

UJI ANTAGONISTIK ACTINOMYCETES ASAL LIMBAH KULIT BAWANG MERAH TERHADAP PATOGEN TANAMAN

¹⁾Reni Nurjasmi dan ²⁾Suryani

^{1), 2)} Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian

Universitas Respati Indonesia, Jl. Bambu Apus I No. 3, Cipayung - 13890

Abstrak

Pertanian Indonesia yang sangat tergantung pada fungisida kimia, maka usaha untuk memproduksi pestisida hayati di dalam negeri sangat memungkinkan. Alam Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati merupakan sumber daya alam potensial untuk dimanfaatkan bagi kesejahteraan rakyat. Actinomycetes merupakan agen pengendali hayati yang disarankan sebagai alternatif dalam meminimalkan penggunaan fungisida kimia karena mengandung senyawa antijamur. Tujuan penelitian adalah memperoleh isolat Actinomycetes yang memiliki daya hambat terhadap jamur patogen tanaman. Target penelitian adalah mendapatkan isolat Actinomycetes yang berpotensi sebagai pestisida hayati yang mampu mengendalikan *F. oxysporum* dan *S. rolfsii*.

Untuk mencapai tujuan tersebut, metode penelitian yang digunakan adalah eksploratif dan eksperimental. Tahapan kegiatan yang dilakukan adalah melakukan isolasi Actinomycetes pada limbah kulit bawang merah menggunakan media *strach nitrate agar* dengan metode *pour plate*, selanjutnya dilakukan identifikasi morfologi isolat dengan metode *slide culture* kemudian diamati di bawah mikroskop pembesaran 1000X. Isolat murni Actinomycetes diuji daya antagonisnya terhadap *F. oxysporum* dan *S. rolfsii* menggunakan metode peracunan media jamur patogen.

Hasilnya diperoleh sebanyak 16 isolat Actinomycetes asal limbah kulit bawang merah. Isolat tersebut didominasi oleh kelompok Streptomyces. Hasil uji antagonis menunjukkan terdapat 2 isolat yang positif mampu menghambat *F. oxysporum* yaitu isolat A10 (30,77%) dan A1 (15,38%) serta 2 isolat yang positif mampu menghambat *S. rolfsii* yaitu isolat A3 (34,74%) dan A11 (38,95%).

Kata kunci: Actinomycetes, limbah kulit bawang merah, uji antagonistik, jamur *patogen tanaman*

1. PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki iklim yang sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme, salah satunya adalah jamur. Menurut Agrios (1997), lebih dari 10.000 spesies jamur merupakan patogen pada tanaman. Kerugian pra panen akibat jamur pada pertanian di seluruh dunia mencapai 12% dan jumlah ini jauh lebih tinggi di negara-negara berkembang (Kim *et al.*, 2003). Tingginya kerugian yang diakibatkan oleh penyakit akibat infeksi jamur mendorong petani menggunakan fungisida kimia.

Penggunaan fungisida kimia secara terus-menerus dapat menyebabkan resistensi patogen, keracunan pada manusia dan mencemari lingkungan (Hadizadeh *et al.*, 2009). Rata-rata peningkatan penggunaan pestisida kimia per tahun mencapai 6,33% namun pada kenyataannya di lapangan diperkirakan mencapai 10 – 20%. Penggunaan pestisida kimia berdampak negatif tidak hanya bagi tanaman dan hewan namun juga manusia. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) sampai tahun 2000 mencatat sedikitnya terjadi 3 juta kasus

keracunan pestisida setiap tahun dengan 220.000 korban jiwa.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati salah satunya adalah Actinomycetes (Djunaedy, 2009). Actinomycetes merupakan mikroorganisme tanah yang umum dijumpai pada berbagai jenis tanah. Populasinya berada pada urutan kedua setelah bakteri, bahkan kadang-kadang hampir sama. Actinomycetes hidup sebagai safreofit dan aktif mendekomposisi bahan organik, sehingga dapat meningkatkan kesuburan tanah. Bakteri ini telah diketahui sebagai penghasil berbagai senyawa bioaktif termasuk anti jamur.

