

Uji Daya Hambat Bakteri *Paenibacillus polymyxa* terhadap Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum* sp. Secara *In Vitro*

IDA AYU ISTRI MAYADIANTI

KHAMDAN KHALIMI^{*)}

NI WAYAN SUNITI

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana

JL. PB. Sudirman Denpasar Bali 80321

^{*)}Email: khamdankhalimi@yahoo.com

ABSTRACT

Inhibition Test of *Paenibacillus polymyxa* on the Growth of the Fungus *Colletotrichum* sp. *in vitro*

Fungus *Colletotrichum* sp. is an airborne pathogen that causes anthracnose disease in chili. Utilization of biological agents of *Paenibacillus polymyxa* is the choice in suppressing the growth and fungal attack of *Colletotrichum* sp. The use of biological agency is environmentally friendly. The purpose of this study was to determine the inhibitory properties of *P. polymyxa* bacteria against the growth of the fungus *Colletotrichum* sp. *in vitro*. The results showed that *P. polymyxa* isolates C1 was able to inhibit the growth of *C. acutatum* isolates BLCB, *C. gloesporioides* isolates KLCR2, *C. scovillei* isolates SGCR, *C. fructicola* isolates KRCR, *C. truncatum* isolates DPCR2 and *C. nymphaeae* isolates BLCR, with the percentage of inhibition ranging from 82.74% to 86.52%. Bacterial filtrate *P. polymyxa* C1 was able to inhibit the growth of fungal colonies of *C. acutatum* isolate BLCB, *C. gloesporioides* isolate KLCR2, *C. scovillei* isolates SGCR, *C. fructicola* isolates KRCR, *C. truncatum* isolates DPCR2 and *C. nymphaeae* isolates BLCR with inhibitory power percentage ranging from 71.90% to 82.48%.

Keywords: *biological agensiats*, *Colletotrichum* sp., *P. polymyxa*, *Antracnose*

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Jamur *Colletotrichum* sp. adalah patogen penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai. Antraknosa merupakan jenis penyakit tular udara yang dapat menyerang berbagai macam komoditas tanaman seperti pepohonan, buah-buahan, rerumputan, dan tanaman hias. Di Indonesia, selain menginfeksi daun, *Colletotrichum* sp. juga dapat menginfeksi buah matang dan buah muda. Umumnya pada pertanaman cabai di dunia, serangan jamur *Colletotrichum* sp. dapat menyebabkan kerugian secara ekonomi (Than *et al.*, 2008), dan merupakan penyakit penting di daerah tropis maupun subtropis (Sangdee *et al.*, 2011). Kerugian akibat penyakit antraknosa yang disebabkan

oleh jamur *Colletotrichum* sp. di lapangan dapat mencapai 40-65 % (Hersanti *et al.*, 2001).

Infeksi jamur *Colletotrichum* sp. pada tanaman ditandai dengan gejala awal berupa bintik- bintik kecil yang berwarna kehitam-hitaman dan sedikit melekuk, ditengah bercak terdapat kumpulan titik-titik hitam yang merupakan kelompok seta dan konidium jamur. Serangan lebih lanjut mengakibatkan buah mengkerut, kering dan membusuk (Syamsudin., 2007). Fungisida kimia atau sintesis untuk mengendalikan *Colletotrichum* sp. banyak dilakukan di lapangan, namun penggunaan fungisida kimia mengakibatkan dampak negatif pada keberlangsungan ekosistem, lingkungan, dan manusia yang mengkonsumsinya. Oleh karena itu, perlu dicari cara alternatif lain untuk pengendalian penyakit antraknosa yang efektif, efisien, dan ramah lingkungan. Salah satu diantaranya yaitu pemanfaatan agen hayati. Salah satu mikroorganisme antagonis yang dapat digunakan ialah bakteri *Paenibacillus polymyxa* yang memiliki sifat antagonis terhadap pertumbuhan patogen dan juga memiliki sifat menginduksi ketahanan tanaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan daya hambat bakteri *P. polymyxa* terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. secara *in vitro*.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan desember 2019 sampai Maret 2020 yang dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana Denpasar Bali.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat jamur *Colletotrichum* sp (*C. acutatum* isolat BLCB, *C. gloesporioides* isolat KLKR2, *C. scovillei* isolat SGCR, *C. fructicola* isolat KRCR, *C. truncatum* isolat DPCR2 dan *C. nymphaeae*, isolat BLCR) yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana, isolat bakteri *Paenibacillus polymyxa* C1 , kentang, agar, media PDA (potato dextrose agar), media PDB, aquades, tisu, alkohol. Alat yang digunakan adalah labu erlenmeyer, cawan Petri, tabung reaksi, gelas ukur, pipet mikro, *cover glass*, *deck glass*, *microscope slides*, *autoclave*, oven, pinset, sendok, kompor gas, api bunsen, panci, jarum ose, pisau, gunting, shaker, *laminar flow cabinet*, penjepit, counter, saringan, tissue, *aluminium foil*, kapas, masker, alat tulis, kamera digital, kertas buram, kertas label, penggaris.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Peremajaan jamur *Colletotrichum* sp.

