

## Aktivitas Antijamur dari Bakteri Penghasil Senyawa Imidazole-3-Oxide terhadap Jamur *Helminthosporium* *Maydis*

Trisna Agung Phabiola<sup>\*)</sup>, Ida Bagus Gde Pranatayana, Khamdan Khalimi

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana  
Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali 80231

<sup>\*)</sup>Email: [phabiola@unud.ac.id](mailto:phabiola@unud.ac.id)

### Abstract

The fungus *Helminthosporium maydis* is a pathogen that causes leaf blight in corn plants. The use of biological agents is one way to control leaf blight that is environmentally friendly. One of these biological agents is bacteria that produce the compound imidazole-3-oxide. This research aims to determine the ability of bacteria producing imidazole-3-oxide compounds to inhibit the growth of *H. maydis* fungal colonies. The results showed that bacteria producing the compound imidazole-3-oxide were able to inhibit the growth of the fungus *H. maydis* in vitro with an inhibition percentage ranging from 94.74% to 95.52%. Bacterial filtrate producing imidazole-3-oxide compounds at a concentration of 20% is able to inhibit the growth of the fungus *H. maydis* with a percentage of inhibitory power ranging from 91.35% to 94.41% whereas at a concentration of 50% it was able to inhibit the growth of the *H. maydis* fungus with an inhibitory percentage of 100%. The results of this research provide new information that bacteria producing the compound imidazole-3-oxide can be used to control leaf blight disease in corn plants.

Keywords: *Biological agents, imidazole-3-oxide compounds, H. maydis*

### 1. Pendahuluan

Jagung merupakan salah satu tanaman pangan yang sangat penting dan strategis dalam upaya pembangunan pertanian di Indonesia karena menjadi salah satu tanaman pokok bagi kebutuhan manusia dan bahan pakan ternak (Widiyanti *et al.*, 2016). Jagung termasuk komoditas strategis dalam pembangunan pertanian dan perekonomian Indonesia, karena komoditas ini mempunyai fungsi multiguna, baik untuk pangan maupun pakan (Salelua dan Maryam, 2018). Salah satu kendala dalam budidaya jagung adalah penyakit hawar daun.

Penyakit hawar daun disebabkan oleh jamur *Helminthosporium maydis* (Kuilya *et al.*, 2018). Jamur *H. maydis* dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 50 % jika serangan terjadi pada stadia sebelum rambut bunga betina keluar (Razzaq *et al.*, 2019). Kehilangan hasil oleh penyakit bercak *H. maydis* di Amerika Serikat pernah mencapai

90 % senilai 2,5 juta rupiah akibat munculnya ras baru (ras I) yang sangat virulen terhadap varietas jagung dengan sitoplasma jantan mandul (Sujono, 2012). Berbagai upaya pengendalian telah dilakukan oleh petani. Salah satu cara yang dapat direkomendasikan untuk mengendalikan penyakit hawar daun jagung adalah penggunaan bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide yang berperan sebagai agensia hayati. Senyawa imidazole-3-oxide merupakan senyawa antijamur (Yardimci, 2020). Keunggulan penggunaan agensia hayati adalah tidak menimbulkan residu yang berbahaya bagi lingkungan dan manusia, selektivitasnya tinggi sehingga dampak negatif terhadap organisme yang menguntungkan sangat kecil (Purnomo, 2010). Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide dalam menghambat pertumbuhan koloni jamur *H. maydis*.

## **2. Bahan dan Metode**

### **2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2023 sampai dengan Januari 2024. Uji daya hambat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap *H. maydis* secara *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Udayana Denpasar Bali.

### **2.2 Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *H. maydis* diperoleh dari koleksi Laboratorium Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Udayana, bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide yaitu *Bacillus subtilis* Jav-23, *Bacillus subtilis* Bal-22, *Bacillus cereus* Bwi-23, *Bacillus cereus* Bwi-24, kentang, sukrosa, agar, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), aquades, dan air. Alat yang digunakan adalah gelas ukur, cawan Petri, tabung reaksi, pipet mikro, *cover glass*, *deck glass*, *microscope slides*, *autoclave*, mikroskop, *laminar flow cabinet*.

### **2.3. Peremajaan jamur *H.maydis***

Jamur *H. maydis* dibiakkan pada cawan Petri yang berisi media PDA dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Hasil biakan tersebut digunakan untuk pengujian selanjutnya.

