

Potensi Isolat Rhizobakteri Indigenous dari Rhizosfer Choy sum sebagai Agen Antagonis *Phytophthora palmivora* dan *Colletotrichum gleosporioides*

Eko Hary Pudjiwati, Siti Zahara, Rani Saffera, Risnawati

Agroteknologi, Fakultas Pertanian,
Universitas Borneo Tarakan

Email: eko.pudjiwati@borneo.ac.id

Abstrak

Colletotrichum gleosporioides merupakan penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai dan *Phytophthora palmivora* penyebab busuk buah pada tanaman coklat. Keduanya merupakan patogen penyebab menurunnya produksi tanaman secara kualitas maupun kuantitas. Aplikasi agen hayati sebagai pengendali organisme pengganggu tumbuhan bersifat ramah lingkungan dan dapat mengurangi dampak negatif pestisida kimia. Rizobakteri mempunyai potensi sebagai agen hayati atau agen antagonis apabila mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh patogen. Pengujian secara *in vitro* dilakukan untuk menguji daya hambat sepuluh isolat rizobakteri, yaitu RB1, RB2, RB3, RB4, RB5, RB6, RB7, RB8, RB9 dan RB10 yang berasal dari rizosfer tanaman sawi hijau (choy sum) (*Brassica chinensis* var. *parachinensis*), terhadap patogen *Phytophthora palmivora* dan *Colletotrichum gleosporioides*. Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap dengan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase penghambatan isolat rizobakteri terhadap fungi *C. gleosporioides* berkisar antara 4,00%-35,79% sedangkan persentase daya hambat terhadap *P. palmivora* berkisar antara 25,49%-63,61 %. Tingginya daya hambat isolat RB4 terhadap *C. gleosporioides* (35,79%) dan *P. palmivora* (63,61%), menyebabkan laju pertumbuhan fungi yang terendah, yaitu 0,38 cm/24 jam (*C. gleosporioides*) dan 0,28 cm/24 jam (*P. palmivora*). Hal ini menunjukkan bahwa isolat RB4 mempunyai potensi menjadi antagonis dibandingkan isolat lainnya meskipun isolat RB4 juga tidak mampu menghasilkan asam sianida (HCN) seperti isolat rizobakteri uji lainnya. Perlu dilakukan pengujian isolat sebagai agen antagonis terhadap patogen lain dan uji lapangan terhadap isolat yang sudah diketahui sebagai agen antagonis.

Kata kunci: Agen hayati, fluoresen, fungi, patogen, penghambatan

Abstract

Colletotrichum gleosporioides which caused anthracnose in chili and *Phytophthora palmivora* which caused fruit rot in cocoa plant are one of the pathogens causing production decreased in quality and quantity. Applying biological agents to control plant-disturbing organisms is environmentally friendly, so it is expected to reduce the negative impact of chemical pesticides. Rhizobacteria have the potential as biological agents or antagonistic agents if they can inhibit growth or kill pathogens. This *in vitro* study aimed to evaluate the inhibitory against of the ten rhizobacteria isolates, namely RB1, RB2, RB3, RB4, RB5, RB6, RB7, RB8, RB9 and RB10 from rhizosphere of choy sum (*Brassica chinensis* var. *parachinensis*), against the pathogens *Phytophthora palmivora* and *Colletotrichum gleosporioides*. The experiment using a Randomized Complete Block Design with three replications. The results showed that the percentage of inhibition of rhizobacteria isolates against *C. gleosporioides* fungal ranged from 4.00%-35.79%, while the percentage of inhibition against *P. palmivora* was between 25.49%-63.61 %. The high inhibitory power of RB4 isolate against *C. gleosporioides* (35.79%) and *P. palmivora* (63.61%), causing the lowest fungal growth rate of 0.38 cm/24 hours (*C. gleosporioides*) and 0.28 cm/24 hours (*P. palmivora*). This indicates that the RB4 isolate has the potential antagonistic agent compared to other isolates although RB4 isolate also unable to produce cyanide acid (HCN) like the other rhizobacteria isolates tested. Testing isolates as

antagonistic agents is needed against other pathogens and field testing on isolates already known to be antagonistic agents.

Keywords : Biological agents, fluorescent, fungal, inhibition, pathogen

PENDAHULUAN

Penyakit tanaman merupakan salah satu faktor penyebab menurunnya kualitas dan kuantitas produksi tanaman. Antraknosa yang disebabkan oleh patogen *Colletotrichum sp* merupakan penyakit utama tanaman cabai dan dapat menghilangkan hasil hingga 60%-90% [1, 2]. Cendawan dari genus *Colletotrichum* juga menjadi patogen pada tanaman lain [3]. *C. gloeosporioides* menyebabkan penyakit hawar buah pada apel [4] dan penyakit antraknosa pada mangga [5]. Sedangkan pada tanaman kakao, penyakit utamanya adalah busuk buah kakao yang disebabkan oleh *P. palmivora* dan dapat menurunkan hasil 20-30 % [6, 7]. Penyakit hawar buah dapat menyebabkan kerugian hingga 100% pada kondisi curah hujan dan kelembaban yang tinggi [7].

Pengendalian penyakit tanaman dapat dilakukan secara kimia maupun biologi. Pengendalian kimia secara terus-menerus memberikan dampak negatif antara lain menimbulkan strain atau ras patogen baru, resistensi dan resurgensi hama, residu pestisida pada produk pertanian dan lingkungan, serta berkurangnya populasi musuh alami [8]. Penerapan agen hayati sebagai pengendali organisme pengganggu tanaman diharapkan dapat mengurangi dampak negatif pestisida kimia. Selain dapat menekan insidensi penyakit,

agen hayati juga dapat memacu pertumbuhan tanaman [9].

