

Bakteri Agens Hayati Potensial terhadap Patogen Penting pada Padi

The Potential Biological Agent Bacteria Against for Controlling Important Pathogens on Rice

Ratna Sari Dewi¹, Giyanto^{1*}, Meity Suradji Sinaga¹, Dadang¹, Bambang Nuryanto²

¹Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

²Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Subang 41256

ABSTRAK

Saat ini teknologi pengendalian hayati penyakit utama padi terus berkembang. Dalam pengembangan teknologi pengendalian hayati, mekanisme penghambatan patogen dalam perkembangan penyakit pada suatu populasi tumbuhan dalam area tertentu menjadi hal yang penting. Penelitian bertujuan mendapatkan bakteri agens hayati potensial dalam pengendalian penyakit penting padi di antaranya yang disebabkan *Pyricularia oryzae*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Burkholderia glumae*, dan *Drechlera oryzae*, berdasarkan mekanisme antagonisme, kemampuan menginduksi ketahanan dan mendukung kebugaran tanaman, serta kompatibilitas antaragens hayati. *Ralstonia pickettii* TT47, *Pseudomonas fluorescens* P12, *Chromobacterium* sp. T51118, *Bacillus subtilis* 451 dan 154, serta *Streptomyces* sp. T51105 dibuktikan memiliki mekanisme antibiosis dengan menghasilkan metabolit sekunder dan senyawa volatil. Berdasarkan uji produksi enzim kitinolitik *Chromobacterium* sp. dan *Streptomyces* sp. memiliki mekanisme lisis. Aktivitas antibiotik *R. pickettii* dan *P. fluorescens* tergolong kuat terhadap *P. oryzae* dengan penekanan secara berurutan sebesar 79.68% dan 77.59% pada uji biakan ganda. Penekanan pertumbuhan miselium *P. oryzae* dan *R. solani* pada uji volatil mencapai 100% oleh *Chromobacterium* sp. Semua agens hayati umumnya mampu menginduksi ketahanan dan mendukung kebugaran tanaman. Uji kompatibilitas menunjukkan *R. pickettii*, *P. fluorescens*, dan *Chromobacterium* sp. bersifat kompatibel. Dari hasil penelitian diperoleh tiga bakteri agens hayati dengan kategori unggul, yaitu *P. fluorescens* P12, *R. pickettii* TT47, dan *Chromobacterium* sp. T51118. Ketiganya mampu menekan pertumbuhan patogen, menginduksi ketahanan dan mendukung kebugaran tanaman, memiliki patogen sasaran yang lebih beragam, serta bersifat kompatibel.

Kata kunci: antibiosis, induksi ketahanan, pelarutan fosfat, siderofor, volatile

ABSTRACT

At present, biological control technology for the main diseases of rice continues to grow. In the development of biological control technology, inhibition mechanism of pathogens in the development of disease in a plant population in a certain area becomes important. The aim of this study was to obtain potential biological agent bacteria for controlling important rice diseases based on antagonistic mechanism, ability to induce plant resistance and support plant fitness, and their compatibility. The results showed that *Ralstonia pickettii* TT47, *Pseudomonas fluorescens* P12, *Chromobacterium* sp. T51118, *Bacillus subtilis* 451 and 154, and *Streptomyces* sp. T51105 have an antibiosis mechanism by producing secondary metabolites and volatile compounds. Additionally, *Chromobacterium* sp. and

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, surel: giyanto@apps.ipb.ac.id

Streptomyces sp. also have a lysis mechanism on the basis of the chitinolytic enzyme production test. The antibiotic activity of *R. pickettii* and *P. fluorescens* were strong to *P. oryzae* on dual culture test with the highest inhibition up to 79.68% and 77.59% respectively. Inhibition growth of *P. oryzae* and *R. solani* mycelium on volatile tests up to 100% by *Chromobacterium* sp. T51118. Generally, all of biological agents were able to induce plant resistance and support to plant fitness. Compatibility test obtained *R. pickettii*, *P. fluorescens*, and *Chromobacterium* sp. were compatible. Based on the results, three biocontrol agent bacteria, namely *P. fluorescens* P12, *R. pickettii* TT47, and *Chromobacterium* sp. T51118 were excellent. They were able to suppress the growth of pathogens, were able to induce plant resistance and support plant fitness, as well as they have more diverse target pathogens, and compatible.

Key words: antibiosis, plant resistant inducer, phosphorus solubilization, siderophore, volatile

PENDAHULUAN

Penyakit pada tanaman padi sangat beragam, beberapa di antaranya digolongkan sebagai penyakit penting karena kehilangan hasil yang diakibatkannya cukup signifikan dalam memengaruhi upaya pemenuhan produksi beras nasional. Jenis penyakit penting tersebut ialah penyakit blas oleh *Pyricularia oryzae*, hawar daun bakteri oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, hawar pelepah oleh *Rhizoctonia solani*, bercak cokelat oleh *Drechslera oryzae*, dan busuk bulir padi (*bacterial grain rot*) oleh *Burkholderia glumae*.

Pengendalian penyakit tanaman padi oleh petani masih didominasi penggunaan pestisida sintetik, sementara pengendalian hayati masih sangat rendah. Pengendalian hayati pada tanaman padi masih terbatas karena masih sedikit agens hayati potensial yang dapat dikembangkan sebagai teknologi pengendalian.