Isolat Jamur *Colletotrichum* sp. yang akan digunakan untuk penelitian ini merupakan jamur hasil koleksi Laboratorium Biopestisida dan sudah dibuktikan patogenisitasnya terhadap tanaman cabai rawit penyebab penyakit antraknosa dengan

postulat Koch. Jamur *Colletotrichum* sp. dibiakkan dalam cawan Petri yang berisi media PDA dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Hasil biakan tersebut akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

2.3.2 Peremajaan Bakteri *Paenibacillus polymyxa*

Bakteri yang akan diremajakan yaitu bakteri *Paenibacillus polymyxa* isolat C1.P embiakan isolat bakteri sebagai agen antagonis dilakukan dengan membiakkan kembali isolat bakteri yang telah ada di laboratorium pada media PDA baru yang ditambah dengan 200 μ nistatin per cawan Petri. Biakan diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang dan siap digunakan.

2.3.3 Uji Daya Hambat Bakteri *Paenibacillus polymyxa* Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum* sp. Secara *in vitro*

Pengujian daya hambat isolat bakteri terhadap pertumbuhan 6 isolat jamur *Colletotrichum* sp. secara *in vitro* dilakukan dengan cara menginokulasikan jamur *Colletotrichum* sp. di tengah-tengah cawan Petri yang telah berisi media PDA kemudian menginokulasikan isolat bakteri pada 4 sisi mengapit jamur masing-masing berjarak 2 cm dari jamur *Colletotrichum* sp. dengan tiga kali ulangan. Selain itu, dibuat kontrol sebanyak tiga ulangan setiap satu jenis isolat jamur yang terdiri dari inokulasi jamur tanpa bakteri. Luas koloni jamur *Colletotrichum* sp. dihitung menggunakan rumus luas lingkaran (πr^2). Pengamatan dilakukan setiap hari untuk menentukan persentase daya hambat bakteri *Paenibacillus polymyxa* terhadap pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum* sp. Persentase daya hambat bakteri antagonis secara *in vitro* ditentukan dengan rumus:

$$\text{Daya hambat} = \frac{\text{Luas Koloni Kontrol} - \text{Luas Koloni Perlakuan}}{\text{Luas Koloni Kontrol}} \times 100\% \dots (1)$$

Luas Koloni Kontrol

Setelah dilakukan pengamatan akan diperoleh daya hambat bakteri *P. polymyxa* terhadap pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum* sp.

2.3.4 Uji Daya Hambat Filtrat Bakteri *Paenibacillus polymyxa* Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum* sp.

Pengujian daya hambat filtrat bakteri terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. dilakukan dengan konsentrasi 50%. Untuk mendapatkan konsentrasi 50% diperoleh dengan menuangkan 5 ml filtrat ke dalam cawan Petri dan menambahkan 5 ml media PDA. Setelah campuran PDA dan filtrat memadat, kemudian masing-masing isolat jamur *Colletotrichum* sp. yang telah dibiakkan pada cawan Petri diambil dan dipisahkan dengan menggunakan *cork borer* diameter 4 mm, kemudian menggunakan jarum ose isolat jamur tersebut diambil, lalu diletakkan tepat di bagian tengah cawan Petri. Setiap isolat jamur dibuat tiga kali ulangan. Kultur jamur tanpa filtrat disiapkan sebagai kontrol. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari.

Luas koloni jamur *Colletotrichum* sp. ditentukan dengan menggunakan kertas milimeter blok dan kertas kalkir. Koloni jamur dari masing-masing perlakuan di gambar dalam kertas kalkir dan dihitung luasnya dengan kertas milimeter blok. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk membandingkan luas koloni jamur *Colletotrichum* sp. pada kontrol dengan luas koloni jamur pada masing-masing perlakuan filtrat bakteri.