Salah satu agen hayati adalah rizobakteri yang dikenal sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteri*), yaitu sekelompok bakteri tanah yang menghuni di sekitar/pada permukaan akar. PGPR secara langsung maupun tidak langsung terlibat dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui produksi dan sekresi berbagai bahan kimia pengatur di sekitar rizosfer [10, 11].

PGPR terdiri dari berbagai macam bakteri antara lain *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter sp*, dan *Azospirillum sp*. *B. subtilis* dapat menghambat cendawan *P. palmivora* dengan penghambatan sebesar 62,24% [12]. Terdapat perbedaan penghambatan antara *P. fluorescens* dan *B. subtilis* terhadap *P. palmivora*, yaitu *P. fluorescens* mencapai 69,5% sedangkan *B. subtilis* mencapai 72,8% [13]. Isolat rizobakteri yang teridentifikasi *S. violaceoruber* mampu menghambat patogen penyebab penyakit antraknosa pada cabai (*C. capsici*) dengan daya hambat sebesar 61,4% [14].

Agen hayati dalam mengendalikan patogen memiliki mekanisme yang bersifat langsung dan tidak langsung. Mekanisme

langsung dapat berupa antibiosis dan parasitisme, sedangkan mekanisme tidak langsung melalui induksi ketahanan tanaman dan kompetisi [15, 16, 17]. Agen hayati dapat memiliki lebih dari satu mekanisme dalam mengendalikan patogen. Bakteri sebagai agen hayati dapat menghasilkan senyawa yang mempunyai efek antifungal, yaitu enzim xilanase, kitinase, dan protease [18], serta senyawa antibiotik antara lain berupa polimiksin, difisidin, subtilin, dan subtilisin [19].

Antibiotik menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara menghambat sintesis protein, DNA, molekul penting serta memengaruhi fungsi membran plasma dan pembentukan dinding sel [20, 21] sedangkan senyawa antifungal dapat menyebabkan malformasi hifa patogen, hifa membengkak dan memendek serta tidak berkembang sempurna [22, 23].

Langkah awal untuk memperoleh rizobakteri yang berpotensi sebagai agen hayati, diperlukan pengujian secara *in vitro* untuk mengetahui kemampuannya sebagai agen antagonis atau pengendali patogen. Pada penelitian sebelumnya sudah diperoleh isolat rizobakteri indigenous dari rizosfer perakaran sawi dan sudah dilakukan karakterisasi kemampuannya dalam menambat nitrogen, melarutkan fosfat, menghasilkan enzim protease, menghasilkan IAA dan berpendar (floresen). Namun, belum diketahui kemampuan isolat rizobakteri tersebut dalam

menghambat pertumbuhan patogen *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora*.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi daya hambat rizobakteri indigenous yang diperoleh dari rizosfer choy sum terhadap pertumbuhan *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora*. Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan bagi penelitian pupuk hayati atau biopestisida sehingga menjawab permasalahan kesehatan lingkungan.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Borneo Tarakan, Kalimantan Utara yang terletak pada 3°18'15" LU dan 117°38'41" BT. Sepuluh isolat rhizobakteri yang digunakan pada penelitian ini berasal dari rizosfer akar choy sum yang telah dikarakterisasi sebelumnya. Karakterisasi yang dimaksud meliputi kemampuan dalam fiksasi nitrogen dan produksi hormon IAA [24], pelarut fosfat produksi enzim protease [25] dan berfluoresensi [26]. Kesepuluh isolat rhizobakteri dengan karakteristiknya tersebut (Tabel 1) diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora* secara *in vitro*.

Tabel 1. Karakteristik isolat rizobakteri *indigenous*

Isolat Rhizobakteri	Fiksasi nitrogen	Pelarut fosfat	Produksi enzim protease	Produksi hormon IAA	Kemampuan floresensi
RB1	√	√	√	√	√
RB2	-	-	√	-	√
RB3	√	-	√	-	√
RB4	√	-	-	√	√
RB5	√	-	√	√	√
RB6	√	-	√	-	√
RB7	-	-	-	-	√
RB8	-	√	√	√	-
RB9	√	-	√	-	-
RB10	√	-	√	-	-

Ket: √ dan - = memiliki/tidak memiliki karakter yang dimaksud

Isolat murni *P. palmivora* dan *C. gleosporioides* diremajakan dan diperbanyak pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk pengujian lebih lanjut. Peremajaan isolat rizobakteri dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat murni pada media NA dengan metode tuang, kemudian diinkubasi pada suhu kamar (28°C) selama 24 jam. Semua tahapan peremajaan dan perbanyakan dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) ESCO EN 1822 Class H13 HEPA Filters.

Pengujian antagonis sepuluh isolat rizobakteri terhadap patogen *P. palmivora* dan *C. gleosporioides* dilakukan pada media PDA steril *dual culture* [27]. Persiapan media tumbuh dilakukan dengan menuangkan 15 ml media PDA yang masih encer ($\pm 50^\circ\text{C}$) pada cawan petri dan ditunggu hingga padat. Biakan murni isolat rizobakteri umur 48 jam diambil menggunakan jarum ose kemudian diletakkan pada cawan petri (berdiameter 9 cm) pada jarak 3 cm dari tepi cawan petri. Selanjutnya, miselia

cendawan *P. palmivora* dan *C. gleosporioides* yang berumur lima hari diambil dengan menggunakan *cork borer* ukuran 0,5 cm dan ditumbuhkan pada media PDA di samping koloni rizobakteri dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri.