Keterbatasan jenis agens hayati menjadi tantangan tersendiri untuk dilakukannya studi dalam rangka mendapatkan agens hayati potensial sebagai kandidat dalam pengembangan pengendalian hayati. *Ralstonia pickettii* TT47, *Chromobacterium* sp. galur T51118, *Pseudomonas fluorescens* P12, *Bacillus subtilis* EB4 451, *B. subtilis* EA2 154, dan *Streptomyces* sp. galur T51105 merupakan bakteri yang dilaporkan bersifat antagonis terhadap beberapa patogen penting padi. *Chromobacterium* sp. galur T51118 dan *Streptomyces* sp. galur T51105 diketahui bersifat antagonis terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae*, *R. pickettii* terhadap *R. solani*, *P. fluorescens*

P12 terhadap *P. oryzae*, sementara *B. subtilis* EB4 451 dan EA2 154 mampu menginduksi ketahanan tanaman dengan mengekspresikan gen PR 1 (Rustam 2012; Kurniawati 2016; Nurfadillah 2016; Parida 2016).

Berdasarkan informasi tersebut, kajian lanjut terhadap potensi enam agens hayati ini masih diperlukan sebagai dasar seleksi agens hayati potensial. Penelitian bertujuan mendapatkan bakteri agens hayati potensial dalam pengendalian penyakit penting padi berdasarkan mekanisme antagonisme, kemampuan menginduksi ketahanan dan mendukung kebugaran tanaman, serta kompatibilitas antaragens hayati.

BAHAN DAN METODE

Bakteri Agens Hayati dan Patogen Uji

Agens hayati uji terdiri atas bakteri kelompok Gram negatif dan positif. Bakteri Gram negatif meliputi *R. pickettii* TT47, *Chromobacterium* sp. galur T51118, dan *P. fluorescens* P12, sedangkan bakteri Gram positif terdiri atas *Streptomyces* sp. galur T51105, *Bacillus subtilis* EA2 154 dan *B. subtilis* EB4 451.

Lima patogen uji yang digunakan ialah *X. oryzae* pv. *oryzae*, *Burkholderia glumae* KKe4, *P. oryzae* ras 137, *R. solani*, dan *Drechslera oryzae*. Biakan *B. glumae* KKe4 dan *D. oryzae* berasal dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, IPB, sedangkan *P. oryzae*, *R. solani*, dan *X. oryzae* pv. *oryzae* berasal dari Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB Padi).

Mekanisme Pengendalian Agens Hayati terhadap Patogen Padi

Sebanyak 6 agens hayati dan 5 patogen padi digunakan dalam penelitian ini. Pengujian terdiri atas uji antibiosis, produksi senyawa volatil, dan enzim kitinolitik. Setiap uji diulang tiga kali. Mekanisme antibiosis dilakukan melalui uji biakan ganda. Uji produksi senyawa volatil dan enzim kitinolitik dilakukan untuk mengonfirmasi adanya aktivitas dalam penekanan perkembangan patogen uji dan aktivitas senyawa antibiotik. Hal ini dilakukan karena uji biakan ganda tidak dapat memisahkan penekanan perkembangan patogen terjadi akibat aktivitas antibiotik, senyawa volatil, atau adanya kerja enzim kitinolitik.

Uji Biakan Ganda. Pengujian terhadap bakteri patogen menggunakan metode *cross-streak* (Velho-Pereira dan Kamat 2011) yang dimodifikasi, yaitu dengan menggoreskan agens hayati uji secara menyeluruh pada sepertiga bagian dari diameter cawan selebar ± 3 cm. Selanjutnya cawan diinkubasi selama 3 hari. *X. oryzae* pv. *oryzae* atau *B. glumae* digoreskan secara tegak lurus terhadap goresan agens hayati dengan jarak ± 0.5 cm dari tepi goresan agens hayati. Goresan berbentuk garis tunggal dan dibuat sebanyak empat goresan dengan panjang goresan ± 3 cm dan lebar ± 0.2 cm. Modifikasi dari metode Velho-Pereira dan Kamat (2011), yaitu dari aspek cara dan posisi inokulasi agens hayati. Metode inokulasi ini dilakukan pada bagian tengah berupa goresan tunggal sepanjang 7 cm dan lebar 0.5 cm. Pengujian terhadap cendawan dilakukan berdasarkan pada metode yang dideskripsikan Haggag dan Soud (2012).

Persentase penghambatan terhadap bakteri (PPb) patogen dihitung dengan rumus:

$$PPb (\%) = \frac{AWG}{TSA} \times 100, \text{ dengan}$$

AWG, panjang daerah goresan yang tidak ditumbuhi bakteri; dan TSA, panjang total goresan (Velho-Pereira dan Kamat 2011), sementara penghambatan terhadap cendawan (PPc) dihitung dengan rumus:

$$PPc (\%) = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100, \text{ dengan}$$

R1, jari-jari koloni hifa yang tumbuh menjauhi agens hayati; R2, jari-jari koloni hifa yang tumbuh mendekati agens hayati (Skidmore dan Dockinson 1976).

Produksi Senyawa Volatil. Pengujian dilakukan berdasarkan pada metode Sivan *et al.* (1987) dan diulang sebanyak tiga kali. Pengamatan penekanan pertumbuhan cendawan dilakukan dengan mengukur diameter koloni pada hari ke-5 setelah inkubasi, kecuali untuk pengujian terhadap *R. solani* yang diamati pada hari ke-2 dikarenakan miselium *R. solani* pada perlakuan kontrol telah menutupi semua permukaan medium pada cawan petri. Besarnya penghambatan dihitung dengan membandingkan diameter koloni pada perlakuan agens hayati dengan diameter koloni pada perlakuan kontrol. Pengamatan terhadap bakteri dilakukan tiga hari setelah inkubasi dengan cara menghitung hasil visualisasi pertumbuhan bakteri menggunakan *software ImageJ*. Besarnya penghambatan dihitung dengan membandingkan antara intensitas ketebalan pertumbuhan bakteri hasil analisis *Image J* pada perlakuan agens hayati dengan perlakuan kontrol.

