

Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Kitinase Penghambat Pertumbuhan Cendawan Patogen Tanaman

(Selection and Characterization of Chitinase-Producing Bacteria Inhibiting the Growth of Plant-Pathogen Fungi)

Azizah Nurmalinda¹, Nisa Rachmania Mubarik^{2*}, Lisdar Sudirman²

(Diterima Januari 2018/Disetujui September 2019)

ABSTRAK

Colletotrichum capsici dan *Fusarium oxysporum* merupakan cendawan patogen yang menyebabkan penyakit antraknosa pada tanaman cabai (*Capsicum annum L.*) serta dapat menurunkan produktivitas cabai. Serangan cendawan dapat dikendalikan dengan memanfaatkan bakteri penghasil kitinase. Kitinase adalah enzim yang mampu menghancurkan dinding sel cendawan yang tersusun dari senyawa kitin. Tujuan penelitian ini ialah untuk menyeleksi dan mengarakterisasi bakteri penghasil kitinase sebagai pengendali hayati *Colletotrichum capsici* dan *Fusarium oxysporum*. Beberapa metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah isolasi bakteri kitinase, karakterisasi bakteri kitinase, pengukuran aktivitas enzim, antagonis bakteri dengan cendawan patogen, pengamatan kerusakan hifa cendawan, dan identifikasi 16S rRNA. Isolat BAE36 dan BAD211 adalah bakteri penghasil kitinase yang diisolasi dari rizosfer tanaman cabai. Kedua isolat tersebut termasuk Gram-negatif. Daya hambat BAE36 dan BAD211 terhadap *F. oxysporum* dan *C. capsici* berada pada skala 3 (51–75%). Persentase penghambatan isolat BAE36 terhadap *C. capsici* dan *F.* masing-masing sebesar 66,1 dan 55,0%. Hifa *C. capsici* pada uji antagonis terlihat menebal dan permukaan hifa bergelombang sedangkan hifa *F. oxysporum* tipis dan terlihat kosong. Identifikasi berdasarkan sekuens gen penyandi 16S rRNA menyatakan bahwa isolat BAE36 dan BAD211 memiliki kesamaan 99% dengan *Lysobacter enzymogenes*. Pengendapan enzim kitinase dari *L. enzymogenes* dengan kadar amonium sulfat 30% dapat meningkatkan aktivitas enzim. Enzim hasil pengendapan lebih mampu menghambat pertumbuhan miselia cendawan *C. capsici* dan *F. oxysporum*.

Kata kunci: cabai merah, Gram-negatif, kitinolitik, *Lysobacter*

ABSTRACT

Colletotrichum capsici and *Fusarium oxysporum* are pathogenic fungi that cause anthracnose disease on chili plants (*Capsicum annum L.*) which can decrease the productivity of chili. The control of the fungus attack is carried out by biocontrol agent of the fungi utilizing chitinase-producing bacteria. Chitinase is an enzyme capable of destroying the fungal cell wall composed of chitin compounds. The aims of the research were to select and to characterize chitinase producing bacteria as biological control agent of *Colletotrichum capsici* and *Fusarium oxysporum*. Several methods were carried out in this research, among others: isolation of chitinase bacteria, characterization of chitinase bacteria, measurement of enzyme activity, bacterial antagonistic with pathogenic fungi, observation of fungal hypha damage, and identification of 16S rRNA. The BAE36 and BAD211 isolates are chitinase bacteria isolated from chili plant rhizosphere. The isolate belongs to the Gram-negative bacteria. The inhibitory properties of BAE36 and BAD211 against *F. oxysporum* and *C. capsici* are on a scale of 3 (51–75%). The percentage of inhibitory of BAE36 isolate was 66.1% capable of inhibiting the growth of *C. capsici* and 55% capable of inhibiting the growth of *F. oxysporum*. The hyphae of *C. capsici* fungus on the antagonistic test showed a thick and the surface of the hyphae was wavy while the *F. oxysporum* hyphae was thin and looks empty. Identification of isolate with 16S rRNA described that 99% of BAE36 and BAD211 isolates were similar to *Lysobacter enzymogenes*. Precipitation of chitinase enzyme of *Lysobacter enzymogenes* with 30% ammonium sulphate could increase the enzyme activity. The enzyme precipitation could inhibit the growth of mycelia fungi *C. capsici* and *F. oxysporum*.

Keywords: chili, chitinolytic, Gram-negative, *Lysobacter*

PENDAHULUAN

Cabai merah besar (*Capsicum annum L.*) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang penting di Indonesia. Pada tahun 2009–2011, produktivitas cabai mengalami penurunan yang disebabkan oleh berbagai serangan patogen (PDSIP 2014).

¹ Sekolah Pascasarjana, Program Studi Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

² Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

* Penulis Korespondensi: Email: nrachmania@ipb.ac.id

Colletotrichum capsici merupakan cendawan patogen tanaman cabai, terutama pada tanaman di wilayah tropis yang menyebabkan penyakit antraknosa (Garg *et al.* 2014). Antraknosa mengakibatkan penurunan kualitas dan produktivitas cabai mencapai lebih dari 50%, baik setelah atau sebelum masa panen (Garg *et al.* 2014; Kamar *et al.* 2014). Selain *C. capsici*, *Fusarium oxysporum* juga menimbulkan kerugian pada tanaman cabai, yaitu menyebabkan penyakit layu Fusarium dan *Sudden Death Syndrom* (SDS) yang menyerang tanaman cabai pada fase pertumbuhan anakan (Joshi *et al.* 2012; Sultana *et al.* 2014). Kedua jenis cendawan tersebut tergolong ke dalam organisme pengganggu tanaman (OPT) cabai. Pada tahun 2011 dan 2012 OPT antraknosa meningkat dengan luas ditambah serangan berturut-turut mencapai 5260 dan 6200 ha dan dominan terjadi di Provinsi Jawa Barat sebesar 1500 dan 1300 ha (PDSIP 2014).