Persentase daya penghambatan isolat rizobakteri ditentukan pada hari ketujuh dengan menggunakan rumus [28]:

$$P = (D_c - D_t) / (D_c) \times 100\%$$

Keterangan:

P : Persentase penghambatan (%)

D_c : Diameter cendawan pada kontrol

D_t : Diameter cendawan pada perlakuan isolat rizobakteri.

Klasifikasi aktivitas penghambatan isolat terhadap pertumbuhan patogen didasarkan pada nilai persentase daya hambat menurut [29] dengan kriteria: aktivitas sangat tinggi (++++ = >75%); aktivitas tinggi (+++ = 61-75%);

aktivitas sedang (+= 51-60%); aktivitas rendah (+ = ≤ 50%); tidak ada aktivitas (-).

Pertumbuhan cendawan (patogen) (cm) ditentukan dengan mengukur diameter koloni cendawan setiap hari selama tujuh hari.

Laju pertumbuhan *P. palmivora* dan *C. gleosporioides* (cm) ditentukan berdasarkan pertambahan diameter miselium cendawan sejak diinokulasi hingga tujuh hari pada setiap perlakuan.

Uji potensi isolat rizobakteri dalam menghasilkan HCN (Hidrogen Sianida) ditentukan dengan analisis kualitatif dalam kondisi aerob dan an-aerob. Pengujian dalam kondisi aerob terdiri dari Inokulum rizobakteri sebanyak 2 ml (20%) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 8 ml media King's B cair. Pada tepi tabung reaksi ditempatkan kertas saring yang telah dipotong persegi panjang berukuran 3 x 1 cm dan dijenuhkan dengan asam pikrat 1% dan Na₂CO₃ 10% [30]. Selanjutnya, diinkubasi selama 48 jam dan diamati perubahan warna yang terjadi pada kertas saring dengan interval waktu pengamatan 4, 8 dan 48 jam. Indikator pengamatan berdasarkan adanya perubahan warna pada kertas saring. Indikator tingkat kemampuan bakteri dalam menghasilkan HCN adalah adanya perubahan warna kertas saring menurut [31], dengan kriteria: dari kuning menjadi coklat muda (+ = sedikit HCN), kuning kecoklatan (+= HCN sedang), coklat tua (+++ =

banyak HCN) dan coklat kemerahan (++++ = sangat banyak HCN).

Pengujian secara an-aerob merupakan analisis menggunakan metode yang dikembangkan oleh [32]. Larutan untuk mendeteksi HCN (CDS) terdiri dari 2 g asam pikrat (C₆H₃N₃O₇) dan 8 g natrium karbonat (Na₂CO₃) yang dilarutkan dalam 200 ml air steril. Strip kertas saring steril ditempatkan dalam larutan CDS. Bakteri digoreskan pada media glisin, kemudian potongan kertas saring diletakkan pada bagian tengah tutup cawan petri. Selanjutnya, dilakukan inkubasi pada suhu 28 °C selama tujuh hari. Selama inkubasi, kemampuan agen (isolat rizobakteri) dalam menghasilkan hidrogen sianida diuji secara kualitatif yang terlihat dari perubahan warna kertas saring. Rizobakteri yang tidak mengubah warna kertas saring menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak menghasilkan HCN, sedangkan isolat rizobakteri yang menghasilkan HCN mampu merubah warna kertas saring dari kuning menjadi coklat muda (+= sedikit HCN), coklat tua (+= HCN sedang), merah bata (+++ = banyak HCN), atau merah kehitaman (++++ = sangat banyak HCN).

Data persentase penghambatan dan laju pertumbuhan jamur dianalisis menggunakan Anova (*Analysis of Variance*) dan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk. Semua analisis dilakukan dengan menggunakan SPSS 26.0 (IBM Corp). Sedangkan data pertumbuhan patogen

(*C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora*) hanya dianalisis secara deskriptif berdasarkan nilai rata-rata yang diperoleh pada setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan rizobakteri sebagai agen antagonis salah satunya ditunjukkan dengan

nilai persentase penghambatan pertumbuhan cendawan *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora*. Hasil DMRT persentase penghambatan rizobakteri terhadap cendawan *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora* terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase penghambatan rizobakteri terhadap *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora*

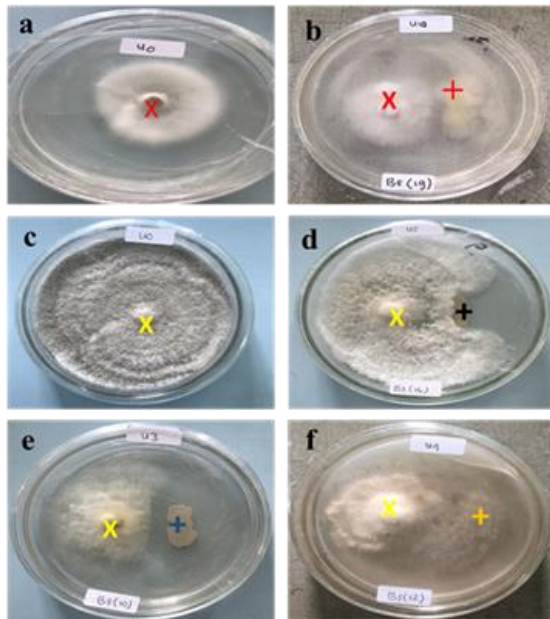
Isolat Rhizobacteria	Persentase penghambatan terhadap <i>C. gleoeosproioides</i> (%)		Persentase penghambatan terhadap <i>P. palmivora</i> (%)	
RB1	9.00	a	26.39	ab
RB2	13.06	a	49.42	bcd
RB3	23.67	a	37.46	abc
RB4	35.79	a	63.61	d
RB5	4.03	a	33.92	abc
RB6	15.15	a	25.49	a
RB7	4.00	a	53.52	cd
RB8	23.21	a	40.41	abc
RB9	4.00	a	38.28	abc
RB10	5.00	a	40.85	abcd