Kekuatan aktivitas penghambatan pada uji biakan ganda dan senyawa volatil ditentukan berdasarkan kategori Kartika *et al.* (2003) yang dimodifikasi, yaitu aktivitas kuat jika penghambatan pertumbuhan $\geq 50\%$, aktivitas sedang jika $30\% \leq$ penghambatan $< 50\%$, dan lemah jika penghambatan $< 30\%$.

Produksi Enzim Kitinolitik. Pengujian dilakukan berdasarkan metode Singh *et al.* (1999) pada medium agar koloidal kitin. Pengamatan dilakukan pada hari ke-7 setelah inokulasi dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk. Indeks kitinolitik (IK) dihitung dengan membandingkan diameter zona bening dengan diameter koloni agens hayati (Faramarzi *et al.* 2009).

Uji Potensi Penginduksi Ketahanan Agens Hayati

Induksi Agens Hayati. Induksi agens hayati dilakukan melalui perendaman benih padi varietas Ciherang dalam suspensi agens hayati (kerapatan 10^9 cfu mL⁻¹) selama 12 jam,

selanjutnya benih ditanam pada medium tanam yang telah dicampur dengan suspensi agens hayati (kepadatan 10^7 cfu g⁻¹). Perlakuan diulang tiga kali. Analisis total fenol, aktivitas kitinase, peroksidase, dan *phenylalanine ammonia lyase* (PAL) dilakukan saat tanaman berumur 14 hari setelah semai (Murthy *et al.* 2014).

Analisis Total Fenol. Analisis total fenol dilakukan berdasarkan metode Murthy *et al.* (2014). Perubahan warna biru diukur absorbansinya pada $\lambda = 725$ nm dengan katekol sebagai standar. Jumlah fenolat dinyatakan sebagai mg katekol mg⁻¹ protein.

Aktivitas Kitinase. Ekstraksi protein dilakukan berdasarkan metode Sukma *et al.* (2012). Aktivitas kitinase ditentukan berdasarkan kemampuannya untuk mendegradasi substrat dimer *pnitrophenil N-asetil β -D glucosaminide* (pNP-NacGluc). Nilai absorbansi diukur pada $\lambda = 405$ nm. Aktivitas kitinase dihitung sebagai banyaknya pNP NacGluc (mM) yang dibebaskan per jam per mg protein (mM pNP jam⁻¹ mg⁻¹ protein).

Aktivitas Peroksidase. Ekstraksi protein berdasarkan metode Kar dan Mishra (1976), sementara analisis enzim berdasarkan metode yang dideskripsikan Sukma *et al.* (2012). *Purpurogallin* yang terbentuk diukur nilai absorbansinya pada $\lambda = 420$ nm setiap 30 detik dalam periode 0-150 detik. Aktivitas peroksidase dihitung sebagai peningkatan nilai absorbansi per satuan waktu per bobot protein (ΔA_{420} menit⁻¹ mg⁻¹ protein).

Aktivitas PAL. Aktivitas PAL ditentukan berdasarkan metode yang dideskripsikan oleh Ngadze *et al.* (2012). Konsentrasi asam *trans-cinamic* diukur pada $\lambda = 290$ nm dan aktivitas enzim dinyatakan sebagai A_{290} mg *cinnamic acid* menit⁻¹ mg⁻¹ protein.

Peningkatan total fenol, aktivitas enzim kitinase, feoksidase, dan PAL tanaman sebagai respons adanya induksi agens hayati dinyatakan dalam persentase peningkatan terhadap kontrol.

Karakterisasi Sifat Agens Hayati dalam Mendukung Kesehatan Tanaman

Produksi Siderofor. Pengujian menggunakan metode *paper disc diffusion* pada

medium agar-agar *chrome azurol sulfonat* (CAS) (Alexander dan Zuberer 1991). Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona oranye yang terbentuk pada dua hari setelah inokulasi (HSI). Indeks siderofor (IS) dihitung dengan membandingkan diameter zona oranye dengan diameter koloni agens hayati.

Produksi Fosfatase. Pengujian dilakukan dengan metode *paper disc diffusion* (Mishra *et al.* 2011) pada medium agar pikovskaya, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama empat hari. Zona bening yang terbentuk mengindikasikan adanya kemampuan pelarutan fosfat. Indeks kelarutan fosfat (IKP) dihitung dengan membandingkan diameter zona bening dengan diameter koloni (Karpagam dan Nagalakshmi 2014).

Uji Kompatibilitas Agens Hayati Potensial

Uji kompatibilitas dilakukan secara berpasangan antara dua jenis agens hayati. Pengujian dilakukan berdasarkan metode Mishra *et al.* (2011) pada medium agar nutrisi. Kompatibilitas antaragens hayati ditentukan berdasarkan pada terbentuk atau tidaknya zona bening di sekitar kertas saring.