Penyakit cabai oleh *C. capsici* dan *F. oxysporum* dapat dikendalikan dengan fungisida. Namun, penggunaan fungisida mengeluarkan biaya yang tinggi, pencemaran lingkungan dan resistensi patogen pada saat penggunaan yang tidak tepat. Pemberian fungisida juga dapat memperlambat pertumbuhan dan klorosis pada anakan tanaman (Ozby *et al.* 2004). Dampak tersebut dapat dikurangi dengan menggunakan mikroorganisme sebagai pengendali pertumbuhan patogen. Pengendali pertumbuhan patogen meliputi spesies, varietas, semua jenis serangga, protozoa, cendawan, bakteri, virus, mikoplasma, serta organisme lainnya yang dapat digunakan untuk pengendalian hama dan penyakit pada masa produksi, pengolahan hasil pertanian, dan berbagai keperluan lainnya (Supriadi 2006).

Rizobakteri merupakan bakteri yang berada di sekitar perakaran tanaman. Rizobakteri mampu melindungi tanaman dari serangan patogen dengan cara menghasilkan berbagai senyawa antibiotik, enzim ekstraseluler (kitinase, protease, selulase, dan glukonase), serta siderofor (Tangavelu & Mustaffa 2012). *Bacillus* spp. telah diketahui memiliki kemampuan dalam pengendalian cendawan patogen secara *in vivo* antara lain dengan cara menghasilkan enzim kitinase (Nurdin *et al.* 2016) dan glukonase (Dewi *et al.* 2016) yang dapat menguraikan dinding sel cendawan. Oleh karena itu, salah satu cara untuk mendapatkan bakteri yang berpotensi dalam mengendalikan pertumbuhan cendawan ialah dengan menyeleksi bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase. Tujuan penelitian ini ialah untuk mencari bakteri kitinolitik penghasil kitinase yang berperan sebagai agen penghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum capsici* dan *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor pada bulan November 2014–Juli 2016.

Bahan

Sampel tanah diperoleh dari area penanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.) di Desa Sagarahiyang, Kabupaten Kuningan, Jawa Barat (6° 57' 42.13" LS; 108° 24' 53.08" BT).

Isolasi Bakteri Tanah

Isolasi bakteri tanah mengacu pada metode pengenceran Slimene *et al.* (2012) dengan modifikasi pada suhu inkubasi. Sampel tanah sebanyak 5 g dilarutkan ke dalam 45 mL larutan fisiologis. Larutan dihomogenkan menggunakan mesin penggoyang selama 90 menit pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$). Sebanyak 1 mL suspensi biakan diencerkan hingga 10^{-4} , kemudian sebanyak 0,1 mL disebar secara merata pada media agar-agar kitin (koloidal kitin 0,3%, ekstrak khamir 0,1%, K_2HPO_4 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01%, NaCl 0,1% dan agar-agar 1,5%) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2 hari (Nurdin *et al.* 2016). Koloni bakteri yang membentuk zona bening dimurnikan dan dilakukan pengamatan morfologi koloni.

Uji Hipersensitivitas

Uji hipersensitivitas dilakukan terhadap isolat bakteri yang memiliki kemampuan kitinase pada daun tanaman tembakau (Wahyudi *et al.* 2011). Isolat yang tidak menyebabkan kerusakan (klorosis) pada daun tembakau digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Uji Antagonis Bakteri terhadap *C. capsici* dan *F. oxysporum* Secara *In vitro*

Uji antagonis secara *in vitro* menggunakan metode *dual culture* pada kedua cendawan patogen. Cendawan patogen yang digunakan berukuran 0,5 cm yang diletakkan 3 cm dari isolat bakteri di media *Potato dextrose agar* (PDA) dengan diameter cawan petri 9 cm. Inkubasi dilakukan selama 14 hari pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) (Luduena *et al.* 2012). Persentase daya hambat bakteri terhadap pertumbuhan miselia cendawan dihitung menggunakan formulasi Fokkema (1973). Daya hambat dinilai dengan skala 0–4 (Zivkovic *et al.* 2010). Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap perubahan hifa cendawan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x.

Identifikasi Isolat Bakteri Terpilih

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan karakteristik morfologi, pewarnaan Gram, dan molekuler. Identifikasi secara molekuler dilakukan berdasarkan sekuens gen penyandi 16S rRNA. Isolat ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) selama 24 jam pada suhu kamar ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) pada mesin penggoyang. Isolasi DNA genom dilakukan dengan menggunakan Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit (Geneaid). Selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada DNA hasil ekstraksi dengan

menggunakan primer 67F (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') dan 1387R (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *et al.* 1998). Campuran PCR berupa 5 μ L Go taq green promega, 0,5 μ L primer 63f, 0,5 μ L primer 1387r, 0,3 μ L cetakan DNA, dan 3,7 μ L ddH₂O. Kondisi mesin PCR yang digunakan ialah *pre-denaturation* (95°C selama 5 menit), *annealing* (55°C selama 1 menit), *elongation* (72°C selama 1,5 menit), dan *extension* (72°C selama 10 menit) sebanyak 30 siklus. Produk hasil PCR divisualisasi dengan menggunakan mesin elektroforesis pada 1% (w/v) gel agarosa dengan tegangan 80 Volt selama 45 menit. Visualisasi DNA dilakukan di atas UV transiluminator menggunakan pewarna Ethidium Bromida (EtBr). DNA hasil amplifikasi disekuens pada jasa *sequencing*. Sekuens urutan basa nukleotida kemudian disejajarkan dengan data GeneBank menggunakan program BLAST-N (Basic Aligment Search Tool-Nucleotide) pada situs online NCBI (National Center for Biotechnology Information). Konstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan program MEGA 6,1 dengan metode Neighbour Joining (NJ) dengan bootsrap 2000x.