Actinomycetes dapat tumbuh pada berbagai habitat ekstrim seperti limbah, namun belum ada penelitian mengenai eksplorasi bakteri ini pada limbah kulit bawang merah. Limbah tersebut termasuk sebagai habitat ekstrim karena tidak semua organisme mampu bertahan hidup pada limbah tersebut. Hal ini dikarenakan kulit bawang merah mengandung senyawa anti serangga. Limbah ini diprediksi akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya

kebutuhan bawang merah akibat pertambahan jumlah penduduk. Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2014, produksi bawang merah pada tahun 2014 mencapai 1,234 juta ton. Jika dibandingkan tahun 2013, produksi meningkat 22,08 persen. Besarnya produksi bawang merah ini mengakibatkan tingginya limbah kulit bawang merah, hal ini akan berdampak buruk bagi kesehatan dan lingkungan. Untuk mengatasi masalah tersebut, selain sebagai bahan kompos maka limbah kulit bawang merah juga dapat digunakan sebagai bahan untuk eksplorasi mikroba penghasil senyawa bioaktif seperti Actinomycetes yang memiliki kemampuan menghambat *jamur patogen tanaman*. Tujuan penelitian ini adalah mengeksplorasi limbah kulit bawang merah untuk menemukan Actinomycetes yang mempunyai daya hambat terhadap jamur patogen tanaman.

2. TUJUAN PENELITIAN

Untuk mendapatkan isolat Actinomycetes yang berpotensi sebagai pestisida hayati yang mampu mengendalikan *F. oxysporum* dan *S. rolfsii*.

ALAT dan BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan adalah medium *starch nitrate agar*, agar bakteri, *potato dextrose agar*, *malt extract agar*, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2HPO_4 , NaCl, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $CaCl_2$, biakan murni *Fusarium oxysporum*, biakan murni *Sclerotium rolfsii*, biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*. Alat-alat yang digunakan adalah *object glass*, *cover glass*, tabung sentrifus, sentrifus, *microtube* 2 ml, *blue tips* 1000 μ l, timbangan analitik, *shaker*, *laminair air flow*, mikroskop dan *hotplate*.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi dan eksperimen. Penelitian eksplorasi dilakukan dengan cara mengisolasi Actinomycetes dari limbah kulit bawang merah. Eksperimen dengan menguji isolat Actinomycetes asal limbah kulit bawang merah terhadap jamur patogen tanaman untuk mengetahui daya antijamurnya.

3.1. Tempat dan Waktu

Tempat :

CARA KERJA

a) Pengomposan limbah kulit bawang merah dan pengambilan cuplikan sampel

Sampel yang digunakan sebagai sumber Actinomycetes adalah limbah kulit bawang merah yang belum menjadi kompos (12 jam), kompos setengah matang (3 hari), dan kompos yang sudah matang (6 hari). Metode pengambilan cuplikan sampel menggunakan metode transek pada 3 titik pengambilan limbah 12 jam, 3 hari dan 6 hari untuk masing-masing sampel.

b) Isolasi Actinomycetes

Sebanyak masing-masing 10 gram sampel limbah kulit bawang merah dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 90 ml larutan NaCl 0,85% steril, kemudian digoyang pada shaker selama 30 menit. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu 70°C selama 1 jam, kemudian larutan disaring menggunakan kertas saring steril dan ditampung pada erlenmeyer baru sebagai pengenceran 10^{-1} , kemudian larutan NaCl 0,85% dituang ke dalam 3 buah tabung reaksi masing-masing 9 ml sebagai serial pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-4} . Sebanyak 0,1 ml larutan dari masing-masing serial pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri steril diikuti penambahan 5 ml medium *Soluble Starch Nitrate Agar* secara *pour plate*, kemudian cawan petri digoyang sampai homogen. Setelah media padat, media tersebut diinkubasi pada suhu ruang sampai koloni Actinomycetes tumbuh. Setelah koloni Actinomycetes tumbuh, koloni tersebut dimurnikan dengan metode gores untuk memperoleh koloni tunggal, kemudian koloni tunggal ditumbuhkan pada media agar miring.