HASIL

Mekanisme Pengendalian Enam Agens Hayati terhadap Patogen Penting Padi

Enam agens hayati uji memiliki potensi menekan patogen melalui mekanisme antibiosis dan lisis, selain itu juga berpotensi sebagai penginduksi ketahanan dan pendukung kesehatan tanaman (Tabel 1). Uji biakan ganda dan uji senyawa volatil, serta uji produksi enzim kitinolitik, menunjukkan bahwa penekanan terhadap patogen terjadi akibat adanya mekanisme antibiosis dengan menghasilkan metabolit sekunder dan senyawa volatil, serta pada uji produksi enzim kitinolitik, dua agens hayati, yaitu *Chromobacterium* sp. T51118 dan *Streptomyces* sp. T51105 menunjukkan adanya mekanisme lisis. Adanya mekanisme antibiosis dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antibiotik dan senyawa volatil dapat dilihat dari hasil uji

Tabel 1 Mekanisme pengendalian enam agens hayati

Agens hayati	Mekanisme pengendalian			
	Antibiosis	Produksi enzim kitinase	Induksi ketahanan	Pendukung kebugaran
<i>Ralstonia pickettii</i> TT47	+	-	+	+
<i>Chromobacterium</i> sp. T51118	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P12	+	-	+	+
<i>Streptomyces</i> sp. T51105	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i> EA2 154	+	-	+	+
<i>Bacillus subtilis</i> EB4 451	+	-	+	+

biakan ganda (Gambar 1), sementara adanya aktivitas senyawa volatil dalam menekan pertumbuhan patogen dibuktikan dari hasil uji senyawa volatil (Gambar 2).

Mekanisme lisis oleh *Chromobacterium* sp. T51118 dan *Streptomyces* sp. T51105 dalam menekan patogen dibuktikan dengan hasil uji produksi enzim kitinolitik menggunakan medium agar koloidal kitin. Kedua agens hayati ini mampu mendegradasi komponen kitin yang terkandung dalam medium yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar kedua agens hayati ini (Gambar 3).

Besarnya penekanan setiap agens hayati terhadap pertumbuhan 5 patogen uji akibat adanya mekanisme antibiosis dan indeks kitinolitik disajikan pada Tabel 2. Penekanan pertumbuhan enam agens hayati cukup bervariasi. Hasil uji biakan ganda menunjukkan bahwa penekanan pertumbuhan oleh *R. pickettii* dan *P. fluorescens* tergolong kuat terhadap *P. oryzae* dengan penekanan secara berurutan sebesar 79.68% dan 77.59%, sementara aktivitas senyawa volatil yang kuat diperlihatkan oleh *Chromobacterium* sp. terhadap *P. oryzae* dan *R. solani* dengan penekanan tertinggi hingga 100%.

Chromobacterium sp. galur T51118 dan *Streptomyces* sp. galur T51105 diketahui mampu memproduksi enzim kitinolitik. Tingginya kemampuan kedua bakteri ini dalam mendegradasi senyawa kitin dapat diketahui dari nilai indeks kitinolitiknya (IK). *Chromobacterium* sp. galur T51118 memiliki nilai IK lebih tinggi dibandingkan dengan *Streptomyces* sp. galur T51105.

Agens Hayati sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman

Analisis ekspresi tanaman menunjukkan bahwa enam agens hayati memiliki kemampuan sebagai penginduksi ketahanan tanaman dengan memicu tanaman meningkatkan kandungan total fenol, aktivitas kitinase, peroksidase, dan PAL (Tabel 3). Setiap agens hayati memiliki keunggulan yang berbeda sebagai penginduksi ketahanan tanaman.

Karakter Agens Hayati dalam Mendukung Kebugaran Tanaman

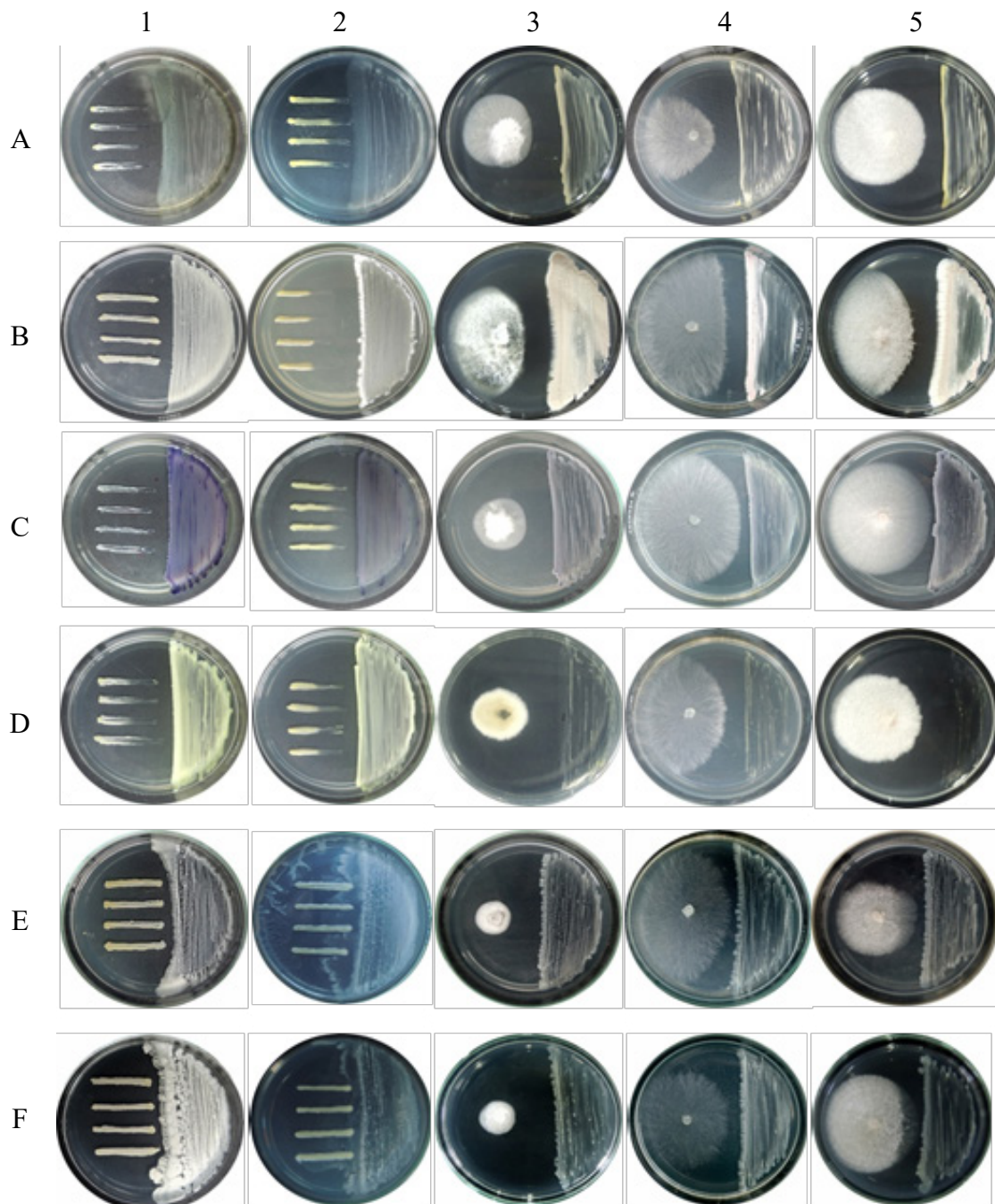
Indikator agens hayati mampu memproduksi siderofor ialah terbentuknya zona berwarna oranye di sekitar agens hayati, sementara yang menjadi indikator agens hayati mampu melarutkan fosfat ialah terbentuknya zona bening di sekitar agens hayati. Semua agens hayati mampu memproduksi siderofor, sementara hanya dua agens hayati yang mampu melarutkan fosfat, yaitu *R. pickettii* TT47 dan *P. fluorescens* P12 (Gambar 4).