Produksi Ekstrak Kasar Kitinase dan Pengendapan dengan Amonium Sulfat

Sebanyak 1–2 lup bakteri diinokulasi ke dalam 100 mL media cair kitin (Koloidal kitin 0,3%, ekstrak khamir 0,1%, K₂HPO₄ 0,1%, MgSO₄·7H₂O 0,01%, dan NaCl 0,1%) diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (\pm 27°C). Kultur disentrifugasi pada 8000 rpm (Eppendorf MiniSpin dengan rotor jenis F-45-12-11) selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar kitinase dari isolat terpilih. Ekstrak kasar enzim selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas enzim dan uji daya hambat terhadap cendawan patogen (Nurdin *et al.* 2016).

Pengendapan kitinase dilakukan dengan amonium sulfat dengan kadar 20–70%. Endapan yang diperoleh dilarutkan dengan 1 mL bufer fosfat 0,1M, pH 7,0 kemudian dilakukan pengukuran aktivitas enzim kitinase dan kadar proteinnya (Asril *et al.* 2014).

Uji Antagonis Bakteri dan Enzim Kitinase terhadap Cendawan Patogen

Kemampuan antagonis diuji menggunakan kultur sel, ekstrak kasar enzim kitinase, dan enzim kitinase hasil pengendapan amonium sulfat dengan metode *agar well diffusion* (Dewi *et al.* 2016). Sebanyak 200 μ L kultur sel, ekstrak kasar enzim kitinase, dan enzim kitinase hasil pengendapan dimasukkan ke dalam sumur yang dibuat 3 cm dari pinggir cawan petri dengan diameter 9 dan 3 cm dari cendawan patogen pada media PDA. Pengamatan dilakukan selama 7 hari untuk melihat kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan miselia cendawan patogen. Akuades steril digunakan sebagai kontrol tanpa perlakuan bakteri atau enzim kitinase.

Pengukuran Aktivitas Enzim Kitinase

Aktivitas kitinase diukur dengan metode Spindler (1997), yaitu sebanyak 225 μ L ekstrak kasar kitinase ditambahkan ke dalam 450 μ L 0,3% koloidal kitin dan 225 μ L bufer fosfat 0,1 M pada suhu 37°C, pH 7,0, dan 120 rpm. Campuran diinkubasi pada suhu 30°C selama 30 menit. Kemudian inkubasi dihentikan pada 100°C selama 10 menit dan didinginkan selama 10 menit. Selanjutnya campuran disentrifugasi pada 8400 g selama 5 menit, kemudian filtrat diambil dan ditambahkan ke dalam aquades 750 μ L dan 1500 μ L reagens Scales (K-Ferrisianida dan Na-Karbonat 0,5 M) dan reaksi dihentikan pada suhu 100°C selama 10 menit. Aktivitas enzim ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 420 nm. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dihasilkan 1 μ mol N-asetil glukosamin per menit. Konsentrasi protein ditentukan dengan metode Bradford (1976) menggunakan *Bovine serum Albumin* sebagai standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Tanah

Kitin merupakan komponen utama pada dinding sel cendawan, miselia, dan spora yang dapat dihidrolisis oleh enzim kitinase. Kitinase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis kitin tidak terlarut menjadi komponen oligomer dan monomer. Bakteri penghasil kitinase yang berhasil diperoleh adalah sebanyak 88 isolat yang kemudian ditumbuhkan pada media agar-agar kitin. Isolat yang berpotensi menghasilkan enzim kitinase ekstraseluler ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar koloni bakteri. Dua belas isolat bakteri dengan indeks kitinolitik lebih dari 1,5 digunakan dalam uji hipersensitivitas terhadap daun tembakau (Tabel 1). Nurdin *et al.* (2016) juga menggunakan isolat bakteri yang memiliki indeks kitinolitik 1,5 untuk pengujian antagonis terhadap cendawan patogen *Colletotrichum capsici*.

Tabel 1 Isolat bakteri dengan indeks kitinolitik lebih dari 1,50

Kode isolat	Indeks kitinolitik
BAA111	2,50
BAA115	2,08
BAB32	2,10
BAB212	1,75
BAB22	1,60
BAC318	2,11
BAD211	1,75
BAD21	1,58
BAD28	1,50
BAE36	1,60
SS10	1,75
SS12	1,63

Uji Hipersensitivitas Menggunakan Daun Tembakau

Uji hipersensitivitas terhadap 12 isolat terpilih menghasilkan 8 isolat bakteri yang bereaksi negatif terhadap daun tembakau. Uji hipersensitivitas disertai dengan penggunaan kontrol positif (*Pseudomonas syringe*) (Gambar 1B) dan kontrol negatif (*Bacillus cereus*) (Gambar 1C). Pada kontrol positif, daun terlihat berwarna kuning hingga coklat. Hal ini menandakan bahwa *P. syringe* bersifat patogen pada daun tanaman. *Pseudomonas syringe* bukan merupakan bakteri yang hidup pada tanaman, namun merupakan bakteri yang terbawa oleh air dan menempel pada tanaman (Morris *et al.* 2008).