c) Identifikasi Morfologi Actinomycetes

Morfologi isolat Actinomycetes murni diidentifikasi menggunakan metode *cultur slide*, selanjutnya diamati di bawah mikroskop pembesaran 100X.

d) Uji Antagonistik Actinomycetes terhadap *F. oxysporum* dan *S. rolfsii*

Uji daya hambat Actinomycetes menggunakan metode peracunan medium tumbuh *F. oxysporum* dan *S. rolfsii*. Medium yang digunakan ialah PDA. Sebanyak satu ose Actinomycetes berumur 14 hari diinokulasikan ke dalam 10 ml medium *starch nitrate* cair di dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi pada *shaker*

dengan kecepatan 100 rpm selama 14 hari. *Starch nitrate* cair yang mengandung biakan Actinomycetes, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung tabung sentrifus dan disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan dipanaskan pada inkubator pada 65 °C selama 30 menit. Supernatan selanjutnya didiamkan pada suhu ruang selama 60 menit dan dipanaskan kembali selama 30 menit pada suhu

yang sama. Cairan yang mengandung senyawa bioaktif dicampurkan ke dalam medium PDA cair (50 °C). Medium ini dituang ke dalam cawan petri, selanjutnya diinokulasikan *F. oxysporum* dan *S. rolfisii* yang berumur 7 hari dan diinkubasi pada suhu ruang 28°C selama 3 hari, kemudian dihitung persentase daya hambat Actinomycetes terhadap jamur patogen tersebut dengan menggunakan rumus menurut Nurul (2012) sebagai berikut:

$$P = \frac{\text{diameter jamur pada kontrol} - \text{diameter jamur perlakuan}}{\text{diameter jamur pada kontrol}} \times 100\%$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi Actinomycetes

Isolat Actinomycetes asal limbah kulit bawang merah diisolasi menggunakan metode pembiakan pada media spesifik Actinomycetes yaitu Starch Nitrate Agar (SNA) dengan metode *pour plate*. SNA merupakan media selektif yang digunakan untuk isolasi actinomisetes, penggunaan media ini menurut Riyanti (2012) dapat meminimalisir kontaminasi bakteri lain. Koloni Actinomycetes yang tumbuh pada media SNA memiliki berbagai macam penampakan warna, seluruh isolat memiliki permukaan yang tidak mengkilap, dengan diameter kecil (3–10 mm), koloninya tumbuh sangat lambat yaitu 14 hari dan menempel erat pada permukaan agar setelah diinkubasikan, permukaan koloninya menghasilkan spora yang berbentuk seperti serbuk atau tepung.

Pada penelitian ini diperoleh 16 jenis koloni Actinomycetes. Masing-masing koloni dipurifikasi menggunakan media *starch nitrate agar* untuk memperoleh isolat Actinomycetes yang murni. Inkubasi dilakukan pada suhu 28°C selama 2 minggu. Jumlah tersebut tergolong kecil dibandingkan dengan jumlah total Actinomycetes yang terdapat di dalam tanah. Menurut Amman *et al.* (1995), isolasi bakteri menggunakan metode pembiakan atau kultur pada media buatan hanya mampu mendeteksi sebagian kecil dari total bakteri yang ada, yaitu sekitar 0,001-15%, tergantung kondisi lingkungan.

