

**Bakteri Asal Wakatobi Menghambat Pertumbuhan
Koloni *Alternaria porri* dan *Fusarium oxysporum*
Penyebab Penyakit Pada Bawang Merah Secara *in Vitro***

**Wakatobi Native Bacteria Inhibit The Colony Growth of
Alternaria porri and *Fusarium oxysporum* of Shallots in
in Vitro Study**

Gusti Ayu Kade Sutariati*, Andi Khaeruni, Abdul Madiki
Universitas Halu Oleo, Kendari 93232

ABSTRAK

Pengendalian hayati penyakit tanaman berbasis pemanfaatan mikroba penting untuk mengurangi penggunaan pestisida kimia. Penelitian bertujuan untuk mengetahui daya hambat dan mekanisme penghambatan secara *in vitro* isolat bakteri endofit asal Wakatobi sebagai pengendali hayati penyakit layu fusarium dan bercak ungu pada tanaman bawang merah. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Unit Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo. Penelitian ini disusun dalam rancangan acak lengkap yang terdiri atas 9 perlakuan bakteri endofit (Be03, Be02, Ke03, Ke05, Te01, Te05, Re01, Re05, dan Wae05) dengan 3 ulangan. Pengujian daya hambat bakteri endofit terhadap patogen dilakukan dalam 2 tahap, yaitu terhadap *Alternaria porri* dan *Fusarium oxysporum*. Selain mengamati daya hambat diamati juga kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa HCN. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 2 isolat bakteri endofit yang memiliki kemampuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan *A. porri* dan *F. oxysporum*, yaitu Te05 dan Be03. Isolat Be03 juga mampu memproduksi senyawa HCN. Diperlukan penelitian lanjutan untuk menguji keefektifan kedua isolat tersebut sebagai pengendali hayati penyakit tanaman bawang merah dalam skala lapangan.

Kata kunci: *Alternaria porri*, bakteri endofit, daya hambat, *Fusarium oxysporum*, HCN

ABSTRACT

Biological control of plant diseases based on the usage of microbes is important to reduce the use of chemical pesticides. The aim of this study was to determine the inhibitory and inhibitory mechanism *in vitro* of native endophytic bacterial isolates from Wakatobi as biological control of fusarium wilt and purple spots on shallot plants. The research was carried out at the Agronomy Unit of Agrotechnology Laboratory, Agriculture Faculty, Halu Oleo University Kendari. The research was arranged in a Completely Randomized Design (RAL), consisting of 9 treatments of endophytic bacterial isolates, namely Be03, Be02, Ke03, Ke05, Te01, Te05, Re05, Re05, and Wae05. The experiment was repeated 3 times with 27 treatment units in total. The inhibitory test of endophytic bacteria on the tested pathogens was carried out in 2 steps, against *Alternaria porri* and *Fusarium oxysporum*. In addition to observing the inhibition mechanism may involve. The ability of the endophytic bacteria isolates in producing HCN compounds was also tested. The results showed that endophytic bacteria had the ability to inhibit

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo.
Jalan HEA Mokodompit, Kampus Hijau Bumi Tridharma, Anduonohu, Kendari 93232.
Posel: +62-81341780954, surel: sutariati69@yahoo.co.id

the growth of pathogenic fungi *A. porri* and *F. oxysporum*. Among the 9 isolates tested, there were 2 endophytic bacterial isolates which had the best ability to inhibit the growth of pathogenic *A. porri* and *F. oxysporum* fungi namely Te05 and Be03. Be03 isolates also have a high ability in producing HCN compounds, but no for Te05. Further research is needed to assay the effectiveness of those 2 isolates as biological control for diseases of shallot in a larger scale in the field.

Key words: *Alternaria porri*, endophytic bacteria, *Fusarium oxysporum*, inhibitory, HCN

PENDAHULUAN

Salah satu permasalahan dalam budi daya ialah penggunaan benih bervigor rendah (benih asalan) dan infeksi patogen di lapangan. Penyakit layu fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*) dan bercak ungu (*Alternaria porri*) merupakan kendala penting dalam budi daya bawang merah. Penyakit layu fusarium dapat menyebabkan kehilangan hasil mencapai 50% (Wiyatiningsih 2013), sedangkan penyakit bercak ungu dapat menurunkan produksi hingga 40% .