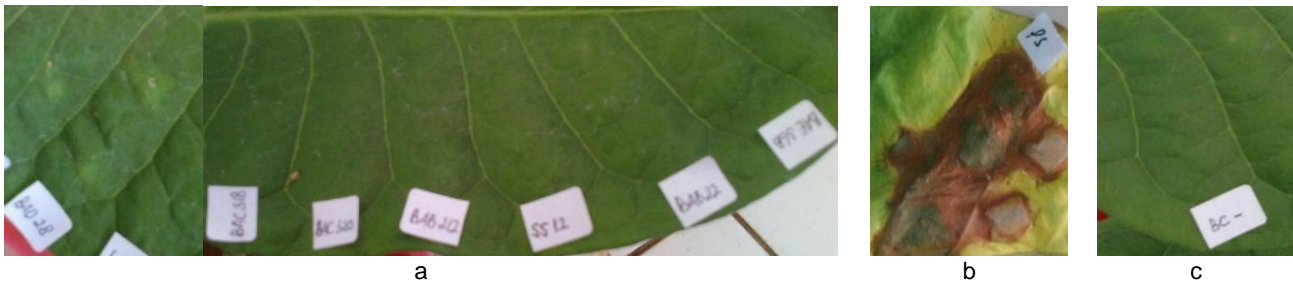
Uji Antagonis Bakteri terhadap *C. capsici* dan *F. oxysporum* Secara *In vitro*

Uji antagonis dengan metode *dual culture* pada media PDA diperoleh dua isolat yang mampu menghambat pertumbuhan hifa cendawan *C. capsici* dan *F.*

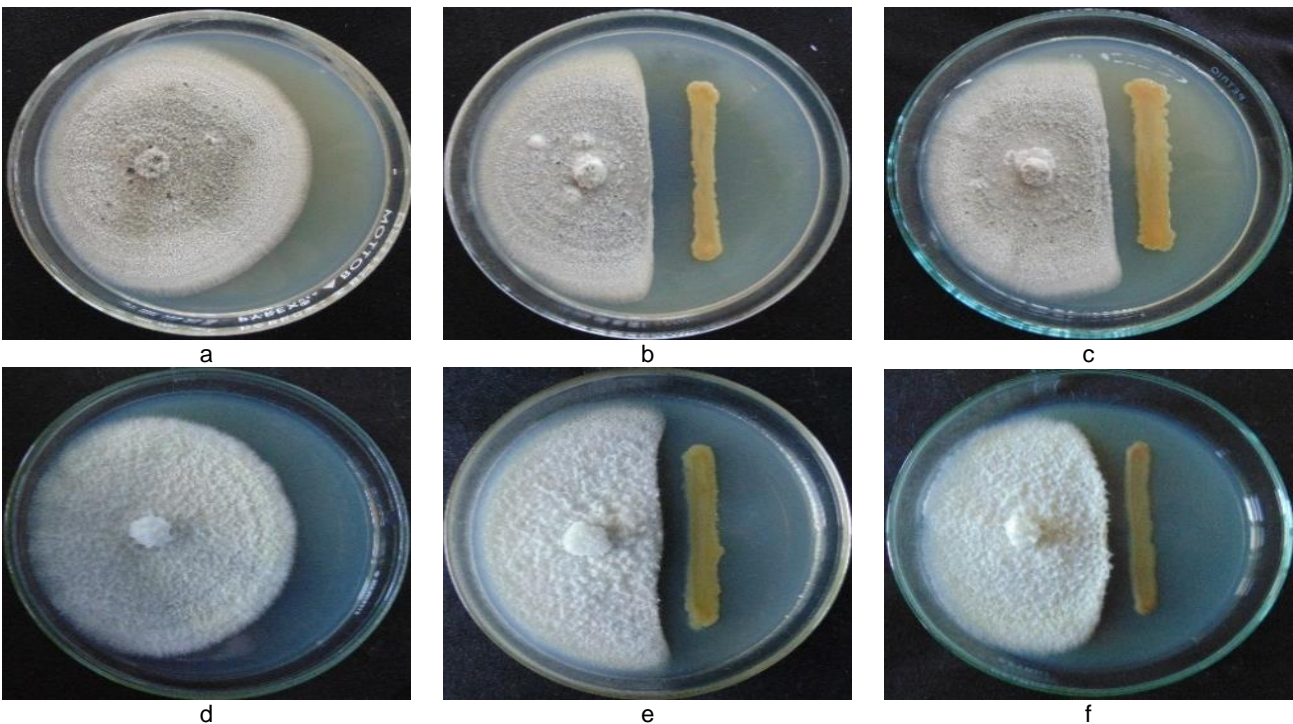
oxysporum dengan kode isolat BAD211 dan BAE36. Kedua isolat membatasi pertumbuhan hifa dengan terlihat adanya daerah kosong antara koloni bakteri dan cendawan (Gambar 2).

Daya hambat BAE36 dan BAD211 terhadap *F. oxysporum* dan *C. capsici* berada pada skala 3 (51–75%). Skala dalam metode *dual culture* menunjukkan kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan hifa cendawan. Uji antagonis dengan skala 2–4 berpotensi baik sebagai pengendali cendawan patogen tanaman (Zivkovic *et al.* 2010).