2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan metode ANOVA (*Analysis of variance*). Jika terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Duncan's Multiple Range Test pada taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Daya Hambat Bakteri *Paenibacillus polymyxa* Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum* sp. Secara In Vitro

Berdasarkan hasil uji daya hambat bakteri *P. polymyxa* terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. (*C. acutatum* isolat BLCB, *C. gloesporioides* isolat KLCR2, *C. scovillei* isolat SGCR, *C. fructicola* isolat KRCR, *C. truncatum* isolat DPCR2 dan *C. nymphaeae*, isolat BLCR) secara *in vitro*, mampu menekan pertumbuhan luas koloni jamur *Colletotrichum* sp. Efektivitas daya hambat ditunjukkan dengan rendahnya nilai luas koloni jamur *Colletotrichum* sp. dan tingginya persentase daya hambat bakteri *P. polymyxa* terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. (Tabel 1).

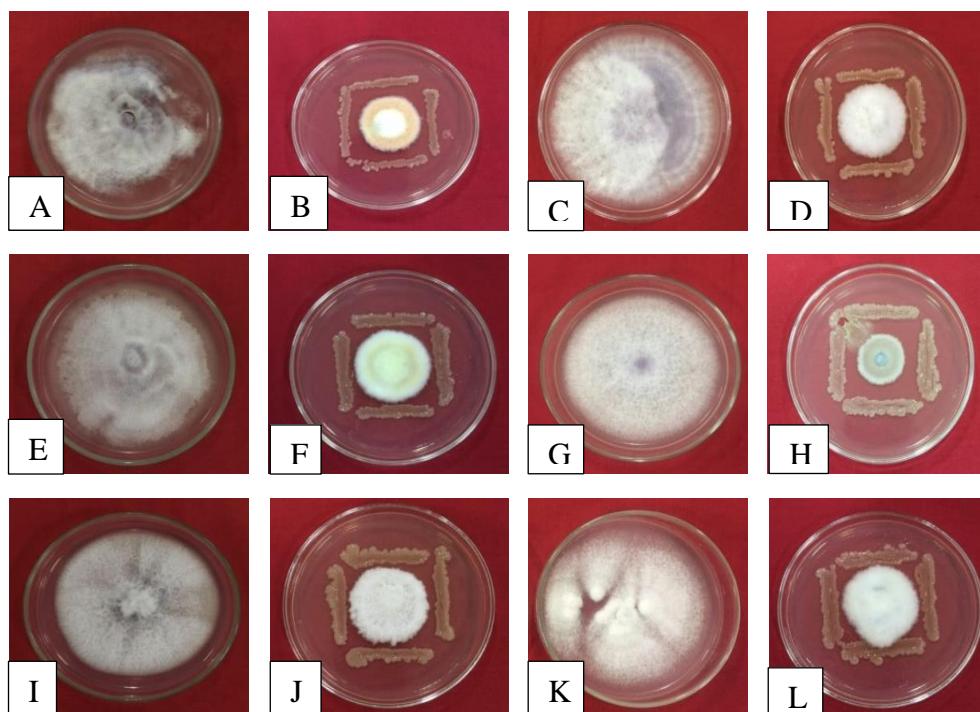
Luas koloni jamur *Colletotrichum* sp. terkecil ditunjukkan pada perlakuan bakteri *P. polymyxa* pada jamur *C. truncatum* isolat DPCR2 yaitu sebesar 700 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 86,52% jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Perlakuan *C. fructicola* isolat KRCR1 704,33 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 84,58%, perlakuan *C. acutatum* isolat BLCBC1 sebesar 733,33 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 84,78%, perlakuan *C. scovillei* isolat SGCR1 sebesar 805 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 85,62%, perlakuan *C. gloesporioides* isolat KLCR2C1 sebesar 885 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 85,04%, dan perlakuan *C. nymphaeae* isolat BLCRC1 sebesar 995 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 82,74% apabila dibandingkan pada perlakuan kontrol.

Tabel 1. Daya Hambat Bakteri *P. polymyxa* terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum* sp.