Kompatibilitas Antaragens Hayati

Empat pasangan agens hayati yang kompatibel dalam uji kompatibilitas ini ialah *P. fluorescens* P12 dengan *Chromobacterium* sp. T51118, *P. fluorescens* P12 dengan *R. pickettii* TT47, *Chromobacterium* sp. T51118 dengan *R. pickettii* TT47, dan pasangan *Bacillus subtilis* EB4 451 dengan *B. subtilis* EA2 154 (Tabel 4).

PEMBAHASAN

Kajian sifat unggul suatu agens hayati terutama tentang mekanisme pengendalian menjadi tahap awal dalam pengembangan

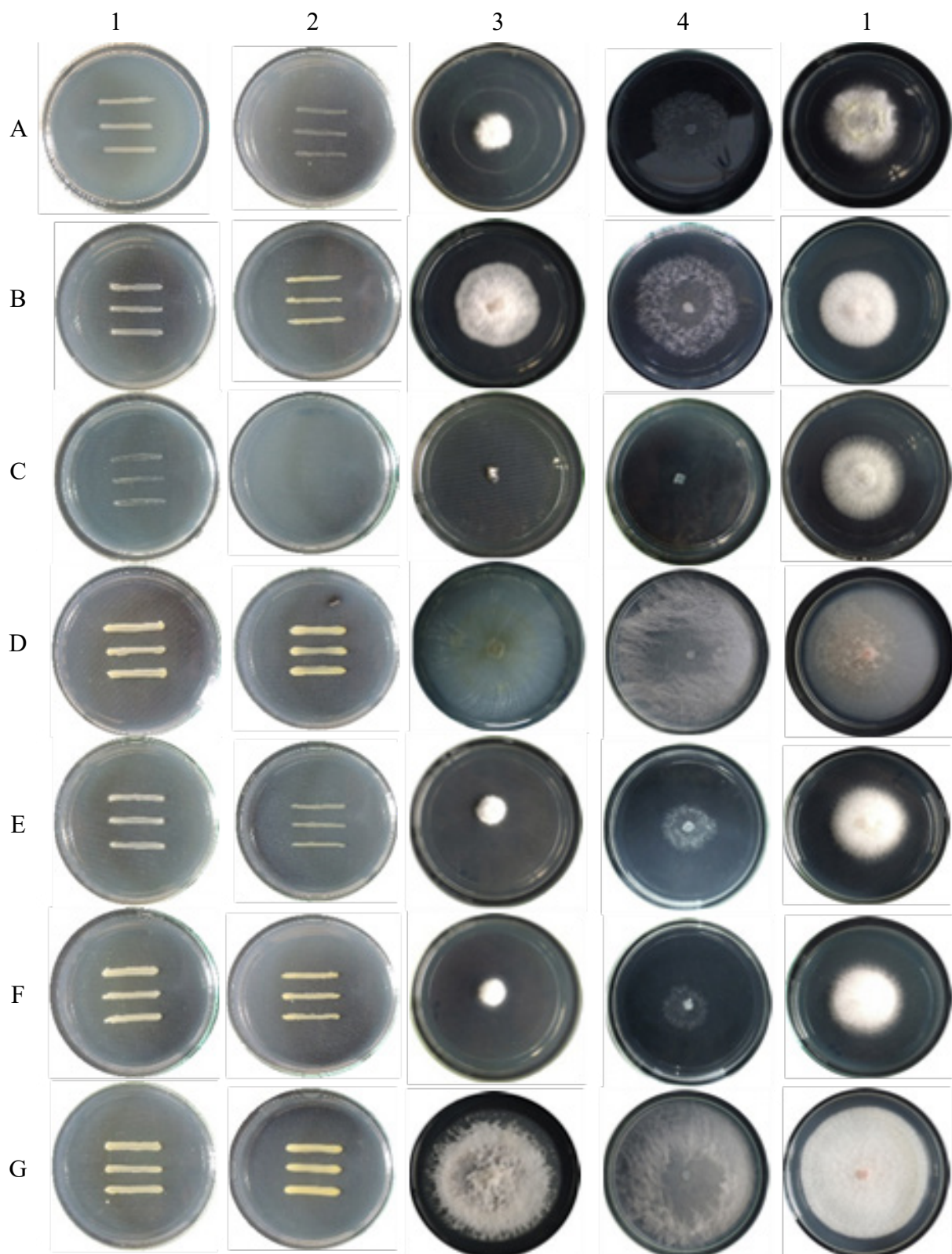


Gambar 1 Penghambatan pertumbuhan patogen oleh agens hayati dengan metode uji biakan ganda: A, *Pseudomonas fluorescens* P12; B, *Streptomyces* sp. T51105; C, *Chromobacterium* sp. T51118; D, *Ralstonia pickettii* TT47; E, *Bacillus subtilis* EA2 154; dan F, *Bacillus subtilis* EB4 451 terhadap patogen: 1, *Burkholderia glumae*; 2, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; 3, *Pyricularia oryzae*; 4, *Rhizoctonia solani*; dan 5, *Drechlera oryzae*.

teknologi pengendalian hayati. Mekanisme pengendalian yang dimiliki agens hayati secara umum dibagi menjadi dua tipe, yaitu bersifat langsung dan tidak langsung. Mekanisme pengendalian secara langsung dapat berupa hiperparasit atau predasi, antibiosis atau lisis, sedangkan secara tidak langsung di antaranya

kompetisi nutrisi, pertumbuhan tanaman, dan induksi ketahanan tanaman (Pal dan Gardener 2006).

Enam agens hayati yang diuji secara umum memiliki kedua tipe pengendalian, yaitu secara langsung dan tidak langsung. Mekanisme pengendalian secara langsung yang dimiliki



Gambar 2 Penghambatan pertumbuhan patogen oleh agens hayati dengan metode uji produksi senyawa volatil: A, *Pseudomonas fluorescens* P12; B, *Ralstonia pickettii* TT47; C, *Chromobacterium* sp. T51118; D, *Streptomyces* sp. T51105; E, *Bacillus subtilis* EA2 154; dan F, *Bacillus subtilis* EB4 451 terhadap patogen: 1, *Burkholderia glumae*; 2, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; 3, *Pyricularia oryzae*; 4, *Rhizoctonia solani*; 5, *Drechlera oryzae*; dan G, Pertumbuhan patogen uji pada kontrol.