Pengamatan hifa cendawan pada *dual culture* menggunakan mikroskop cahaya terlihat adanya kerusakan hifa cendawan. Isolat BAE36 dan BAD211 membuat ujung-ujung hifa *C. capsici* menebal dan bergelombang (Gambar 3), sedangkan hifa *F. oxysporum* terlihat menipis dan kosong (Gambar 3D). Degradasi dinding sel cendawan menyebabkan perubahan bentuk morfologi pada hifa cendawan dan mengganggu metabolisme cendawan. Gangguan



Gambar 1 Uji hipersensitivitas dengan menggunakan daun tembakau. a) Isolat-isolat bakteri, b) Kontrol positif *Pseudomonas syringe*, dan c) Kontrol negatif *Bacillus cereus*.



Gambar 2 Daya hambat kultur bakteri terpilih terhadap *C. capsici* dan *F. oxysporum*. Kontrol goresan bakteri diganti dengan akuades (a dan d), BAE36 (b dan e), dan BAD211 (c dan f).

metabolisme disebabkan oleh proses transpor aktif yang menghasilkan ATP di membran sel menjadi terganggu.

Kerusakan hifa *C. capsici* dan *F. oxysporum* menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut berpotensi sebagai agen pengendali hayati. Secara umum, agen pengendali hayati memiliki beberapa mekanisme antagonis terhadap mikroba patogen, seperti kompetisi nutrisi untuk pertumbuhan (Fokkema 1973), menghasilkan senyawa metabolit sekunder, mengubah kondisi fisiologis pertumbuhan tanaman dan membentuk resistensi terhadap patogen (Tangavelu & Mustafa 2012). Kolonisasi agen pengendali hayati pada tanaman akan melindungi tanaman dari serangan patogen, sedangkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dapat berupa senyawa fenol yang mampu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen (Soesanto *et al.* 2010).

Identifikasi Bakteri

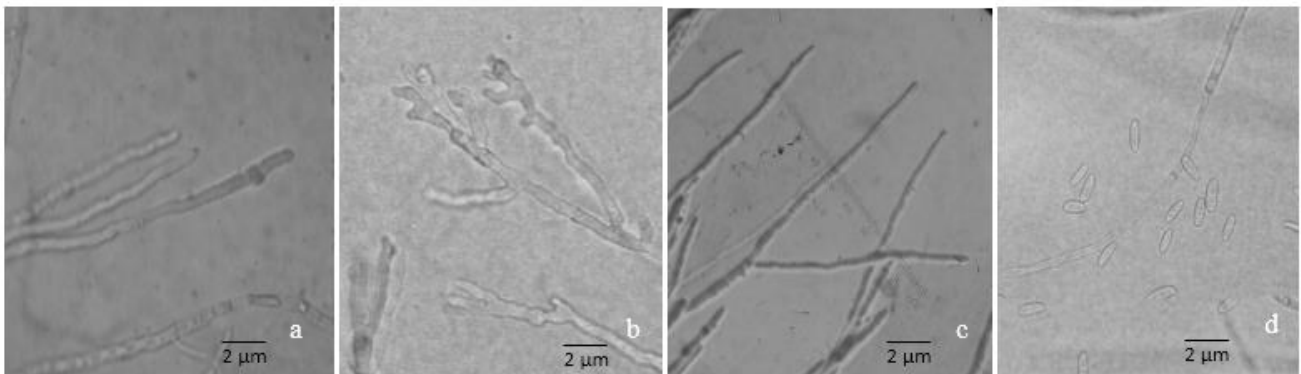
Identifikasi bakteri dilakukan melalui pengamatan koloni, mikroskopis, dan amplifikasi gen 16s rRNA. Secara mikroskopis, kedua isolat merupakan bakteri Gram-negatif yang ditandai dengan sel berwarna merah ketika uji Gram-bakteri (Gambar 4). Amplifikasi gen 16S rRNA dengan primer 63f dan 1387r (Marchesi *et al.* 1998) menghasilkan satu amplicon berukuran sekitar 1300 bp. Analisis hasil sekuensing gen 16S

rRNA BAE36 dan BAD211 menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan *Lysobacter enzymogenes* (Gambar 5).

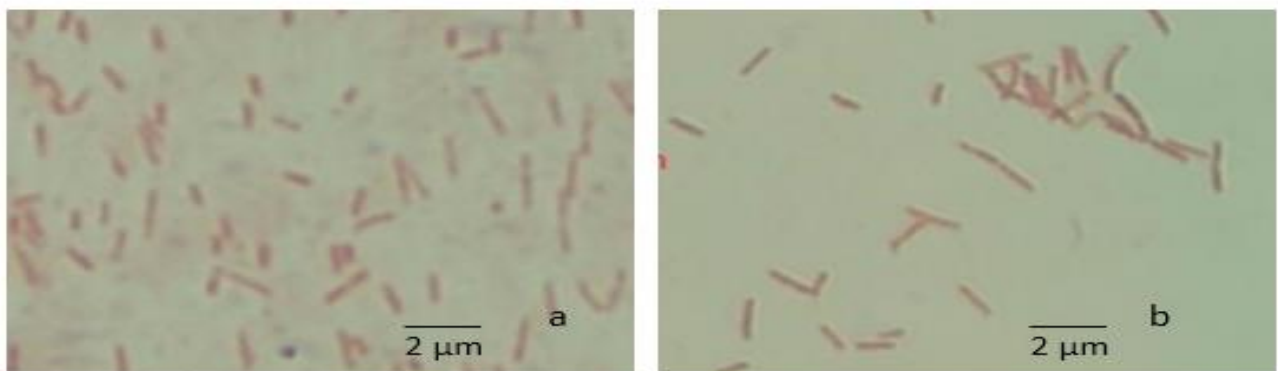
Lysobacter enzymogenes adalah spesies bakteri dengan kelas Gammaproteobacteria; famili Xanthomonadaceae yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim hidrolitik (Christensen & Cook 1978). *Lysobacter enzymogenes* C3 merupakan salah satu bakteri yang sudah digunakan sebagai agen pengendali hayati yang bersifat antagonis terhadap beberapa cendawan patogen. Aktivitas antifungi yang dimiliki *L. enzymogenes* ialah menghasilkan enzim litik. Enzim litik utama yang dihasilkan ialah kitinase (Christensen & Cook 1978), selain itu *L. enzymogenes* juga menghasilkan protease dan glukukanase (Li *et al.* 2008).