Kabupaten Wakatobi merupakan salah satu daerah penghasil bawang merah di Sulawesi Tenggara. Daerah ini memiliki topografi berbukit dan bergelombang dengan kondisi tanah marjinal. Para petaninya membudidayakan bawang merah dengan cara konvensional, tanpa pupuk kimia dan pestisida sehingga kondisi tanahnya masih alami. Mikroba indigenos (bakteri endofit) yang diisolasi dari tanaman bawang merah di Wakatobi terbukti efektif meningkatkan viabilitas dan vigor benih bawang merah (Sutariati *et al.* 2019). Bakteri endofit sebagai agens biokontrol memiliki kelebihan karena mempunyai kemampuan bertahan terhadap tekanan biotik dan abiotik (Resti *et al.* 2013). Sicuia *et al.* (2012) melaporkan bakteri strain *Bacillus* sp. mampu menghambat sporulasi cendawan patogen *Fusarium*. Selain itu, senyawa-senyawa antibiosis dari *Pseudomonas* sp. dapat menghambat perkecambahan spora *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme* dan *Colletotrichum acutatum* sebesar 82.7%, 67.6%, dan 67.3% (Mishra 2011). Penelitian ini bertujuan menentukan kemampuan bakteri endofit menghambat pertumbuhan koloni patogen *A. porri* dan *F. oxysporum*, serta menganalisis

kemampuannya memproduksi HCN sebelum direkomendasikan sebagai agens pengendali hayati pada tanaman bawang merah.

BAHAN DAN METODE

Perbanyak Isolat Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit ditumbuhkan dalam medium TSA (untuk *Bacillus* spp.) atau King's B (untuk *Pseudomonas* spp.) padat dan diinkubasi selama 48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh disuspensikan dalam akuades steril sampai mencapai kerapatan populasi 10^9 cfu mL⁻¹ (Bai *et al.* 2003). Bakteri endofit yang diuji terdiri atas 9 isolat yaitu Be03, Be02, Ke03, Ke05, Te01, Te05, Re01, Re05, dan Wae05.

Persiapan Patogen Uji

Patogen *A. porri* dan *F. oxysporum* diisolasi dari jaringan tanaman bawang merah yang terinfeksi dan menunjukkan gejala layu fusarium dan bercak ungu (Widodo *et al.* 2008)

Uji Daya Hambat Bakteri Endofit terhadap Pertumbuhan Cendawan *Alternaria porri* dan *Fusarium oxysporum* secara *in Vitro*

Pengujian daya hambat bakteri endofit terhadap *A. porri* dan *F. oxysporum* secara *in vitro* dilakukan melalui uji antagonis. Isolat *A. porri* dan *F. oxysporum* berumur 7 hari masing-masing sebesar 0.5 cm diinokulasikan pada medium agar-agar dekstroza kentang (ADK) dengan jarak 3 cm dari tepi cawan. Sehari kemudian sebanyak 1 isolat bakteri endofit diinokulasikan pada masing-masing cawan petri secara melintang dengan jarak 3 cm dari tepi cawan berlawanan arah dari letak patogen. Biakan uji antagonis diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan terhadap pertumbuhan cendawan patogen dilakukan selama 7 hari.

Kemampuan Bakteri Endofit Memproduksi Senyawa HCN

Pengujian kemampuan memproduksi senyawa HCN dari setiap isolat bakteri endofit dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan Bakker dan Schipper (1987). Isolat bakteri endofit yang diuji ditumbuhkan pada medium glisin dalam cawan petri. Bagian tengah tutup cawan petri ditempelkan potongan kertas saring yang telah direndam dalam larutan asam pikrat (2 g asam pikrat, 8 g natrium karbonat, dan 200 mL akuades). Pengamatan kemampuan bakteri endofit memproduksi HCN ditandai dengan perubahan warna pada kertas saring menjadi coklat muda, coklat tua, dan atau merah bata.