Perlakuan	Luas Koloni Jamur (mm ²)	Daya Hambat (%)
Kontrol	4865,00 c ± 302,78	-
<i>C.acutatum</i> BLCB	733,33 e ± 94,65	84,78
Kontrol	5758,33 a ± 118,78	-
<i>C.nymphaeae</i> BLCR	955,00 e ± 212,31	82,74
Kontrol	5185,00 c ± 287,53	-
<i>C.truncatum</i> DPCR2	700,00 e ± 75,00	86,52
Kontrol	5951,00 a ± 312,56	-
<i>C.gloesporioides</i> KLCR2	885,00 e ± 176,92	85,04
Kontrol	5601,6 b ± 245,83	-
<i>C.scovillei</i> SGCR	805,00 e ± 26,46	85,62
Kontrol	4563,33 d ± 100,48	-
<i>C.fructicola</i> KRCR	704,33 e ± 84,89	84,58

Keterangan : nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Perlakuan bakteri *P. polymyxa* mampu menghambat pertumbuhan 6 isolat jamur *Colletotrichum* sp. secara *in vitro* (Gambar 4.1). Koloni jamur *Colletotrichum* sp. pada perlakuan kontrol tumbuh dengan normal. Sedangkan, koloni 6 isolat jamur *Colletotrichum* sp. pada perlakuan bakteri *P. polymyxa* mengalami penghambatan.



Gambar 1. Hasil uji daya hambat bakteri *P. polymyxa* terhadap pertumbuhan *Colletotrichum* sp. Keterangan : (A) kontrol *C. acutatum* isolat BLCB, (B) perlakuan *P. polymyxa* C1 dan *C. acutatum* BLCB (C) perlakuan kontrol *C. nymphaeae* BLCR,(D) perlakuan *P. polymyxa* C1 dan *C. nymphaeae* BLCR. (E) perlakuan kontrol *C. truncatum* DPCR2,(F)perlakuan *P. polymyxa* C1 dan *C. truncatum* DPCR2 . (G) perlakuan kontrol *C. gloesporioides* KLCR2, (H) perlakuan *P. polymyxa* C1 dan *C. gloesporioides* KLCR2. (I) perlakuan kontrol *C. fructicola* KRCR (J) perlakuan *P.polymyxa* C1 dan *C. fructicola* KRCR. (K) perlakuan kontrol *C. scovillei* SGCR (L) perlakuan *P.polymyxa* C1 dan *C. scovillei* isolat SGCR

Daya hambat bakteri *P. polymyxa* terhadap 6 isolat jamur *Colletotrichum* sp. ditandai dengan pertumbuhan jamur yang tidak normal dan adanya zona bening diantara bakteri *P. polymyxa* dan jamur patogen. Zona bening diduga terjadi akibat produksi senyawa anti jamur yang dihasilkan oleh bakteri *P. polymyxa*. Senyawa anti jamur tersebut yaitu fusaricidin yang mampu dihasilkan bakteri *P. polymyxa*.(Deng *et al.*, 2011; Lal dan Tabacchioni., 2009). Perlakuan bakteri menunjukkan adanya zona bening, kemampuan bakteri agen hayati lainnya untuk menekan pertumbuhan jamur patogen yaitu melalui mekanisme antibiosis, kompetisi, parasitisme, induksi ketahanan, dan mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman (Cook dan Baker 1983), cara lain agen biokontrol dalam menghambat patogen yaitu dengan mekanisme antibiosis. Antibiosis merupakan mekanisme antagonis yang melibatkan hasil metabolit penyebab lisis, enzim, senyawa folatil, dan nonfolatil, atau toksin yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan organisme lainnya (Berlian *et al.*, 2013).

Beberapa strain *P. polymyxa* telah dilaporkan mampu menghasilkan dua jenis antibiotik peptida, seperti polimiksin, polipeptin, gavaserin, saltavalin, jolipeptin terhadap bakteri, dan fusaricidin terhadap jamur (Deng et al., 2011; Lal dan Tabacchioni., 2009). Fusaricidin yang diproduksi oleh strain *P. polymyxa* adalah antibiotik di mana enam asam amino membentuk struktur siklik, dan senyawa ini sangat aktif melawan bakteri Gram-positif, jamur patogen tanaman dan oomycetes (Choi *et al.*, 2008).