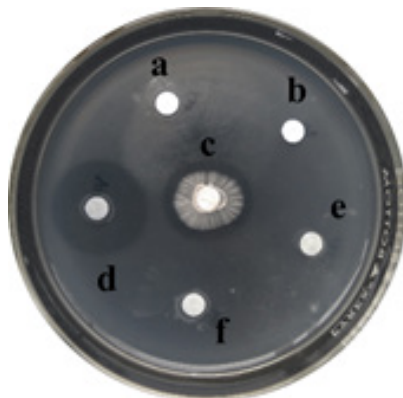
Tabel 2 Kemampuan agens hayati dalam menekan pertumbuhan beberapa patogen penting pada tanaman padi melalui mekanisme antibiosis berdasarkan metode uji biakan dan uji senyawa volatil dan kemampuan melalui mekanisme lisis

Agens hayati	Daya hambat agens hayati terhadap patogen uji (%) ^a dengan dua metode pengujian										Indeks kitinolitik
	Biakan ganda					Volatil					
	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Drechlera oryzae</i>	<i>Xantomonas oryzae</i>	<i>Burkholderia glumae</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Drechlera oryzae</i>	<i>Xantomonas oryzae</i>	<i>Burkholderia glumae</i>	
<i>Ralstonia pickettii</i> TT47	79.68a	50.63bc	64.37a	48.89ab	22.22a	40.60c	44.81c	40.79ab	37.58c	33.72b	-
<i>Cromobacterium</i> sp. T51118	53.49c	32.66d	33.75b	33.33b	5.56b	100.00a	100a	44.83a	96.59a	50.92a	3.250
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P12	77.59a	74.57a	55.48a	51.11a	6.67b	79.61b	47.45c	35.29abc	41.90c	40.51ab	-
<i>Streptomyces</i> sp. T51105	73.42ab	59.98b	56.41a	33.33b	0.00c	0.00d	0.00d	10.98d	6.05e	16.84c	1.278
<i>Bacillus subtilis</i> EA2 154	49.33c	45.79c	23.33b	0.00c	0.00c	53.70c	65.88b	28.51bc	49.36b	31.58b	-
<i>Bacillus subtilis</i> EB4 451	64.58b	47.39c	31.11b	0.00c	0.00c	53.70c	67.06b	25.44dc	22.65d	5.05c	-

Angka rata-rata pada kolom yang sama dan diikuti yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji tukey pada taraf 5%.

ialah antibiosis dengan menghasilkan senyawa antibiotik dan volatil, juga mekanisme lisis sel dengan menghasilkan enzim pendegradasi (*lytic enzymes*). Senyawa antibiotik dapat bersifat membunuh atau memberikan efek

penghambatan pertumbuhan mikroba dengan cara kerja di antaranya memengaruhi pembentukan dinding sel, menghambat sintesis protein, merusak fungsi membran plasma, menghambat sintesis DNA, dan menghambat pembentukan molekul esensial (Walker 2001; Leclere *et al.* 2005).