Variabel Pengamatan

Pengamatan daya hambat dilakukan pada saat 5 dan 7 hari setelah inokulasi bakteri endofit. Daya hambat dihitung dengan mengukur jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi cawan petri (R_1) dan jari-jari pertumbuhan patogen ke arah bakteri endofit (R_2). Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung daya hambat (DH) isolat bakteri endofit terhadap patogen *A. porri* dan *F. oxysporum*, dengan rumus:

$$\text{Daya hambat (\%)} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100\%, \text{ dengan}$$

R_1 , jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi cawan petri; dan R_2 , jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi isolat bakteri endofit.

Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis menggunakan sidik ragam, dan jika analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf nyata $\alpha=0.05$. Data kualitatif diamati secara visual dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Daya Hambat Bakteri Endofit terhadap *Alternaria porri* secara *in Vitro*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hampir semua isolat bakteri endofit yang diuji memiliki kemampuan menghambat

pertumbuhan koloni *A. porri*, kecuali isolat Re05. Persentase penghambatannya berkisar antara 19.90%–42.03% dan meningkat dari hari ke-5 ke hari ke-7 (Gambar 1).

Daya Hambat Bakteri Endofit terhadap *Fusarium oxysporum* secara *in Vitro*

Seperti halnya kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan koloni *A. porri*, semua isolat bakteri endofit juga mampu menghambat pertumbuhan koloni cendawan *F. oxysporum*, dengan kisaran sebesar 12.09%–20.41% (Gambar 2).

Isolat Te05 memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan koloni cendawan *A. porri*, sedangkan isolat Be03 menunjukkan daya hambat tertinggi terhadap *F. oxysporum* pada uji *dual culture* (Gambar 3).

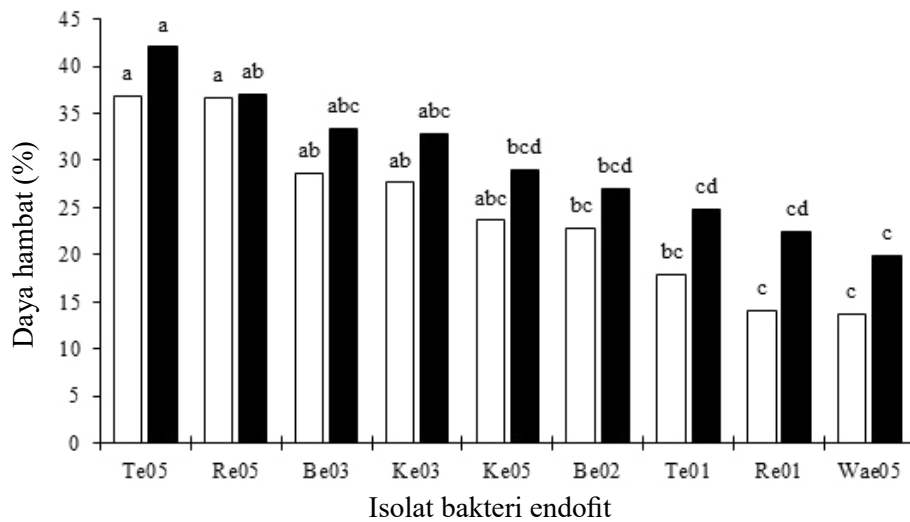
Kemampuan Bakteri Endofit Memproduksi Senyawa HCN

Sebanyak 7 isolat bakteri endofit tidak dapat memproduksi HCN. Terdapat 2 isolat bakteri endofit yang mampu memproduksi senyawa metabolit HCN, yaitu isolat Be03 dan Wae05 (Tabel 1).