3.2 Uji Daya Hambat Filtrat Bakteri *P. polymyxa* terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum* sp. Secara *in vitro*

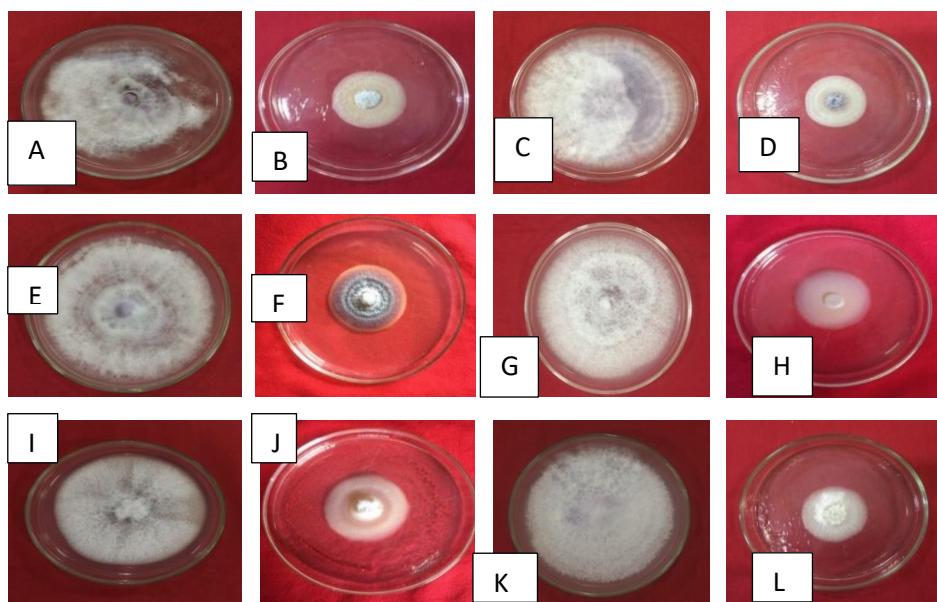
Berdasarkan hasil uji daya hambat filtrat bakteri *P. polymyxa* terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. secara *in vitro* menunjukkan bahwa, perlakuan filtrat bakteri *P. polymyxa* mampu menekan pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. secara efektif. (Tabel 2).

Tabel 2. Persentase Daya Hambat Filtrat Bakteri *P. polymyxa* terhadap Koloni Jamur *Colletotrichum* sp. dengan konsentrasi 50%

Perlakuan	Konsentrasi	Luas koloni jamur	Daya Hambat (%)
		(mm ²)	
Kontrol	-	2980,67 c	
<i>C. acutatum</i> BLCB	50%	825,00 d	71,94
Kontrol	-	3036,33 c	
<i>C. nymphaeae</i> BLCR	50%	850,00 d	71,90
Kontrol	-	3992,67 b	
<i>C. truncatum</i> DPCR2	50%	916,67 d	76,49
Kontrol	-	5090,33 a	
<i>C. gloesporioides</i> KLCR2	50%	891,67 d	82,48
Kontrol	-	3625,14 b	
<i>C. scovillei</i> SGCR	50%	740,00 d	78,55
Kontrol	-	3027,78 c	
<i>C. fructicola</i> KRKR	50%	753,33 d	75,06

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa filtrat bakteri *P. polymyxa* mampu menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. perlakuan paling tinggi daya hambatnya adalah perlakuan filtrat bakteri *P. polymyxa* pada jamur *C. gloeosporioides* isolat KLCR2 sedangkan daya hambat paling kecil ditunjukkan pada perlakuan filtrat *P. polymyxa* pada jamur *C. nymphaeae* isolat BLCR. Luas koloni jamur *C. gloeosporioides* isolat KLCR2 sebesar 891,67 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 82,48%. Sedangkan, luas koloni perlakuan *P. polymyxa* pada jamur *C. nymphaeae* isolat BLCR sebesar 850,00 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 71,90%, jika dibandingkan dengan luas koloni pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 3625,14 mm² pada *C. gloeosporioides* isolat KLCR2 dan 3992,67 mm² pada *C. nymphaeae* isolat BLCR. Hasil tersebut menunjukkan bahwa filtrat bakteri *P. polymyxa* mampu menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. (Gambar 2.)