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata menurut DMRT $\alpha = 0.05$

Persentase daya hambat sepuluh isolat rizobakteri yang diuji menunjukkan nilai sebesar 4% – 35,79% terhadap *C. gleoeosproioides*, dan berdasarkan DMRT 5%, kemampuannya dalam menghambat *C. gleoeosproioides* berbeda tidak nyata namun berbeda nyata dalam menghambat *P. palmivora* (Tabel 2.). Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan nilai persentase daya hambatnya, isolat rizobakteri yang diuji mempunyai aktivitas rendah (+) terhadap pertumbuhan *C. gleoeosproioides*. Pengujian rizobakteri terhadap *P. palmivora* memberikan persentase penghambatan sebesar 25,49% - 63,61%, dengan kriteria

aktivitas tergolong rendah (+) hingga tinggi (+++). Isolat RB4 memberikan nilai persentase daya hambat tertinggi dibandingkan isolat rizobakteri lainnya, baik terhadap *C. gleoeosproioides* maupun *P. palmivora*.

Kemampuan isolat rizobakteri dalam menghambat pertumbuhan koloni *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penghambatan pertumbuhan koloni patogen oleh rizobakteri. Pertumbuhan koloni cendawan pada medium: (a) kontrol *C. gleosporioides* (x); (b) *C. gleosporioides* (x) dengan RB10 (+); (c) kontrol *P. palmivora* (x); (d) *P. palmivora* (x) dengan RB5 (+); (e) *P. palmivora* (x) dengan RB3 (+); (f) *P. palmivora* (x) dengan RB4 (+)

Gambar 1 menunjukkan bahwa tanpa rizobakteri (kontrol), pertumbuhan patogen (*C. gleosporioides* (a) dan *P. palmivora* (c)) menjadi tidak terhambat. Hal ini ditunjukkan dari bertambahnya diameter atau radius koloni patogen. Sementara itu, pertumbuhan koloni patogen yang diberi perlakuan rizobakteri menjadi terhambat dan isolat RB4 (f) menunjukkan penghambatan terbesar terhadap pertumbuhan *P. palmivora*. Penghambatan ini juga ditunjukkan dengan peningkatan diameter dan radius koloni yang terkecil dibandingkan isolat lainnya (Gambar 1f.).

Berdasarkan hasil karakterisasi sebelumnya, isolat RB4 juga memiliki kemampuan dalam memfiksasi nitrogen dan menghasilkan IAA [24], serta berpendar (fluoresen) [26]. Kemampuan berfluoresensi

merupakan salah satu ciri fisiologis bakteri yang berpotensi sebagai agen hayati [33]. Salah satu bakteri dengan kemampuan berfluoresen dan mempunyai kemampuan sebagai agen hayati ini adalah *P. fluorescens*. Hal ini juga ditunjukkan dari hasil penelitian [34] bahwa *P. fluorescens* memiliki daya hambat sebesar 51,85% terhadap *P. palmivora* yang menyebabkan penyakit busuk pada durian. Mekanisme bakteri *P. fluorescens* dalam menghambat patogen adalah mekanisme antibiotik yang menghasilkan senyawa *phenazine carboxylate*, *fluorescent siderophores*, *hydrogen cyanide* (HCN), *pyoluteorin*, *pyoverdine*, *pyocyanin*, dan *2,4-diacetyl phloroglucinol* (2,4-DAPG) [35, 36, 37].

Terdapat tujuh isolat yang memiliki kemampuan berfluoresen dari sepuluh isolat rizobakteri yang digunakan pada penelitian ini, salah satunya adalah RB4. Isolat ini juga

memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan jamur dibandingkan keenam isolat lainnya. Perbedaan tersebut disebabkan oleh perbedaan strain yang berarti terdapat perbedaan gen sehingga jenis dan konsentrasi senyawa penghambat pertumbuhan yang dihasilkan pun berbeda. Isolat RB7 mempunyai kemampuan fluoresens, dan nilai persentase daya hambatnya sebesar 53,52% terhadap *P. palmivora*. Isolat rizobakteri lain yang mampu berfluoresensi mempunyai nilai persentase penghambatan kurang dari 50%.

Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa isolat rizobakteri yang diuji berbeda tidak nyata dalam menghambat laju pertumbuhan *C. gleoeosproioides* namun berbeda nyata dalam menghambat laju pertumbuhan *P. palmivora* (Tabel 3). Isolat rizobakteri RB4 memberikan laju pertumbuhan paling rendah terhadap *C. gleoeosproioides* (0,38 cm/24 jam) dan *P. palmivora* (0,28 cm/24 jam), diduga karena RB4 memiliki daya hambat tertinggi terhadap *P. palmivora* dibandingkan isolat lainnya.