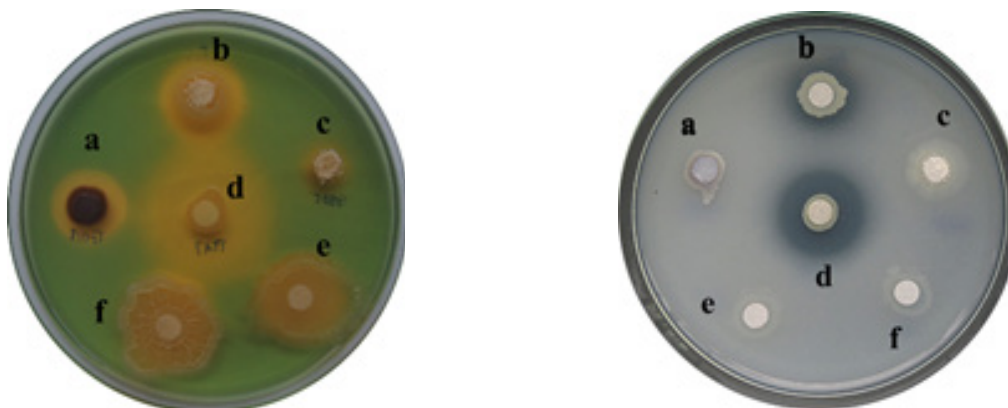


Gambar 3 Kemampuan agens hayati dalam produksi enzim kitinolitik. a, *Bacillus subtilis* EB4 451; b, *Pseudomonas Fluorescens* P12; c, *Streptomyces* sp. T51105; d) *Chromobacterium* sp. T51118, e) *Ralstonia pickettii* TT47, f) *Bacillus subtilis* EA2 154.

Mekanisme pengendalian secara tidak langsung dari agens hayati uji mampu menginduksi tanaman. Kemampuan agens hayati dalam menginduksi ketahanan tanaman merupakan pendekatan pengendalian dari dalam tanaman. Mekanisme ini memungkinkan tanaman membangun sistem pertahanan sendiri terhadap patogen sehingga akan lebih efisien dan bersifat berkelanjutan. Menurut Murthy *et al.* (2014) mekanisme ketahanan ini terbentuk dengan cara menginduksi tanaman untuk memperkuat sistem pertahanan melalui pembatasan perluasan infeksi patogen secara fisik, maupun dengan pengaktifan gen pengode kitinase, peroksidase (POX), PAL, atau *polyphenol oksidase* (PPO). Secara umum,

Tabel 3 Produksi total fenol, aktivitas kitinase, peroksidase, dan phenylalinin ammonia liase tanaman akibat adanya induksi agens hayati

Agens hayati	Peningkatan (%)			
	Total fenol	Aktivitas kitinase	Peroksidase	Aktivitas PAL
<i>Ralstonia pickettii</i> TT47	-2.98	74.75	66.66	91.57
<i>Chromobacterium</i> sp. T51118	28.55	-13.07	16.18	94.18
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P12	39.46	27.57	48.18	149.09
<i>Streptomyces</i> sp. T51105	-2.11	-16.74	19.17	43.15
<i>Bacillus subtilis</i> EA2 154	-0.19	119.80	5.31	50.03
<i>Bacillus subtilis</i> EB4 451	28.26	8.81	21.08	198.37



Gambar 4 Ekspresi agens hayati dalam memproduksi siderofor (kiri) dan fosfatase (kanan). a, *Chromobacterium* sp. T51118; b, *Pseudomonas fluorescens* P12; c, *Streptomyces* sp. T51105; d, *Ralstonia pickettii* TT47; e, *Bacillus subtilis* EA2 154; dan f, *Bacillus subtilis* EB4 451.

Tabel 4 Reaksi isolat agens hayati pada uji kompatibilitas

Agens hayati	<i>Ralstonia pickettii</i> TT47	<i>Chromobacterium</i> sp. T51118	<i>Pseudomonas fluorescens</i> P12	<i>Streptomyces</i> sp. T51105	<i>Bacillus subtilis</i> EA2 154	<i>Bacillus subtilis</i> EB4 451
<i>Ralstonia pickettii</i> TT47	-	-	-	-	-	-
<i>Chromobacterium</i> sp. T51118	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P12	-	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces</i> sp. T51105	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i> EA2 154	+	+	+	+	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> EB4 451	+	+	+	+	-	-

Ket: (-) tidak terbentuk zona bening (bersifat kompatibel); (+) terbentuk zona bening (tidak kompatibel)

semua agens hayati mampu menginduksi ketahanan tanaman dengan meningkatkan total fenol tanaman, aktivitas kitinase, peroksidase, dan PAL.

Mekanisme tidak langsung lainnya ialah agens hayati uji berpotensi sebagai pendukung pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan siderofor dan kemampuan melarutkan fosfat. Adanya karakter ini memungkinkan agens hayati mampu melindungi tanaman dari patogen melalui peningkatan kebugaran dan kesehatan tanaman sehingga terhindar dari serangan patogen.

Hasil pengujian terhadap enam agens hayati, diketahui bahwa *R. pickettii* TT47, *P. fluorescens* P12, *B. subtilis* EA2 154 dan EB4 451 memiliki mekanisme pengendalian melalui mekanisme antibiosis, mampu menginduksi ketahanan tanaman dan mendukung pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan siderofor dan melarutkan fosfat. Sementara *Chromobacterium* sp. galur T51118 dan *Streptomyces* sp. galur T51105, selain memiliki ketiga karakter di atas, keduanya juga mampu menghasilkan enzim kitinase, artinya selain menekan patogen dengan senyawa antibiotik dan senyawa volatilnya, penekanan juga dapat dilakukan melalui penghancuran sel atau lisis. Enzim kitinase diketahui mampu menghidrolisis kitin yang merupakan komponen utama penyusun dinding sel cendawan. Kitinase menghidrolisis kitin dengan memutus ikatan β -1,4 homopolimer N-asetilglukosamin menjadi monomer N-asetilglukosamin (Famarzi *et al.* 2009).