### **2.4. Peremajaan bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide**

Bakteri *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B. cereus* Bwi-24 diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya bahwa bakteri tersebut menghasilkan senyawa imidazole-3-oxide berdasarkan analisis Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS). Selanjutnya bakteri tersebut dibiakkan kembali pada media PPDA (Peptone Potato Dextrose Agar) yang ditambah dengan 200 mg nystatin/liter. Pemiakan dilakukan dengan menggoreskan isolat bakteri ke media baru di dalam *Laminar flow*. Biakan ini diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang dan siap digunakan untuk pengujian selanjutnya.

## 2.5. Uji daya hambat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap pertumbuhan *H. maydis* secara *in vitro*

Pengujian daya hambat bakteri *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B. cereus* Bwi-24 terhadap pertumbuhan jamur *H. maydis* ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis*. Uji daya hambat bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan jamur *H. maydis* di tengah-tengah cawan petri yang telah berisikan media PPDA. Kemudian masing-masing bakteri diinokulasikan pada 4 sisi mengapit jamur yang berjarak 2 cm dari jamur dengan tiga kali ulangan. Selain itu, dibuat kontrol (tanpa inokulasi bakteri) sebanyak tiga kali ulangan. Luas koloni jamur *H. maydis* ditentukan dengan perhitungan menggunakan kertas kalkir dan kertas milimeter blok. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk menentukan persentase daya hambat bakteri terhadap pertumbuhan jamur *H. maydis*. Persentase daya hambat bakteri antagonis ditentukan dengan rumus:

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

## 2.6. Uji daya hambat filtrat penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap koloni *H. maydis* secara *in vitro*

Bakteri *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B. cereus* Bwi-24 dibiakkan pada media *Potato dextrose broth* (PPDB). Media PPDB terbuat dari 5 g peptone, 200 g kentang, dan 20 g *dextrose*. Semua bahan tersebut di *fill up* menjadi 1000 ml dan disterilisasi menggunakan *Autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Setelah media dingin, maka masing-masing media ditambahkan 1 ml suspensi bakteri. Selanjutnya kultur bakteri *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B. cereus* Bwi-24 dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 14 hari. Selanjutnya, kultur disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 15 menit. Supernatan disaring dengan membrane Millipore 0,45 µm (Nihon Millipore Ltd. Yonezawa). Setelah itu, filtrat kultur diuji daya hambatnya terhadap koloni jamur *H. maydis* pada cawan Petri.

Konsentrasi filtrat masing-masing bakteri yang diuji adalah 20% dan 50%. Konsentrasi filtrat 20% diperoleh dengan menuangkan 2 ml filtrat ke dalam cawan Petri dan menambahkan 8 ml media PDA sedangkan pada 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 jamur *H. maydis* yang telah dibiakkan pada cawan Petri diambil dan dipisahkan dengan menggunakan *cork borer* diameter 5 mm, kemudian menggunakan jarum ose isolat jamur tersebut diletakkan tepat di bagian tengah cawan Petri. Perlakuan diulang lima kali. Kultur jamur tanpa filtrat disiapkan sebagai kontrol. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Luas koloni jamur *H. maydis* 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 *H. maydis* pada kontrol dengan luas koloni jamur pada masing-masing perlakuan filtrat bakteri.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 Uji daya hambat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap pertumbuhan *H. maydis* secara *in vitro*

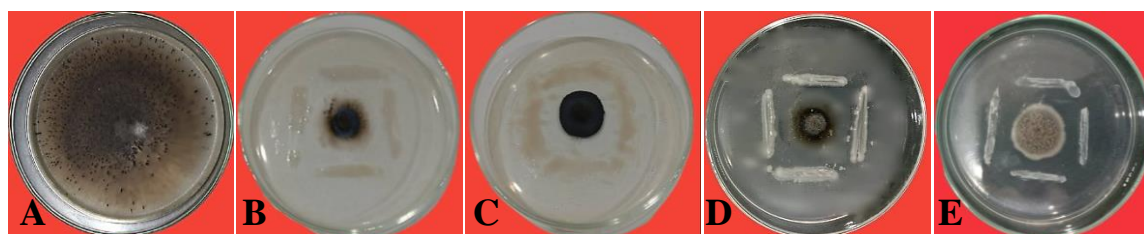
Berdasarkan hasil uji daya hambat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap pertumbuhan jamur *H. maydis* secara *in vitro* menunjukkan bahwa *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B. cereus* Bwi-24 mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *H. maydis* dengan persentase daya hambat berkisar antara 94,74% sampai dengan 95,52% pada pengamatan 7 hari setelah inokulasi (Tabel 1).

