kontrol yaitu 131,44 mm².

P. fluorescens isolat TBZA mengakibatkan persentase penyakit terendah yaitu sebesar 32%, jika dibandingkan dengan perlakuan isolat TBZC, BTBA, dan TBZO yang masing-masing sebesar 68%, 72%, dan 76% (Tabel 5).

Perlakuan filtrat rizobakteri tidak sepenuhnya mampu menghambat perkembangan jamur *C. acutatum*, yang ditandai dengan adanya bercak pada buah cabai pada setiap

perlakuan. Hal ini disebabkan karena adanya pelukaan saat inokulasi patogen sehingga memungkinkan patogen berkembang sebelum dihambat oleh filtrat yang kuat.



Gambar 1. Perlakuan Filtrat Rizobakteri pada Buah Cabai Merah Keterangan: (a) Kontrol; (b) Isolat BTBA; (c) Isolat TBZA; (d) Isolat TBZC; (e) Isolat TBZO

Perlakuan filtrat *P. fluorescens* menunjukkan aktivitas penghambatan yang paling kuat terhadap *C. acutatum* dengan luas bercak terendah dibandingkan dengan ketiga isolat lainnya, hal itu dikarenakan *P. fluorescens* melalui mekanisme antagonisnya mampu mengurangi jumlah inokulum awal jamur patogen.

Jeffries dan Koomen (1992) melaporkan metode pengendalian dengan mikroba antagonis terhadap *Colletotrichum* bertujuan untuk mengurangi infeksi awal. Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri antagonis dapat menghambat perkecambahan konidia dan penyerapan nutrisi yang dibutuhkan patogen untuk berkembang. Meskipun penetrasi telah berhasil dilakukan oleh jamur patogen, tetapi sebelum infeksi berkembang, pertumbuhan hifa dihambat oleh antibiotik atau enzim litik yang dihasilkan oleh mikroba, sehingga menyebabkan pengurangan perkembangan bercak nekrosis.

Perlakuan filtrat isolat BTBA, TBZO dan TBZC memperoleh hasil yang kurang optimal dalam mengurangi persentase penyakit. Hal ini diduga dikarenakan kandungan senyawa antibiotiknya kurang optimum, sehingga kurang efektif dalam mengendalikan jamur *C. acutatum*. Selain itu, permukaan buah yang licin diduga berpengaruh terhadap keefektifan filtrat dalam menekan pertumbuhan jamur patogen, sehingga tidak sepenuhnya filtrat mampu mengurangi infeksi patogen.

Perlakuan filtrat *P. fluorescens* isolat TBZA paling efektif mengurangi persentase penyakit jika dibandingkan dengan ketiga perlakuan lainnya, diduga senyawa-senyawa yang dihasilkan lebih efektif dalam mengurangi jumlah inokulum awal, yang menyebabkan spora tidak mampu untuk berkembang, karena terhambatnya proses pembentukan dinding sel yang diperlukan untuk memanjangkan ujung hifa, percabangan dan pembentukan spora, menghambat pembentukan tabung kecambah (germinasi) dan pertumbuhan miselium, menghambat atau mengganggu permeabilitas membran sel jamur, sehingga patogen tidak mampu melakukan proses infeksi selanjutnya (Compant *et al.*, 2005).

Tabel 5. Luas Bercak dan Persentase Penyakit pada Masing-masing Perlakuan Filtrat

Perlakuan	Luas Bercak (mm ²)	Persentase Penyakit (%)
BTBA	70,40 b	72 b
TBZA	7,79 e	32 c
TBZO	61,90 c	76 b
TBZC	47,99 d	68 b
KT	131,44 a	100 a

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsine $\sqrt{(X + 0,5)}$.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Rizobakteri dan Filtrat *P. fluorescens* isolat TBZA paling efektif menghambat pertumbuhan jamur *C. acutatum* pada media PDA dan menghambat penyakit antraknosa pada buah cabai merah, mengindikasikan bahwa filtrat ini mengandung senyawa antijamur.

4.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian di lapangan untuk mengetahui keefektifan *P. fluorescens* isolat TBZA dalam menekan penyakit antraknosa pada cabai merah, serta perlu dilakukan pemurnian dan identifikasi senyawa antijamur yang terdapat dalam filtrat *P. fluorescens* isolat TBZA.

Daftar Pustaka

- Ardiansyah. 2005. Anti Mikroba dari Tumbuhan. Edisi ke-2.
- Budzikiewicz, H. 2001. Siderophore-antibiotic conjugates used as Trojan horses against *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1: 73-80.
- Blumer, C. & D. Haas. 2000. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Archives of Microbiology* 173: 170-175.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Cle'Ment. & E. D. A. Barka. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology* 72(9): 4949-4959.
- Duijff, B. J., J.W. Meijer, P.A.H.M. Bakker. & B. Schippers. 1994. Siderophoremediated competition for iron and induced resistance in the suppression of Fusarium wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Neth. J. Plant Pathol* 99: 285-300.
- Griffin, D.H. 1981. *Fungal Physiology*: John wiley and Son, Inc. New York.

- Gupta, C. P., B. Kumar, R. C. Dubey, & D. K. Maheshwari. 2006. Chitinase-mediated destructive antagonistic potential of *Pseudomonas aeruginosa* GRC1 against *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem rot of peanut. *Biocontrol* 51(6): 821-835.
- Jeffries, P. & I. Koomen. 1992. Strategies & prospects for biological control of diseases caused by *Colletotrichum*. In J. A. Bailey & M. J. Jeger (Eds.) *Colletotrichum Biology, Pathology and Control*. CAB Internasional 337-357.
- Neilands, J.B. & S.A. Leong. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 37: 187-208.
- Schulz, B.J.E, C.J.C. Boyle, & T.N. Sieber. 2006. *Microbial Root Endophytes*. Springer. Jerman.
- Tomashow, L.S. & Weller. 1996. Molecular basis of pathogen suppression by antibiosis in the rhizosphere. APS Press The American Phytopathological. St Paul. Minnesota, USA. P: 80-100.
- Wang, S., J. Wu, P. Rao, & X. Ye. 2005. A chitinase with antifungal activity from the mung bean. *Protein Expr. Purif.* 40:232-236.