Gambar 2. Hasil uji daya hambat filtrat *P. polymyxa* terhadap jamur *Colletotrichum* sp. pada media PDA mengandung 50% filtrat bakteri. Keterangan: (A) Kontrol *C. acutatum* isolat BLCB; (B) filtrat *P. polymyxa* isolat C1 dan *C. acutatum* isolat BLCB; (C) kontrol *C. nymphaeae* isolat BLCR; (D) filtrat *P. polymyxa* isolat C1 dan *C. nymphaeae* isolat BLCR; (E) kontrol *C. truncatum* isolat DPCR2; (F) filtrat *P. polymyxa* isolat C1 dan *C. truncatum* isolat DPCR2; (G) kontrol *C. gloesporioides* isolat KLCR2; (H) filtrat *P. polymyxa* isolat C1 dan *C. gloesporioides* isolat KLCR2; (I) kontrol *C. scovillei* isolat SGCR; (J) filtrat *P. polymyxa* isolat C1 dan *C. scovillei* isolat SGCR; (K) Kontrol *C. fructicola* isolat KRCR; (L) filtrat *P. polymyxa* isolat C1 dan *C. fructicola* isolat KRCR.

4 Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Bakteri *P. polymyxa* isolat C1 mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *C. acutatum* isolat BLCB, *C. gloesporioides* isolat KLCR2, *C. scovillei* isolat SGCR, *C. fructicola* isolat KRCR, *C. truncatum* isolat DPCR2 dan *C. nymphaeae* isolat BLCR dengan persentase daya hambat berkisar antara 82,74% sampai 86,52%.
2. Filtrat bakteri *P. polymyxa* C1 mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *C. acutatum* isolat BLCB, *C. gloesporioides* isolat KLCR2, *C. scovillei* isolat SGCR, *C. fructicola* isolat KRCR, *C. truncatum* isolat DPCR2 dan *C. nymphaeae* isolat BLCR dengan persentase daya hambat berkisar antara 71,90% sampai 82,48%.

4.2 Saran

Saran yang dianjurkan yaitu perlu dilakukan identifikasi terhadap senyawa metabolit yang dihasilkan oleh masing - masing isolat yang efektif dan kestabilan *P.*

polomyxa isolat C1 sebagai agen antagonis terhadap jamur *Colletotrichum* sp. Serta pengujian di lapangan untuk keefektifan *P. polomyxa* isolat C1 dalam menekan penyakit antraknosa pada cabai.

Daftar Pustaka

- Berlian I, B.Setyawan , H.Hadi. 2013. Mekanisme antaginisme *Trichoderma* spp. terhadap beberapa patogen tular tanah. *Warta Perkaretan*. 32(2): 74-82
- Choi S. K., S. Y Park., R Kim., C. H Lee., J. F Kim., S. H Park. (2008). Identification and functional analysis of the fusaricidin biosynthetic gene of *Paenibacillus polomyxa* E681. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 365 89–95. 10.1016/j.bbrc.2007.10.147.
- Cook RJ, KF Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. Minnesota (US): APS Press
- Deng *et al.*,2011, Y. Deng, Z. Lu, F. Lu, C. Zhang, Y. Wang, H. Zhao, X. Bie Identification of LI-F type antibiotics and di-n-butyl phthalate produced by *Paenibacillus polomyxa*. *J. Microbiol. Meth.*, 85 (2011), pp. 175-182
- Hersanti, F. Ling, dan I. Zulkarnain. 2001. Pengujian Kemampuan Campuran Senyawa Benzothiadiazole 1%-Mankozeb 48% dalam Meningkatkan Ketahanan Tanaman Cabai Merah terhadap Penyakit Antraknosa. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah. Bogor. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia.
- Strandberg JO, RH Stamps & DJ Norman. 1997. *Fern Anthracnose: A Guide for Disease Management*. University of Florida, Central Florida. www.mrec.ifas.ufl.edu/jos/Bulletin%20900- PDF/Bulletin%20900.pdf. Diakses tanggal 17 November 2019.
- Syamsudin,2007. Pengendalian penyakit terbawa benih (seed born diseases) pada tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) menggunakan agen biokontrol dan ekstrak botani. Agrobio 2 (2).
- Sangdee Aphidech, Sarawut Sachan, Surasak Khankhum.2011. Morphological, Pathological and molecular variability of *Colletotrichum capsici* causing anthracnose of chilli in the North-east of Thailand. Departement OF Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University.Thailand.
- Than PP, R Jeewon, KD Hyde, S, Pongsupasamit , O, Mongkolporn, PWJ Taylor (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathol.*, 57: 562-572