Antagonis Isolat terpilih Terhadap Cendawan Patogen

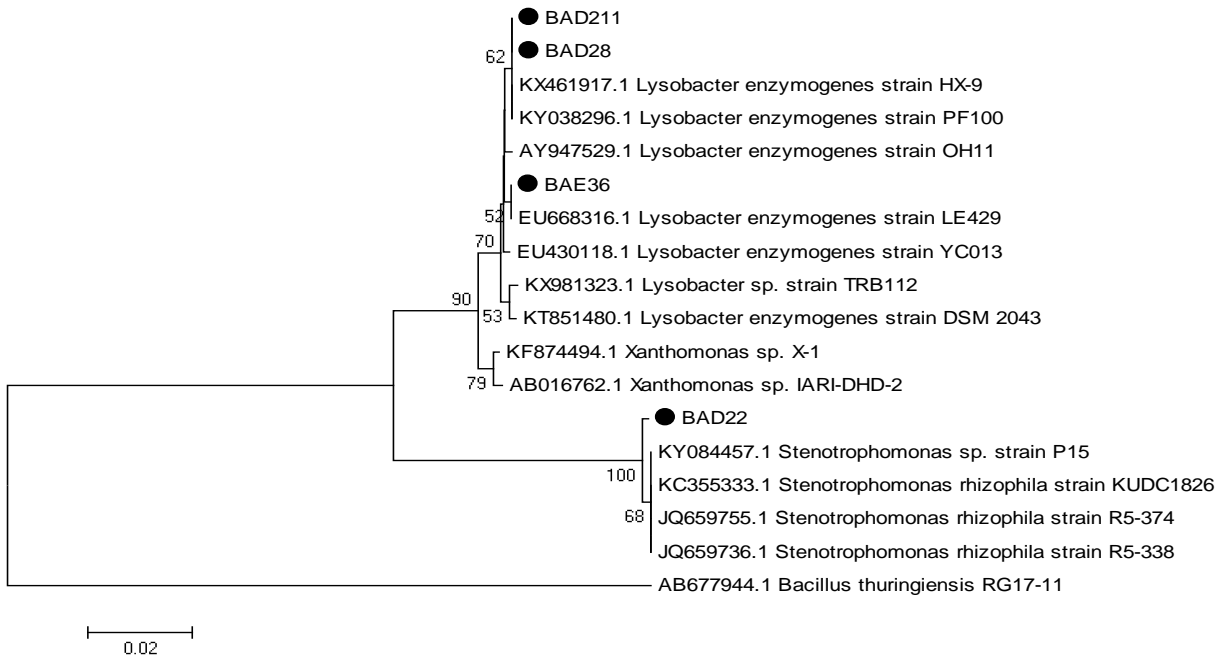
Ekstrak kasar enzim diperoleh dari hasil inokulasi isolat BAE36 pada media kitin cair dengan masa inkubasi 48 jam. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak kasar enzim BAE36 dengan pengendapan amonium sulfat lebih mampu menghambat pertumbuhan miselia cendawan *C. capsici* dan *F. oxysporum* jika dibandingkan dengan ekstrak kasar enzim (Gambar 6). Aktivitas enzim tertinggi pada hasil pengendapan amonium sulfat terdapat pada konsentrasi 30%, yaitu 2,57 U/mg.



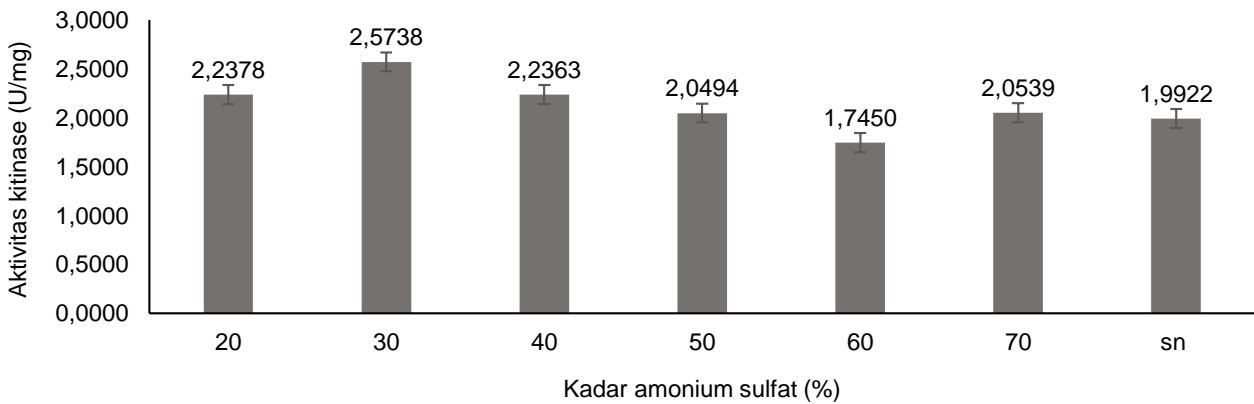
Gambar 3 Perubahan hifa cendawan pada uji *dual culture* BAD211 dan BAE36 terhadap *C. capsici* dan *F. oxysporum* dengan perbesaran 400x. a) Hifa normal *C. capsici*, b) Kerusakan hifa *C. capsici*, c) Hifa normal *F. oxysporum*, dan d) Kerusakan hifa *F. oxysporum*.