Tabel 3. Laju pertumbuhan *C. gleoeosproioides* dan *P. palmivora*

Isolat Rizobakteri	Laju pertumbuhan <i>C. gleoeosproioides</i> (cm/24 hours)		Laju pertumbuhan <i>P. palmivora</i> (cm/24 hours)	
Kontrol	0,61	a	0,99	b
RB1	0,62	a	0,73	ab
RB2	0,50	a	0,43	a
RB3	0,45	a	0,54	ab
RB4	0,38	a	0,28	a
RB5	0,58	a	0,65	ab
RB6	0,53	a	0,68	ab
RB7	0,59	a	0,38	a
RB8	0,45	a	0,52	a
RB9	0,58	a	0,53	ab
RB10	0,63	a	0,49	a

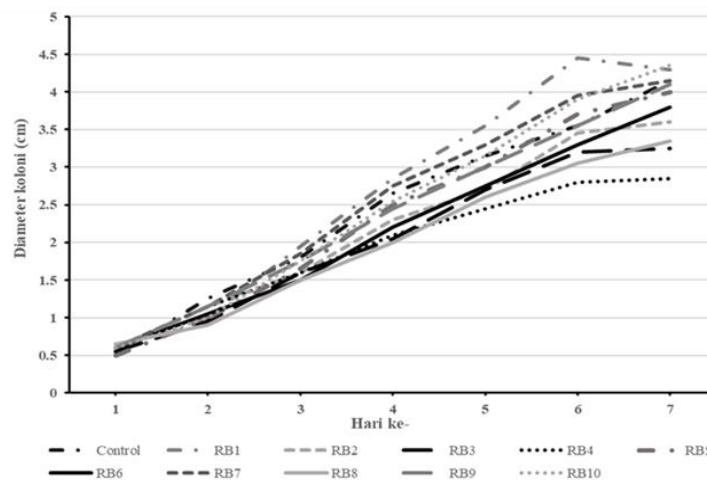
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata menurut DMRT $\alpha=0.05$

Laju pertumbuhan patogen berimplikasi pada masa inkubasi, artinya isolat yang dapat menghambat laju pertumbuhan patogen dapat memperlambat masa inkubasi. Terdapat hubungan antara masa inkubasi dengan diameter koloni dan persentase daya hambat jamur, semakin kecil diameter koloni jamur dan semakin tinggi persentase daya hambat jamur maka masa inkubasi akan semakin lama [38].

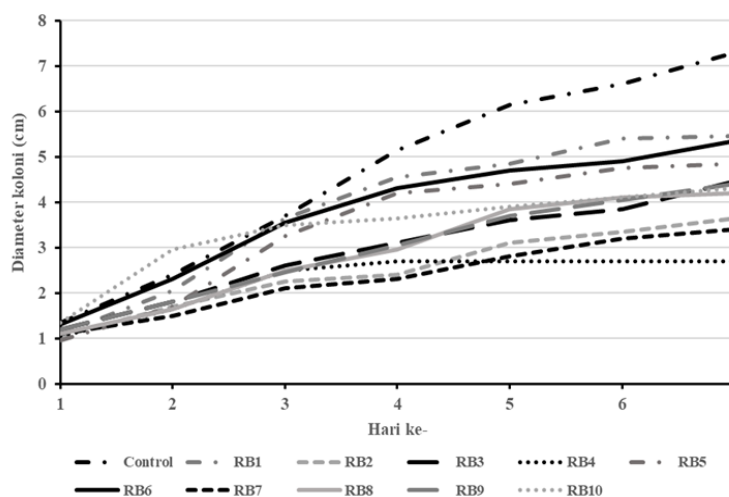
Pertumbuhan patogen (*C. gleoeosproioides* dan *P. Palmivora*) selama tujuh hari ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2. Nilai rata-rata diameter patogen secara umum terus meningkat selama pengamatan pada semua perlakuan rizobakteri. Sebaliknya, isolat RB4 menyebabkan diameter patogen yang terkecil, yaitu 2,85 cm pada *C. gleoeosproioides* dan 2,7 cm pada *P. palmivora*.

Selama tujuh hari pengamatan, diameter atau jari-jari koloni patogen (*C. gleosporioides*) mengalami peningkatan (Gambar 2). Peningkatan diameter atau jari-jari koloni patogen paling rendah ditunjukkan perlakuan isolat RB4. Hal yang sama juga terjadi pada pertumbuhan koloni *C. gleosporioides*. Selama tujuh hari pengamatan diameter atau jari-jari koloni *P. palmivora* juga mengalami

peningkatan (Gambar 3). Di antara sepuluh isolat Rhizobakteri, RB4 menunjukkan penghambatan terbesar terhadap pertumbuhan *P. palmivora*. Hal ini ditunjukkan dengan pertambahan diameter atau jari-jari koloni *P. palmivora* yang paling rendah, bahkan setelah tiga hari pengamatan diameter atau jari-jari koloni relatif tidak bertambah.