Kelompok Actinomycetes yang diperoleh pada penelitian ini didominasi oleh Streptomyces. Hal ini dapat dilihat dari bentuk koloni, sesuai dengan ciri-ciri yang disebutkan Agrios (2005), bahwa koloni Actinomycetes seperti Streptomyces pada media biakan

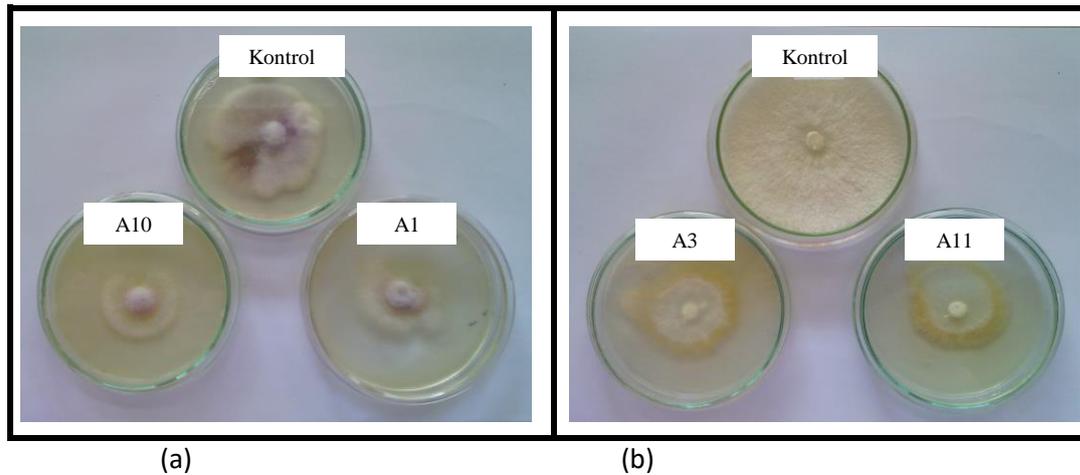
berukuran kecil (diameter 1-10 mm), pada awalnya permukaan agak licin dan lama kelamaan terdapat jaringan miselium yang menyebabkan permukaan koloni bertepung.

Actinomycetes, terutama Streptomyces banyak menarik minat para peneliti karena diindikasikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik terbanyak. Sekitar 70% di antara antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh anggota genus *Streptomyces* (Ambarwati dan Eni, 2012). Sebanyak lebih dari 500 jenis antibiotik telah dihasilkan oleh anggota genus *Streptomyces* dan 60 jenis antibiotik telah diaplikasikan di bidang pengobatan, pertanian dan industri (Madigan *et al.*, 2003).

Uji Antagonistik Actinomycetes terhadap Jamur Patogen

Uji daya hambat Actinomycetes menggunakan metode peracunan medium tumbuh *F. oxysporum* dan *S. rolfisii* dengan masa inkubasi selama 7 hari seperti yang disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan pengujian didapatkan 2 isolat yang positif dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* yaitu isolat A10 (30,77%) dan A1 (15,38%) serta 2 isolat yang positif dapat menghambat pertumbuhan *S. rolfisii* yaitu isolat A3 (34,74%) dan A11 (38,95%). Variasi diameter penghambatan pada masing-masing isolat. Diduga variasi persentase zona hambatan yang terbentuk dikarenakan adanya perbedaan daya antagonisme dari masing-masing isolat Actinomycetes dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen. Perbedaan ini diduga dipengaruhi oleh jenis, kualitas dan kuantitas metabolit sekunder yang dihasilkan. Hartanto dan Eti (2016) menyebutkan bahwa senyawa yang dihasilkan oleh Actinomycetes dapat berdifusi ke media SNA. Senyawa ini mampu menyebabkan hifa

jamur patogen terpotong-potong sehingga pertumbuhan hifa tidak normal



Gambar 1. Penghambatan senyawa antibiotik Actinomycetes terhadap jamur patogen. Ket: (a) *F. oxysporum* dan (b) *S. rolfii*

Diduga variasi persentase zona hambatan yang terbentuk dikarenakan adanya perbedaan daya antagonisme dari masing-masing isolat Actinomycetes. Menurut Soares et al. (2006), mekanisme antagonis yang dimiliki oleh Actinomycetes ini diduga disebabkan oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan, baik berupa enzim hidrolitik dan komponen metabolit sekunder lainnya. Aktivitas kitinase menunjukkan fungsi yang lebih efisien dalam menghambat pertumbuhan miselium dan germinasi spora. Actinomycetes memiliki kemampuan kitinolitik yaitu aktivitas yang dapat mendegradasi kitin, sehingga pertumbuhan fungi patogen menjadi terhambat.