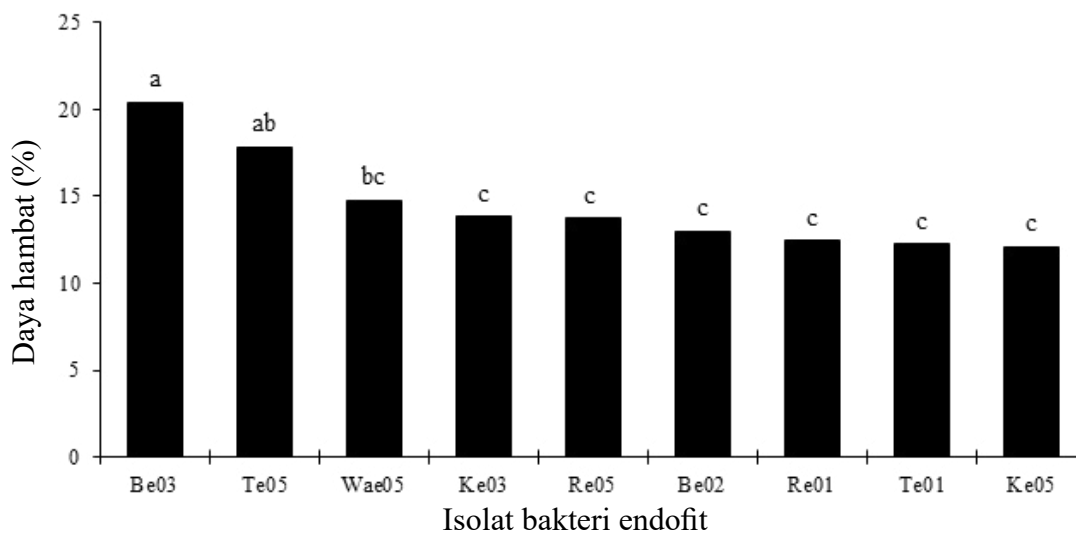
Kemampuan bakteri endofit dalam memproduksi senyawa HCN ditandai dengan perubahan warna kertas saring. Perubahan dari kuning menjadi coklat muda hingga merah bata mengindikasikan produksi HCN yang semakin meningkat (Gambar 4).

PEMBAHASAN

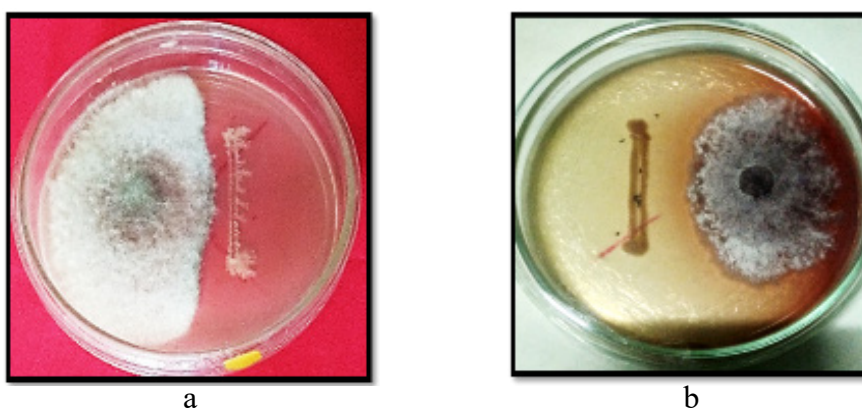
Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari lahan marginal (tanah berbatu) Wakatobi berpotensi sebagai pengendali hayati penyakit bawang merah. Berdasarkan hasil uji penghambatan terhadap pertumbuhan koloni patogen maupun kemampuannya menghasilkan senyawa HCN, terpilih 2 isolat bakteri endofit terbaik yaitu Te05 dan Be03. Penelitian ini sejalan dengan hasil Pitasari dan Ali (2018) yang melaporkan bahwa bakteri endofit dari tanaman bawang merah mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen *A. porri*. Studi lain melaporkan bahwa bakteri endofit



Gambar 1 Daya hambat (%) beberapa bakteri endofit uji terhadap pertumbuhan cendawan patogen *A. porii* secara *in vitro* pada hari ke-5 (□) dan hari ke-7 (■).



Gambar 2 Daya hambat (%) bakteri endofit terhadap pertumbuhan cendawan patogen *F. oxysporum* secara *in vitro* pada hari ke-7.