Gambar 2. Pertumbuhan patogen *Colletotrichum gleosporioides* pada berbagai isolat rhizobakteri



Gambar 3. Pertumbuhan patogen *Phytophthora palmivora* pada berbagai isolat rizobakteri

Hasil pengujian pada Tabel 4 menunjukkan bahwa dari kesepuluh isolat

rhizobakteri, tidak ada satupun yang mampu memproduksi HCN. Hidrogen sianida (HCN)

yang dikenal sebagai asam sianida merupakan senyawa anorganik. Beberapa organisme seperti bakteri, jamur, tanaman dan ganggang dapat memproduksi senyawa ini [39]. Produksi HCN oleh rhizobakteri merupakan salah satu mekanisme untuk menekan patogen. HCN yang diproduksi oleh rhizobakteri secara tidak langsung meningkatkan ketersediaan fosfat melalui perannya dalam proses geokimia di substrat (misalnya khelasi logam) [40].

Tabel 4. Kemampuan isolat rhizobakteri memproduksi HCN

Isolat Rhizobakteri	Produksi HCN
RB1	-
RB2	-
RB3	-
RB4	-
RB5	-
RB6	-
RB7	-
RB8	-
RB9	-
RB10	-

Keterangan: - = HCN tidak diproduksi

Berdasarkan hasil penelitian, diduga isolat rhizobakteri memiliki mekanisme antagonis yang lain. Mekanisme antagonis tersebut antara lain antibiosis, produksi enzim ekstraseluler (seperti kitinase dan B-1, 3-glukanase) [41], protease [42], atau senyawa siderofor yaitu senyawa pengkhelat ion besi (seperti desferrioxamine) [43, 44]. *Pseudomonas* juga mampu menghasilkan enzim kitinase dan protease yang dapat menghambat perkembangan patogen [45]. Enzim kitinase dapat menyebabkan kelainan pada hifa target jamur seperti perforasi, lisis, dan fragmentasi [46] serta dapat merusak dinding sel jamur [47].

Selain itu, kontak langsung antara isolat jamur (patogen) dengan bakteri (rhizobakteri) dapat menimbulkan mekanisme hiperparasitisme (mikroparasitisme) dengan cara memutar hifa jamur dan melepaskan enzim hidrolitik sehingga merusak komponen penyusun [48].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat RB4 dan RB7 berpotensi sebagai agen antagonis karena mempunyai persentase daya hambat terhadap *P. palmivora* lebih dari 50%. Isolat RB4 juga berpotensi sebagai PGPR karena mampu memfiksasi nitrogen dan menghasilkan IAA, sehingga isolat RB4 dapat menyediakan unsur hara nitrogen dan dapat memacu pertumbuhan tanaman. Isolat rhizobakteri lain yang diuji mempunyai daya hambat terhadap patogen rendah dan masih dapat dikembangkan menjadi pupuk hayati sesuai karakteristiknya. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menguji kemampuan isolat sebagai agen antagonis pada patogen lain dan penelitian uji lapangan untuk isolat yang sudah dikenal sebagai agen antagonis.

PENUTUP

Ucapan terima kasih, penulis sampaikan kepada Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Borneo Tarakan yang telah mendanai penelitian melalui program Penelitian Kompetensi Dosen (RKD), dan

kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] E. Asare-Badiako, A. Addo-Quaye, B. Boakye, J.M. Sarbah, P. Asante, E. Dorm. Incidence and severity of viral and fungal diseases of chili pepper (*Capsicum frutescens*) in some districts in Ghana. *Intl J Plant Soil Sci.* 2015;1:147-59. DOI: 10.9734/IJPSS/2015/16830.
- [2] Nurbailis Y, Yanti Z, Resti A, Djamaan SD, Rahayu. Consortia of endophytic bacteria for controlling *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease in chili plant. *Biodiversitas.* 2023;24(6):3503-11. DOI: 10.13057/biodiv/d240648.
- [3] D.D. De Silva, P.W. Crous, P.K. Ades, K.D. Hyde, P.W.J. Taylor. Lifestyles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. *Fungal Biol Rev.* 2017;31: 155-168. DOI: 10.1016/j.fbr.2017.05.001.
- [4] U. Triasih, A.L. Abadi, A. Muhibbudin, S. Widyaningsih. Morphological and molecular identification as well pathogenicity of the causal agents of fruit rot disease of apple manalagi (*Malus sylvestris*) in Pujon, East Java. *J Trop Plant Pests Dis.* 2023;23(1):56-66. DOI: 10.23960/j.hptt.23156-66.
- [5] M. Kamle, P. Kumar. *Colletotrichum gloeosporioides*: Pathogen of anthracnose disease in mango (*Mangifera indica* L.) in Fungal Biology Current Trend in Plant Disease Diagnostic and Management. Switzerland: Springer International Publishing, 2016; p. 207-19. DOI: 10.1007/978-3-319-27312-9_9.
- [6] B. Vanegtern, M. Rogers, S. Nelson. Black pod rot of cacao caused by *Phytophthora palmivora*. *Plant Dis.* 2015;108. www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/PD-108.pdf.
- [7] D. Adeniyi. Diversity of cacao pathogens and impact on yield and global production. Chapter 3, in *Theobroma cacao* deploying science for sustainability of global cocoa economy. United Kingdom London: Intechopen, 2019; p. 164. www.intechopen.com/books/7005. DOI: 10.5772/intechopen.73761.
- [8] B.A. Khan, M.A. Nadeem, H. Nawaz, M.M. Amin, G.H. Abbasi, M. Nadeem, M. Ali, M. Ameen, M.M. Javaid, R. Magbool, M. Ikram, M.A. Ayub. Pesticides: Impacts on agriculture productivity, environment, and management strategies. in *Emerging Contaminants and Plants*. Switzerland AG: Springer Nature, 2023; p. 109-33.
- [9] M.T. El-Saadony, A.M. Saad, S.M. Soliman, H.M. Salem, A.I. Ahmed, M. Mahmood, A.M. El-Tahan, A.A.M. Ebrahim, T.A.A. El-Mageed, S.H. Negm, S. Selim, A.O. Babalghith, A.S. Elrys, K.A. El-Tarabily, S.F. AbuQamar. Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: mechanisms, challenges and future perspectives. *Front Plant Sci.* 2022;3(923880):1-19. DOI: 10.3389/fpls.2022.923880.
- [10] H.A. Pantigoso, D. Newberger, J.M. Vivanco. The rhizosphere microbiome: Plant-microbial interactions for resource acquisition. *J Appl Microbiol.* 2020;133(5): 2864-76. DOI: 10.1111/jam.15686.
- [11] E.B. Felestrino, I.T. Vieira, W.L. Caneschi, I.F. Cordeiro, R.A.B. Assis, C.G.C. Lemes, N.P. Fonseca, A.B. Sanchez, J.C.C. Cepeda, J.A. Ferro, C.C.M. Garcia, F.F. do Carmo, L.H.Y. Kamino, L.M. Moreira. Biotechnological potential of plant growth-promoting bacteria from the roots and rhizospheres of endemic plants in ironstone vegetation in southeastern Brazil. *World J Microb Biot.* 2018;34(156):1-14. DOI: 10.1007/s11274-018-2538-0.
- [12] S. Larbi-Koranteng, R.T. Awuah, F. Kankam. Biological control of black pod disease of cocoa (*Theobroma cacao* L.) with *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aspergillus* sp., and *Penicillium* sp. in vitro and in the field. *Journal of Microbiology and Antimicrobials.* 2020;12(2):52-63. DOI: 10.5897/JMA2020.0434.