Gambar 4 Pewarnaan Gram-bakteri berpotensi pada perbesaran 1000x. a) Isolat BAE36 dan b) BAD211.



Gambar 5 Pohon filogenetik dua isolat terpilih BAE36 dan BAD211.



Gambar 6 Aktivitas kitinase isolat BAE36 hasil pengendapan amonium sulfat. (sn:Supernatan/enzim ekstrak kasar).

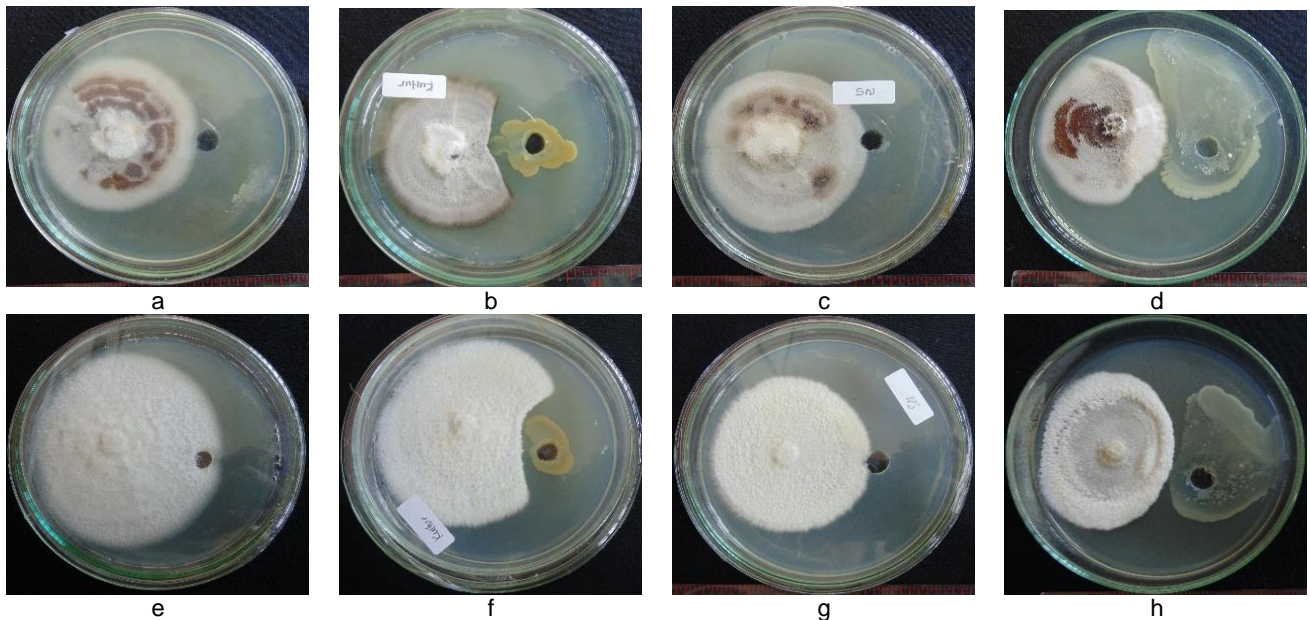
Nilai tersebut menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim jika dibandingkan dengan aktivitas enzim ekstrak kasar dengan nilai 1,99 U/mg. Pemekatan enzim dengan amonium sulfat pada konsentrasi 30% memiliki aktivitas enzim dan kemampuan menghambat miselia cendawan patogen yang lebih tinggi (Gambar 7). Hasil penelitian Asril *et al.* (2014) juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim kitinase tertinggi pada pemekatan enzim amonium sulfat *B. thuringiensis* yang berada pada konsentrasi 30%.

Uji antagonis dengan cendawan patogen menunjukkan bahwa enzim pengendapan dengan amonium sulfat 30% lebih mampu menghambat pertumbuhan miselia cendawan patogen. Pengamatan hifa *C. capsici* yang ditumbuhkan pada media PDA dengan penambahan ekstrak kasar enzim terlihat bercabang, sedangkan hifa *F. oxysporum* menipis. Hal ini dipengaruhi oleh ekstrak enzim yang mampu

mendegradasi komponen sel hifa cendawan (Nurdin *et al.* 2016).

KESIMPULAN

Lysobacter enzymogenes merupakan bakteri Gram-negatif dan mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum capsici* dan *Fusarium oxysporum*. Uji antagonis menyebabkan perubahan hifa *C. capsici* yang terlihat menebal dan permukaan hifa bergelombang, sedangkan hifa *F. oxysporum* menipis dan terlihat kosong. Pengendapan enzim *Lysobacter enzymogenes* dengan kadar amonium sulfat 30% dapat meningkatkan aktivitas enzim dan lebih mampu menghambat pertumbuhan miselia cendawan *C. capsici* dan *F. oxysporum*.



Gambar 7 Antagonistik isolat BAE36 terhadap cendawan *Colletotrichum capsici* (a) dan *Fusarium oxysporum* (b). Kontrol, akuades menggantikan isolat bakteri di dalam sumur (a1;b1), pemberian isolat BAE36 (a2;b2), supernatan atau ekstrak kasar enzim (a3;b3), dan hasil pemekatan enzim dengan ammonium sulfat 30% (a4;b4).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Program Hibah Kompetensi Kemenristek Dikti pada tahun 2017 No. 011/SP2H/LT/DRPM/IV/2017 kepada Dr. Nisa Rachmania Mubarik.