Tabel 1. Daya hambat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap pertumbuhan koloni jamur *H. maydis* pada 7 hari setelah inokulasi

Perlakuan	Luas koloni jamur (mm <sup>2</sup> )	Daya hambat (%)
<i>H. maydis</i>	5032,85a	-
<i>B. subtilis</i> Jav-23 dan <i>H. maydis</i>	264,37b	94,74
<i>B. subtilis</i> Bal-22 dan <i>H. maydis</i>	225,23ab	95,52
<i>B. cereus</i> Bwi-23 dan <i>H. maydis</i>	236,13b	95,30
<i>B.cereus</i> Bwi-24 dan <i>H. maydis</i>	240,23b	95,22

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Pertumbuhan koloni jamur *H. maydis* pada perlakuan kontrol tidak terhambat sedangkan pertumbuhan koloni jamur pada perlakuan bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhambat. Hal ini disebabkan karena bakteri *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B.cereus* Bwi-24 menghasilkan senyawa imidazole-3-oxide yang bersifat antijamur (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antijamur bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap jamur *H. maydis* secara *in vitro*. A: Perlakuan Kontrol *H. maydis*, B: *B. subtilis* Jav-23 dan *H. maydis*, C: *B. subtilis* Bal-22 dan *H. maydis*, D: *B. cereus* Bwi-23 dan *H. maydis*, E: *B.cereus* Bwi-24 dan *H. maydis*.

### 3.2 Uji daya hambat filtrat penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap koloni *H. maydis* secara *in vitro*

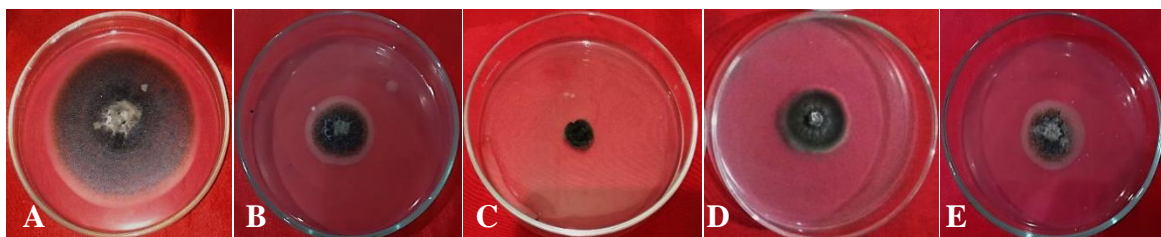
Hasil uji daya hambat filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 20% terhadap koloni jamur *H. maydis* secara *in vitro* menunjukkan bahwa filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 20% mampu menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis* dengan persentase daya hambat berkisar antara 91,35% sampai 94,41% pada pengamatan 5 hari setelah inokulasi (Tabel 2).

Tabel 2. Daya hambat filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 20% terhadap pertumbuhan koloni jamur *H. maydis*

Filtrat	Luas koloni jamur (mm <sup>2</sup> )	Laju pertumbuhan koloni (mm <sup>2</sup> /hari)	Daya hambat (%)
<i>H. maydis</i> (tanpa filtrat)	3856,34 a	771,268 a	-
<i>B. subtilis</i> Jav-23 dan <i>H. maydis</i>	321,57 b	64,314 b	91,66
<i>B. subtilis</i> Bal-22 dan <i>H. maydis</i>	215,22 b	43,044 c	94,41
<i>B. cereus</i> Bwi-23 dan <i>H. maydis</i>	333,26 b	66,652 b	91,35
<i>B. cereus</i> Bwi-24 dan <i>H. maydis</i>	324,45 b	64,890 b	91,58

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Pertumbuhan koloni jamur *H. maydis* pada perlakuan kontrol tidak terhambat dengan laju pertumbuhan koloni sebesar 771,268 mm<sup>2</sup>/hari. Sedangkan pertumbuhan koloni jamur pada perlakuan bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhambat dengan laju pertumbuhan koloni berkisar antara 64,890 mm<sup>2</sup>/hari sampai dengan 43,044 mm<sup>2</sup>/hari (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antijamur bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap jamur *H. maydis* secara *in vitro*. A: Perlakuan Kontrol *H. maydis*, B: *B. subtilis* Jav-23 dan *H. maydis*, C: *B. subtilis* Bal-22 dan *H. maydis*, D: *B. cereus* Bwi-23 dan *H. maydis*, E: *B. cereus* Bwi-24 dan *H. maydis*.