Keunggulan lain dari enam agens hayati ini selain dari aspek mekanisme pengendaliannya ialah keberagaman patogen sasaran. Enam agens hayati tidak bersifat spesifik patogen sasaran, yaitu memiliki tiga hingga lebih patogen sasaran, bahkan *R. pickettii* TT47, *P. fluorescens* P12, dan *Chromobacterium* sp. T51118 memiliki kisaran patogen sasaran yang cukup luas. Ketiganya mampu menekan pertumbuhan *P. oryzae*, *R. solani*, *D. oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzae*, dan *B. glumae*.

Karakter unggul lainnya dari agens hayati yang diuji ialah kompatibel antaragens hayati.

Sifat kompatibel antaragens hayati akan lebih membantu dalam pencapaian target pengendalian, hal ini melihat mekanisme pengendalian yang dominan dari agens hayati tidak selalu sama.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh informasi bahwa enam agens hayati yang diuji memiliki sifat unggul dalam menekan patogen, yaitu memiliki mekanisme antibiosis dan lisis, mampu menginduksi ketahanan tanaman, dan mendukung kebugaran dan kesehatan tanaman. Selain itu agens hayati tersebut memiliki jenis patogen sasaran yang beragam. Hasil penelitian diperoleh tiga bakteri agens hayati yang unggul, yaitu *P. fluorescens* P12, *R. pickettii* TT47, dan *Chromobacterium* sp. galur T51118. Ketiganya mampu menekan pertumbuhan patogen mampu menginduksi ketahanan dan mendukung kebugaran tanaman, memiliki patogen sasaran yang lebih beragam, serta bersifat kompatibel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian yang telah membiayai Pendidikan program Doktor.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander DB, Zuberer DA. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biol Fertil Soils*. 2:39–45. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00369386>.
- Famarzi MA, Fazeli M, Yazdi MT, Adrangi S, Al-Ahmadi KJ, Tasharrofi N, Mohseni FA. 2009. Optimization of cultural condition for production citinase by soil isolate of *Massilia timonae*. *J Biotechnol*. 8(1):93–99. DOI: <https://doi.org/10.3923/biotech.2009.93.99>.
- Haggag WM, Soud MAE. 2012. Production and optimization of *Pseudomonas fluorescens* biomass and metabolites for biocontrol of strawberry grey mould. *Am J Plant Sci*. 3:836–845. DOI: <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.37101>.

- Kar M, Mishra D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57:315–319. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>.
- Karpagam T, Nagalakshmi PK. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural soil. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 3(3):601–614.
- Kartika R, Syafi'i W, Hanafi M. 2003. Aktivitas antijamur damar mata kucing. *JTHH.* 16(2):81–89.
- Kurniawati S, Mutaqin KH. 2016. Eksplorasi dan uji senyawa bioaktif bakteri agensia hayati untuk pengendalian penyakit kresek pada padi. *J HPT Tropika.* 15(2):170–179. DOI: <https://doi.org/10.23960/jhptt.215170-179>.
- Leclere V, Bechet M, Adam A, Guez JS, Wathelet B, Ongena M, Thonart P, Gancel F, Chollet-Imbert M, Jacques P. 2005. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Appl Environ Microbiol.* 71:4577–4584. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4577-4584.2005>.
- Mishra DS, Kumar A, Prajapati CR, Singh AK, Sharma SD. 2011. Identification of compatible bacteria and fungal isolate and their effectiveness against plant disease. *J Environ Biol.* 34:183–189.
- Murthy KN, Uzma F, Chitrashree, Srinivas C. 2014. Induction of systemic resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* by *Pseudomonas fluorescens*. *Am J Plant Sci.* 5:1799–1811. DOI: <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.512193>.
- Ngadze E, Icishahayo D, Coutinho TA, van der Waals JE. 2012. Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. *Plant Dis.* 96:186–192. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-11-0149>.
- Nurfadillah. 2016. Uji potensi dan kompatibilitas bakteri agens hayati untuk pengendalian *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas pada padi [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Pal KK, Gardener BM. 2006. Biological control of plant pathogens. *Plant Health Inst.* 2006: 1–25. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02>.
- Parida I, Damayanti TA, Giyanto. 2016. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri endofit sebagai agens penginduksi ketahanan padi terhadap hawar daun bakteri. *J Fitopatol Indones.* 12(6):199–208.
- Rustam. 2012. Potensi bakteri penghasil senyawa bioaktif anticendawan untuk pengendalian penyakit hawar pelepah padi [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Singh PP, Shin YC, Park CS, Chung YR. 1999. Biological control of fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology.* 89:92–99. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.1.92>.
- Sivan A, Ucko O, Chet I. 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field condition. *Plant Dis* 71:587–595. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-71-0587>.
- Skidmore AM, Dickinson CH. 1976. Colony interaction and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. *Trans British Mycol Soc.* 66(1):57–64. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(76\)80092-7](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(76)80092-7).
- Sukma D, Poerwanto R, Sudarsono R, Khumaida N, Artika IM, Wiyono S. 2012. Aktivitas kitinase dan peroksidase dari ekstrak kasar protein asal kalus dan berbagai jaringan tanaman *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina*. *J Agron Indones.* 40(3):225–231.
- Velho-Pereira S, Kamat NM. 2011. Antimicrobial screening of actiobacteria using a modified cross-streak method. *Indian J Pharm Sci.* 73(2): 223–228. DOI: <https://doi.org/10.4103/0250-474X.91566>.
- Walker R, Innes CMJ, Allan EJ. 2001. The potential biocontrol agent *Pseudomonas* antimicrobial inhibits germination of conidia and outgrowth of *Botrytis cinerea*. *Lett Appl Microbiol.* 32:346–348. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2001.00915.x>.