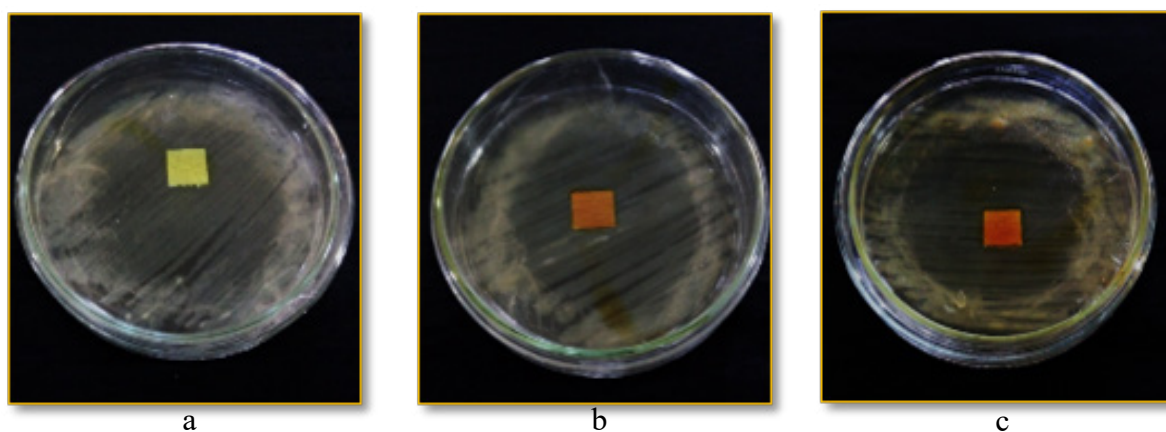


Gambar 3 Performa penghambatan bakteri endofit terhadap pertumbuhan koloni cendawan patogen pada medium agar-agar dekstroza kentang. a, Penghambatan isolat Te05 terhadap *A. porri*; dan b, Penghambatan isolat Be03 terhadap *F. oxysporum*.

Tabel 1 Kemampuan isolat bakteri endofit indigenos bawang merah Wakatobi dalam memproduksi senyawa HCN

Kode Isolat	Produksi HCN
Be03	+++
Wae05	++
Be02	-
Te01	-
Ke05	-
Ke03	-
Re05	-
Re01	-
Te05	-

Ket: -, kuning (tidak memproduksi HCN); ++, coklat muda (produksi HCN sedang); +++, coklat tua (produksi HCN kuat)



Gambar 4 Performa kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa HCN pada medium glisin. a, Tidak memproduksi senyawa HCN; b dan c, Memproduksi senyawa HCN.

yang diisolasi dari akar jagung memiliki aktivitas anticendawan terhadap *Fusarium verticillioides*, *Colletotrichum graminicola*, *Bacillus maydis* dan *Cercospora* sp. dengan penghambatan mencapai 70% (Szilagy-Zecchin *et al.* 2014).

Mekanisme penghambatan bakteri endofit terhadap patogen umumnya terjadi melalui antibiosis atau aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkan. Isolat Te05 dan Be03 menghambat pertumbuhan miselium *A. porri* atau *F. oxysporum* melalui senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh keduanya. Hal ini berbeda dengan penelitian Szilagy-Zecchin *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa bakteri endofit menghasilkan enzim ekstraseluler kitinase yang berpotensi untuk menghancurkan dinding sel hifa *A. porri* melalui mekanisme lisis. Lisis oleh agens hayati merupakan mekanisme untuk menghancurkan

atau memotong-motong miselium cendawan patogen sehingga menyebabkan kematian patogen. Hasil penelitian ini menambah informasi tentang mekanisme penghambatan bakteri endofit

Kemampuan isolat Be03 menghambat pertumbuhan patogen juga disebabkan oleh kemampuannya memproduksi senyawa HCN. Bakteri endofit *Pseudomonas* spp. mampu menghambat pertumbuhan patogen dengan menghasilkan HCN (Awais *et al.* 2010). Senyawa HCN yang dihasilkan oleh bakteri endofit kelompok *Pseudomonas* spp. dapat mengendalikan beberapa patogen antara lain *Macrophomina phaseolina* dan *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* penyebab layu pada tanaman tomat (Reetha *et al.* 2014). HCN yang diproduksi agens biokontrol berfungsi menghambat pertumbuhan patogen (Agbodjato *et al.* 2015). HCN berkerja dengan

cara menghambat proses oksidasi *cytochrome*, karena HCN menghambat kerja enzim yang memiliki kofaktor berupa ion logam seperti Cu^{2+} pada sitokrom C oksidase. *Pseudomonas* memproduksi HCN pada endo-rizosfer dengan cara mengubah glikosida sianogenik yang terdapat dalam akar tanaman (Noori dan Saud 2012).