Hasil uji daya hambat filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 50% terhadap koloni jamur *H. maydis* secara *in vitro* menunjukkan bahwa filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 50% mampu

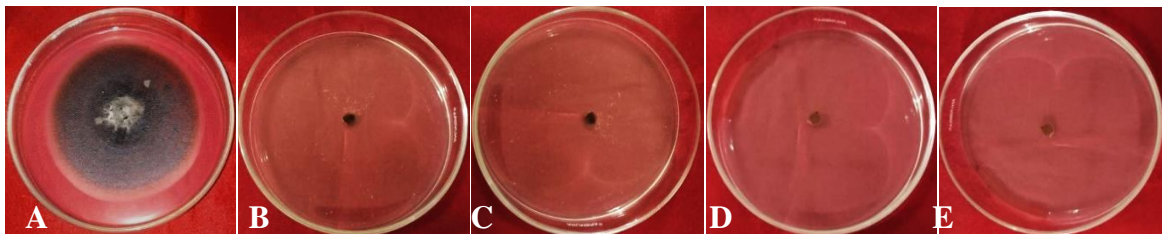
menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis* dengan persentase daya hambat sebesar 100% pada pengamatan 5 hari setelah inokulasi (Tabel 3).

Tabel 3. Daya hambat filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 50% terhadap pertumbuhan koloni jamur *H. maydis*

Filtrat	Luas koloni jamur (mm <sup>2</sup> )	Laju pertumbuhan koloni (mm <sup>2</sup> /hari)	Daya hambat (%)
<i>H. maydis</i> (tanpa filtrat)	3856,34 a	771,268 a	-
<i>B. subtilis</i> Jav-23 dan <i>H. maydis</i>	0,000 b	0,000 b	100
<i>B. subtilis</i> Bal-22 dan <i>H. maydis</i>	0,000 b	0,000 b	100
<i>B. cereus</i> Bwi-23 dan <i>H. maydis</i>	0,000 b	0,000 b	100
<i>B. cereus</i> Bwi-24 dan <i>H. maydis</i>	0,000 b	0,000 b	100

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Pertumbuhan koloni jamur *H. maydis* pada perlakuan kontrol tidak terhambat dengan laju pertumbuhan koloni sebesar 771,268 mm<sup>2</sup>/hari. Sedangkan koloni jamur *H. maydis* pada perlakuan bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide tidak tumbuh dengan laju pertumbuhan koloni sebesar 0 mm<sup>2</sup>/hari (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antijamur bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide terhadap jamur *H. maydis* secara in vitro. A: Perlakuan Kontrol *H. maydis*, B: *B. subtilis* Jav-23 dan *H. maydis*, C: *B. subtilis* Bal-22 dan *H. maydis*, D: *B. cereus* Bwi-23 dan *H. maydis*, E: *B. cereus* Bwi-24 dan *H. maydis*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* Jav-23, *B. subtilis* Bal-22, *B. cereus* Bwi-23, *B. cereus* Bwi-24 maupun filtrat bakteri tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis*. Senyawa imidazole-3-oxide yang dihasilkan bakteri berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan jamur. Senyawa imidazole-3-oxide adalah senyawa heterosiklik yang terlibat dalam berbagai proses biokimia dan bersifat antimikroba (Singha *et al.*, 2022). Senyawa imidazole diklasifikasikan dalam senyawa yang memiliki cincin aromatik heterosiklik beranggota lima dengan tiga atom karbon dan dua nitrogen pada posisi 1 dan 3 (Gujjarappa *et al.*, 2022). Telah dibuktikan bahwa senyawa imidazole-3-oxide bersifat antimikroba, salah satunya adalah antijamur.