- [13] S.W. Pratama, S. Sukamto, I.N. Asyiah, Y.V. Ervina. Growth inhibition of cocoa pod rot fungus *Phytophthora palmivora* by *Pseudomonas fluorescence* and *Bacillus subtilis* bacteria. Pelita Perkebunan. 2013;29(2):120-27. DOI: 10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v29i2.59.
- [14] R. Thilagam, N. Hemalatha. Plant growth promotion and chilli anthracnose disease suppression ability of rhizosphere soil actinobacteria. J Appl Microbiol. 2019;126(6):1835-49. DOI: 10.1111/jam.14259.
- [15] U. Conrath, G.J.M. Beckers, C.J.G. Langenbach, M.R. Jaskiewicz. Priming for enhanced defense. Annu Rev Phytopathol. 2015;53:97–119. DOI: 10.1146/annurev-phyto-080614-120132.
- [16] N. Xiang, K.S. Lawrence, P.A. Donald. Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. J Phytopathol. 2018;166:449-458. DOI: 10.1111/jph.12712.
- [17] J. Kohl, R. Kolnaar, W.J. Ravensberg. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. Front Plant Sci. 2019;10:845. DOI: 10.3389/fpls.2019.00845.
- [18] Babbal, Advitiya, Y.P. Khasa. 2017. Microbes as biocontrol agents in Probiotics and Plant Health. Singapore Pte Ltd: Springer Nature, 2017; p. 507-522. DOI: 10.1007/978-981-10-3473-2_24.
- [19] S.S.K.P. Vurukonda, D. Giovanardi, E. Stefani. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. Int. J Mol Sci. 2018;19(952):1-26. DOI: 10.3390/ijms19040952.
- [20] B. Khameneh, M. Iranshahy, V. Soheili, and B.S.F. Bazzaz. Review on Plant Antimicrobials: A Mechanistic Viewpoint. Antimicrobial Resistance and Infection Control. 2019;8(118):1-28.
- [21] E. Etebu, I. Ariekpar. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. Int J Appl Microbiol Biotechnol. Res. 2016;4:90-101.
- [22] D. Zhang, R. Qiang, Z. Zhou, Y. Pan, S. Yu, W. Yuan, J. Cheng, J. Wang, D. Zhao, J. Zhu, Z. Yang. Biocontrol and action mechanism of *Bacillus subtilis* lipopeptides' fengycins against *Alternaria solani* in potato as assessed by a transcriptome analysis. Front Microbiol. 2022;13(861113):1-18. DOI: 10.3389/fmicb.2022.861113.
- [23] W.J. Van Jaarsveld, F. Halleen, L. Mostert. In vitro screening of *Trichoderma* isolates for biocontrol of black foot disease pathogens. Phytopathol Mediterr. 2020;59(3):465-471. DOI: 10.14601/Phyto-11173.
- [24] E.H. Pudjiwati, R. Rindiani. Prospek rizobakteri penghasil *indole butyric acid* (IAA) dan penyedia nitrat sebagai plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). J-PEN Borneo: Jurnal Ilmu Pertanian. 2022;5(1). E-ISSN: 2599-2872, P-ISSN: 2549-8150.
- [25] E.H. Pudjiwati, Amarullah, S. Mukrimah. Mewujudkan komitmen pengelolaan kekayaan potensi lokal di wilayah perbatasan. Prosiding Seminar Nasional Humaniora dan Saintek II; 2019.
- [26] D.A. Al Maliki. Seleksi rhizobakteri sebagai agens pemacu pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.) [Sarjana Skripsi]. Kalimantan Utara: Universitas Borneo Tarakan; 2019.
- [27] Muzakir, Hifnalisa, J. Jauharlina, R. Sriwati. Antagonistic screening of *Trichoderma* spp. isolated from patchouli rhizosphere. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2024; 951 (012021): 1-6. DOI:10.1088/1755-1315/951/1/012021.
- [28] A.O.A. Osman, I.S. Mohamed. Antifungal evaluation of leaf extracts and fungicide against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causal agent wilt of tomato. Bioteknologi. 2017;14(1). DOI: 10.13057/biotek/c140101.
- [29] E.H. Pudjiwati, S. Zahara, D. Sartika. Isolasi dan karakterisasi rhizobakteri yang berpotensi sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman. Jurnal Borneo Saintek. 2019;2(2). E-ISSN 2599-3313, P-ISSN 2615-434X.