Bakteri endofit isolat Te05 dan Be03 mampu menghambat pertumbuhan *A. porri* dan *F. oxysporum*. Senyawa HCN dihasilkan oleh isolat Be03. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji keefektifan kedua isolat tersebut sebagai pengendali hayati penyakit tanaman bawang merah dalam skala yang lebih besar di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendukung penelitian ini melalui Program Penelitian Terapan 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbodjato NA, Noumavo PA, Baba-Moussa F, Salami HA, Sina H, Sèzan A, Bankolé H, Adjanohoun A, Mouss LB. 2015. Characterization of potential plant growth promoting rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) in Central and Northern Benin (West Africa). *App Environ Soil Sci*. 2015:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/901656>.
- Awais M, Pervez A, Yaqub A, Shah MM. 2010. Production of antimicrobial metabolites by *Bacillus subtilis* immobilized in polyacrylamide gel. *Pakistan J Zool*. 42(3):267–275.
- Bai Y, Zhou X, Smith DL. 2003. Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strain with *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Sci*. 43:1247-1252. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1774>.
- Bakker AW, Schipper B. 1987. Microbial cyanide production in rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp mediated plant growth stimulation. *Soil Biology and Biochemistry*. 19(4):451-457. DOI: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90037-X).
- Mishra RK, Prakash O, Tiwari AK, Pandey A, Alam M, Dikshit A. 2011. Culture filtrate antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria PGPRs against phytopathogens infecting medicinal and aromatic plants. *Inter J Res Biol Sci*. 1(4):45–51.
- Noori MSS, Saud HM. 2012. Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *J Plant Pathol Microb*. 3(2):1–4.
- Pitasari A, Ali M. 2018. Isolasi dan uji antagonis bakteri endofit dari tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap jamur *Alternaria porri* Ellis Cif. *JOM Faperta*. 5(1):1–12.
- Reetha AK, Pavani SL, Mohan S. 2014. Hydrogen cyanide production ability by bacterial antagonist and their antibiotics inhibition potential on *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 3(5):172–178.
- Resti ZT, Habazar D, Prima P, Nasrun. 2013. Skrining dan identifikasi isolat bakteri endofit untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada bawang merah. *JHPT Tropika*. 13(2):167–178.
- Sicuia OA, Oancea F, Cornea CP. 2012. New screening methods for evaluation of *Fusarium* sporulation inhibition by *Bacillus* biocontrol strains. *Scientific Papers, UASVM Bucharest, Series F Biotechnologies*. 16:67–72.
- Sutariati GAK, Khaeruni A, Madiki A, Rakian TC, Mudi L, Fadillah N. 2019. Seed biopriming with indigenous endophytic bacteria isolated from Wakatobi rocky soil to promote the growth of onion (*Allium ascalonicum* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 260(1):012144. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/260/1/012144>.

- Szilagyi-Zecchin VJ, Ikeda AC, Hungria M, Adamoski D, Kava-Cordeiro V, Glienke C, Galli-Terasawa LV. 2014. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. *Amb Express*. 4(1):1–9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0026-y>.
- Widodo, Kondo N, Kobayashi K, Ogoshi A. 2008. Vegetative compatibility groups within *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* in Hokkaido Japan. *Microbiol Indones*. 21(1):39–43. DOI: <https://doi.org/10.5454/mi.2.1.8>.
- Wiyatiningsih S. 2003. Kajian asosiasi *Phytophthora* sp. dan *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* penyebab penyakit moler pada bawang merah. *Mapeta*. 5:1–6.