Senyawa imidazole-3-oxide bersifat antijamur terhadap *Candida albicans* dan *Candida glabrata* (Banfi *et al.*, 2006), bersifat antijamur terhadap *Aspergillus fumigatus* (Gupta dan Kant, 2013), bersifat antijamur terhadap *Saccharomyces cerevisiae* (Helmick *et al.*, 2005), bersifat antijamur terhadap *Aspergillus niger* (Siwach dan Verma, 2021). Filtrat bakteri pada konsentrasi 20% bersifat fungistatik sedangkan pada konsentrasi 50% bersifat fungisida. Senyawa imidazole-3-oxide bersifat fungistatik pada konsentrasi rendah dan bersifat fungisida pada konsentrasi tinggi (Hori *et al.*, 2000). Senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi rendah menghambat pembentukan ergosterol dan pada konsentrasi tinggi membunuh jamur dengan merusak membrane sel jamur.

#### 4. Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide mampu menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis* secara in vitro dengan persentase daya hambat berkisar antara 94,74% sampai dengan 95,52%. Filtrat bakteri penghasil senyawa imidazole-3-oxide pada konsentrasi 20% mampu menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis* dengan persentase daya hambat berkisar antara 91,35% sampai dengan 94,41% sedangkan pada konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan jamur *H. maydis* dengan persentase daya hambat sebesar 100%.

#### Daftar Pustaka

- Banfi, E., Giuditta, S., Daniele, Z., Maria, G.M., Luciano, V., Marco, F., Maurizio, F., Maria, S.P., Sabrina, P. (2006). Antifungal and antimycobacterial activity of new imidazole and triazole derivatives, A combined experimental and computational approach. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58: 76–84.
- Gupta, V., Kant, V. 2013. A review on biological activity of imidazole and thiazole moieties and their derivatives. *Science International* 1 (7): 253-260.
- Gujjarappa, R., Arup K. Kabi, Sattu Sravani, Aakriti Garg, Nagaraju Vodnala, Ujjawal Tyagi, Dhananjaya Kaldhi, Ravichandiran Velayutham, Virender Singh, Sreya Gupta, and Chandi C. Malakar. 2022. Overview on Biological Activities of Imidazole Derivatives. *Springer Nature Singapore* 135-227 p.
- Helmick, R.A., Arin, E. F., Anne, M. G., Christopher, R. G., Angela, N.H., Michael, C.G., Paul, R.G. (2005). Imidazole antibiotics inhibit the nitric oxide dioxygenase function of microbial flavohemoglobin. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 49(5): 1837-1843.
- Hori, K., Akira, S., Michinari, K., Koichi, I., Yuri, A., Yuso, Y. (2000). Structure-activity relationships of a new antifungal imidazole, AFK-108, and related compounds. *Chem. Pharm. Bull.* 48(1): 60-64.
- Kuilya, J., Debnath, S., Chhetri, S., Biswas, S. 2018. Studies on Southern corn leaf blight disease in West Bengal. *Maize Journal* 7(1): 42-47.
- Purnomo, H. (2010). Pengantar Pengendalian Hayati. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Razzaq, T., Khan, M.F., Awan, S.I. 2019. Study of Northern Corn Leaf Blight (NCLB) on Maize (*Zea mays* L.) Genotypes and its Effect on Yield. *Sarhad Journal of Agriculture* 35(4): 1166-1174.

- Singha, Koustav, Imran Habib, Mossaraf Hossain. 2022. Functionalization of imidazole N-oxide: a recent discovery in organic transformations. *Beilstein J. Org. Chem.* 18:1575-1588.
- Siwach, A., Verma, P.K. (2021). Synthesis and therapeutic potential of imidazole containing compounds. *BMC Chemistry* 15(12): 1-69.
- Sudjono, M.S. 2012. Penyakit jagung dan pengendaliannya. Dalam Jagung. Subandi, Mahyuddin Syam, dan Adi Wijono (Ed). Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor. hlm. 204–241.
- Salelua,S.A., Maryam, S. 2018. Potensi dan prospek pengembangan produksi jagung (*Zea mays L.*) di kota samarinda. *Jurnal Agribisnis Komun. Pertan.* 1(1): 47-53.
- Widiyanti, N.M.N.Z., Baga, L.M., Suwarsinah, K. 2016. Kinerja usahatani dan motivasi petani dalam penerapan inovasi varietas jagung hibrida pada lahan kering di Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Penyuluhan* 12(1): 31-42.
- Yardimci, B.K. 2020. Imidazole Antifungals: A Review of Their Action Mechanisms on Cancerous Cells. *International Journal of Secondary Metabolite* 7(3): 139-159.