- [30] H. Lorck. Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiology plant*, 1: 142-146.
- [31] R.J. Kremer, S. Thouraya. Cyanide Production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Current Microbiology*. 2001;43:182-86.
- [32] A.W. Bekker, B. Schippers. Microbial cyanide relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.- mediated plant growth- stimulation. *Soil Biol. Biochem*. 1987;19:249-256.
- [33] A. Munif. Studies on the Importance of Endophytic Bacteria for the Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* on Tomato [Dissertation Doktor]. German: Freiderich-Wilhelms-Universitat Bonn; 2001.
- [34] V.T. Tran, H.T. Nguyen, H.T. Nguyen, D.D. Le. Isolation and characteristics of *Pseudomonas fluorescens* to inhibit *Phytophthora palmivora* causing rot disease in durian. *The Journal of Agriculture and Development*. 2023;22(3):31-38. DOI: 10.52997/jad.4.03.2023.
- [35] D. Majumder, J.D. Kongbrailatpam, E.G. Suting, B. Kangjam, D. Lyngdoh. *Pseudomonas fluorescens*: A potential biocontrol agent for management of fungal diseases of crop plants. *in Future Challenges in Crop Production Against Fungal Pathogens*. Springer Nature, 2014; p. 317-342. DOI: 10.1007/978-1-4939-1188-2_11.
- [36] J. Mishra, N.K. Aror. Secondary metabolites of fluorescent pseudomonads in biocontrol of phytopathogens for sustainable agriculture. *App Soil Ecol*. 2018;125:35-45. DOI: 10.1016/j.apsoil.2017.12.004.
- [37] L. Zhang, M. Yan, Y. Ren, Y. Chen, S. Zhang. Zinc regulates the hydraulic response of maize root under water stress conditions. *Plant Physiol Biochem*. 2021;159:123-134. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.1.
- [38] A.A. El-Shahir, D.A. El-Wakil, A.A.H.A. Latef, N.H. Yousef. Bioactive compounds and antifungal activity of leaves and fruits methanolic extracts of *Ziziphus spina-christi* L. *Plants (Basel)*. 2022;11(6):746. DOI: 10.3390/plants11060746.
- [39] A. Sehwat, S.S. Sindhu, B.R. Glick. Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere*. 2022;32(1):15-38. DOI: 10.1016/S1002-0160(21)60058-9.
- [40] T. Rijavec, A. Lapanje. Hydrogen cyanide in the rhizosphere: Not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. *Front Microbiol*. 2016;7(1785). DOI: 10.3389/fmicb.2016.01785.
- [41] B. Prapagdee, C. Kuekulvong, S. Mongkulsuk. Antifungal potensial of extracellular metabolites produce by *Streptomyces hygroscopicus* against phytophthogenic fungi. *International Journal of Biological Science*. 2008;4(5):330-37.
- [42] A.K. Singh, H.S. Chhatpar. Purification and characterization of chitinase from *Paenibacillus* sp. D1. *Appl Biochem Biotechnol*. 2011;164(1):77-88. DOI: 10.1007/s12010-010-9116-8
- [43] M. Imbert, M. Bechet, R. Blondeau. Comparison of the main siderophores produced by some species of *Streptomyces*. *Curr Microbiol*. 1995;31: 129-133. DOI: 10.1007/BF00294289.
- [44] D. Macagnan, R.S. Romeiro, A.W.V. Pomella, J.T. de Souza. Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Maniliophthora (ex Crinipellis) perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *J Biol Control*. 2008;47:309-14. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.08.016.
- [45] I. Dimkić, T. Janakiev, M. Petrović, G. Degrassi, D. Fira. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms - A review. *Physiol Mol Plant Pathology*. 2022;117(101754). DOI: 10.1016/j.pmpp.2021.101754.
- [46] W. Firdausi, L. Sulistyowati, L.Q. Aini. Exploration and antifungal assay of endophytic fungi as biocontrol of onion purple blotch disease caused by *Alternaria porri (Ell) Cif* in vitro. *AGRIVITA, J Agr Sci*. 2021;43(1):114-124. DOI: 10.17503/agrivita.v43i1.2838.
- [47] A. Sharma, S.K. Arya, J. Singh, B Kapoor, JS Bahtti, A Suttee, G. Singh. Prospects of

chitinase in sustainable farming and modern biotechnology: an update on recent progress and challenges. *Biotechnol Genet Eng.* 2023;1:1-31. DOI: 10.1080/02648725.2023.2183593.

- [48] Y.Y. Chen, P.C. Chen, T.T. Tsay. The biocontrol efficacy and antibiotic activity of *Streptomyces plicatus* on the oomycete *Phytophthora capsica*. *Journal Biological*

Control. 2016;2(11): 1-27. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2016.02.011.