Hasil uji daya hambat tidak memperoleh isolat yang mempunyai daya hambat sekaligus terhadap kedua jamur patogen. Penghambatan jamur patogen uji oleh isolat Actinomycetes diasumsikan akibat adanya senyawa antijamur hasil metabolit sekunder Actinomycetes yang disekresikan pada media. Semakin banyak senyawa antijamur yang disekresikan ke media maka semakin besar daya hambatnya (Susilowati et al., 2007).

5. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari 16 isolat aktinomisetes yang telah diisolasi terdapat isolat dengan persentase penghambatan terbesar terhadap *F.*

oxysporum yaitu A10 (30,77%) dan *S. rolfii* yaitu A3 (34,74%).

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, N.G. 1997. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Edisi Ketiga. Terjemahan M. Busnia. UGM-Press, Yogyakarta.
- . 2005. Plant Pathology- Fifth Edition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. United States of America.
- Amann, R. I., W. Ludwig, and K. H. Schleifer. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59:143-169.
- Ambarwati dan Eni, P. 2012. Keanekaragaman *Streptomyces* yang Berasosiasi dengan Rhizosfer Jagung (*Zea mays*). *Prosiding Seminar Nasional Biologi* 9 (1): 513-517.
- Hadizadeh I., B. Peivastegan, H. Hamzehzarghani. 2009. Antifungal Activity of Essential Oils From Some Medicinal Plants of Iran Against *Alternaria alternata*. *American Journal of Applied Sciences* 6 (5): 857-861.
- Djunaedy, A. 2009. Biopestisida sebagai Pengendali Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) yang Ramah Lingkungan. *Embryo* Vol. 6 No. 1. Juni, 2009. ISSN 0216-0188.
- Hartanto, S. dan Eti, H.K. 2016. Pengaruh Peghambatan Aktinomisetes terhadap

- Pertumbuhan Fungi *Colletotrichum acutatum* Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai Secara In Vitro. Prosiding Seminar Nasional II Tahun 2016. Kerjasama Prodi Pendidikan Biologi FKIP dengan Pusat Studi Lingkungan dan Kependudukan (PSLK) Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, 26 Maret 2016.
- Kim, M. K., Choi, G.J., & Lee, H.S. 2003. Fungicidal *Curcuma Longa* L. Rhizome-Derived Curcumin Against Phytopathogenic Fungi In A Greenhouse. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1578-1581.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, P. 2003. *Biology of Microorganism*. 10th Edition. Prentice Hall. USA.
- Nurul, W. 2012. Kajian Aktinomisetes Sebagai Agens Hayati Untuk Pengendalian *Sclerotium rolfsii* dan Pembiakannya Pada Media Limbah Organik Padat. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Riyanti., Aziz, S., Sabdono, A. dan Radjasa, K. 2012. Deteksi Gen NRPS Aktinomisetes Symbion Rumput Laut pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) yang Disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. capsici. *AGROTROP*. 2(2): 151-159.
- Soares, A.C.F., Sousa, C.S., Garrido, M.S., Perez, J.O., dan Almeida, N.S. 2006. Soil Streptomyces with In Vitro Activity Against The Yam Pathogens *Curvularia eragrostides* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37: 456-461.
- Susilowati, D.N., Ruth, D.H., dan Erni, Y. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Aktinomisetes Penghasil Anti-bakteri Enteropatogen *Eschericia coli* K1.1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes* 5407. *Jurnal AgroBiogen*. 3(1): 15-23. (In Indonesian).