DAFTAR PUSTAKA

- Asril M, Mubarik NR, Wahyudi AT. 2014. Partial purification of bacterial chitinase as biocontrol of leaf-blight disease on oil palm. *Research Journal of Microbiology*. 9(6): 265–277. <https://doi.org/10.3923/jm.2014.265.277>
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Christensen P, Cook FD. 1978. Lysobacter, a new genus of nonfruiting, gliding bacteria with a high base ratio. *International Journal of Systematic and Bacteriology*. 28(3): 367–393. <https://doi.org/10.1099/00207713-28-3-367>
- Dewi RTK, Mubarik NR, Suhartono MT. 2016. Medium optimization of β -glucanase production by *Bacillus subtilis* SAHA 32.6 used as biological control of oil palm pathogen. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 28(2): 116–125. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-05-195>
- Fokkema NJ. 1973. The role of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plats and on rye leaves with pollen. *Physiology Plant Pathology*. 3: 195–205. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(73\)90082-9](https://doi.org/10.1016/0048-4059(73)90082-9)
- Garg G, Loganathan M, Saha S, Roy BK. 2014. Chilli anthracnose: A review of causal organism, resistance, source and mapping of gene. *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. 4: 589–610. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1801-2_53
- Joshi M, Srivastava R, Sharma AK, Prakash A. 2012. Screening of resistant varieties and antagonistic *Fusarium oxysporum* for biocontrol of *Fusarium Wilt* of chilli. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*. 3(5): 1–6. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000134>
- Kambar Y, Manasa M, Viviek MN, Kekuda TRP. 2014. Inhibitory effect of some plants of Western Ghats of Karnataka against *Colletotrichum capsici*. *Science, Technology and Arts Research Journal*. 3(2): 76–82. <https://doi.org/10.4314/star.v3i2.10>
- Li S, Jochum CC, Yu F, Zaleta-Rivera K, Du L, Haris SD, Yuen GY. 2008. An antibiotic complex from *Lysobacter enzymogenes* Strain C3: Antimicrobial activity and role in plant disease control. *Phytopathology*. 98: 695–701. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-6-0695>
- Ludueno LM, Taurian T, Tonelli ML, Angelini JG, Anzuay MS, Valleti L, Munoz V, Fabra AI. 2012. Biocontrol bacterial communities associated with diseased peanut (*Arachis hypogaea* L.) plants. *European Journal of Soil Biology*. 53: 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.08.002>

- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, Wade WG. 1998. Design and evolution of useful bacteria specific PCR primers that amplify genes coding for bacteria 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(2): 795–799.
- Morris CE, Sands DC, Vinatzer BA, Gloux C, Guilbaud C, Buffierre A, Yan S, Dominguez H, Thompson BM. 2008. The life history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* is linked to the water cycle. *JISME (Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology)*. 2: 321–334. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.113>
- Nurdin GM, Mubarik NR, Sudirman LI. 2016. Selection of chitinolytic bacteria as biological control of *Colletotrichum capsici*. *Malaysian Journal of Microbiology*. 12(1): 35–42. <https://doi.org/10.21161/mjm.74515>
- Ozbay N, Newman SE. 2004. Fusarium crown and root rot of tomato and control method. *The Plant Pathology Journal*. 3(1): 9–18. <https://doi.org/10.3923/ppj.2004.9.18>
- [PDSIP] Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2014. *Statistik Iklim, Organisme Pengganggu Tanaman dan Dampak Perubahan Iklim 2011–2013*. Jakarta (ID): Sekretariat Jendral, Kementerian Pertanian.
- Slimene IB, Tabbene O, Djebali N, Cosette P, Schmitter JM, Jouenne T, Urdaci MC, Limam F. 2012. Puttative use of *Bacillus subtilis* L194 strain for biocontrol of *Phoma medicaginis* in *Medicago truncatula* seedlings. *Research in Microbiology*. 163: 388–397. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.03.004>
- Soesanto L, Mugiastuti E, Rahayuniati RF. 2010. Kajian mekanisme antagonis *Pseudomonas fluorescens* P60 terhadap *Fusarium oxysporum* F.SP. *lycopersici* pada tanaman tomat *in vivo*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 10(2): 108–115.
- Spindler KD. 1997. *Chitinase and chitosanase assays*. In: Muzarelli RAA, MGPeter, editors. *Chitin Handbook*. Grottamare (IT): Alda Tecnografica.
- Sultana T, Naz F, Haq M, Butt S, Abas MF. 2014. Characterization and relative contribution of fungal and vacterial pathogen involved in sudden death syndrom of chillies. *Pakistan Journal of Phytopathology*. 26(1): 53–61.
- Supriadi. 2006. Analisis risiko agen hayati untuk pengendalian patogen pada tanaman. *Journal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 25(3): 75–80
- Tangavelu R, Mustafa MM. 2012. *Current advances in the Fusarium wilt disease management in banana with emphasis on biocontrol, plant pathology*. Cumagun DJ, editor. Croatia (HR): In Tech Europe. <https://doi.org/10.5772/33775>
- Wahyudi AT, Maliah S, Nawangsih AA. 2011. *Xantomonas oryzae* pv. *oryzae* bakteri penyebab hawar daun pada padi: Isolasi, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. *Makara sains*. 15(1): 89–96.
- Zivkovic S, Stojanovic S, Ivanovic Z, Gavrilovic V, Popovic T, Balaz J. 2010. Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Sciences*. 62(3): 611–623. <https://doi.org/10.2298/ABS1003611Z>