

Penapisan dan Identifikasi Bakteri Agens Biokontrol Penyakit Layu *Fusarium* Hasil Isolasi dari Rizosfer Pisang

Screening and Identification of Bacteria as Biological Control Agents for *Fusarium* Wilt Disease from Banana Rhizosphere

Dwi Agustiyani*, Achirul Nditasari, Nur Laili, Sarjiya Antonius
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong 16911

ABSTRAK

Penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang yang diakibatkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* merupakan salah satu penyakit yang sangat merusak tanaman pisang di daerah tropik. Pengendalian penyakit layu secara biologi menjadi salah satu solusi. Penelitian ini bertujuan mendapatkan agens pengendali *F. oxysporum* f. sp. *cubense* yang potensial. Bakteri dan aktinomiset diisolasi dari sampel tanah perakaran tanaman pisang di Lampung dan Cianjur. Sebanyak 64 isolat aktinomiset dan 142 isolat bakteri diperoleh dari lokasi tersebut. Uji antagonis terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dari isolat tersebut menunjukkan bahwa 10 isolat aktinomiset dan 21 isolat bakteri positif memiliki daya hambat. Isolat aktinomiset memperlihatkan kemampuan menghambat *F. oxysporum* f. sp. *cubense* relatif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri. Isolat-isolat yang bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense* diuji aktivitas enzim protease, kitinase, dan selulase secara kualitatif pada medium spesifik. Semua isolat aktinomiset yang diuji mempunyai aktivitas enzim kitinase, tetapi hanya 5 isolat bakteri mempunyai aktivitas enzim tersebut. Sebanyak 13 isolat bakteri memiliki aktivitas enzim protease dan hanya 1 isolat aktinomiset yang mempunyai aktivitas protease. Dua isolat bakteri (L.II.4.ND dan L.A.I-5.DW) dan 3 isolat aktinomiset (L.A.I.DW, L.3.1.DW dan Ci.I.A5.DW) mampu menghambat *F. oxysporum* f. sp. *cubense* cukup tinggi dan mempunyai aktivitas enzim lisis. Isolat memiliki homologi 99% dengan *Klebsiella pneumonia* (L.II.4.ND), *Burkholderia* sp. (L.A.I-5.DW), *Streptomyces* sp. (L.A.I.DW), *Streptomyces* sp. (L.3.1.DW), dan *Streptomyces* sp. (Ci.I.A5.DW).

Kata kunci: antagonis, kitinase, protease, selulase

ABSTRACT

Banana wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp.*cubense* is considered as one of the most destructive diseases on banana plants in the tropical region. Biological control agents (BCA's) have become a promising solution to overcome this disease. The objective of this study was to find potential BCA's for wilt disease of banana plants. Bacteria and actinomycetes were isolated from banana's rhizosphere in Lampung and Cianjur. As much as 64 actinomycetes and 142 bacteria isolates were obtained. Antagonistic test against *F. oxysporum* f. sp. *cubense* of those isolates showed that 21 bacteria and 10 actinomycete isolates have abilities to inhibit *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Actinomycetes showed relatively higher inhibition against *F. oxysporum* f. sp. *cubense* compared to bacteria. Isolates which have positive antagonistic activities against *F. oxysporum* f. sp. *cubense* were then tested for their protease, chitinase, and selulase activities qualitatively on specific medium. All actinomycetes which were tested had chitinase enzyme activities, while only 5 bacterial isolates had chitinase activities. On the other hand, 13 bacterial isolates showed protease activities and only 1 actinomycete showed

*Alamat penulis korespondensi: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jalan Raya Bogor-Jakarta Km 46, Cibinong 16911
Tel: 021-8765066, Faks: 021-8765062, Surel: titinagustin@yahoo.com

protease activity. Two bacterial isolates (L.II.4.ND and L.A.I-5.DW) and 3 actinomycetes (L.A.I.DW, L.3.1.DW and Ci.I.A5.DW) which showed high inhibition against *F. oxysporum* f. sp. *cubense* and lysozyme activities were identified based on 16S rRNA genes. Analysis based on GenBank data, those isolates have 99% homology to *Klebsiella pneumonia* (L.II.4.ND), *Burkholderia* sp. (L.A.I-5.DW), *Streptomyces* sp. (L.A.I.DW), *Streptomyces* sp. (L.3.1.DW) and *Streptomyces* sp. (Ci.I.A5.DW).

Key words: antagonistic, cellulase, chitinase, protease

PENDAHULUAN

Penyakit layu *Fusarium* atau lebih dikenal dengan *Panama disease* merupakan penyakit mematikan paling penting pada tanaman pisang (Ploetz 2006). Penyakit ini disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Fusarium* menginfeksi akar tanaman, kemudian menjalar ke rizom dan batang semu sehingga menyebabkan kematian pada jaringan atau seluruh bagian tanaman. *F. oxysporum* f. sp. *cubense* sangat sulit dikendalikan secara tuntas karena hidup sebagai saprofit. Patogen ini juga dapat bertahan sangat lama di tanah hingga mendapatkan atau mengenali tanaman yang dapat diinfeksi. Penyakit layu kemungkinan berasal dari Asia Tenggara, tetapi penyakit ini pertama kali dilaporkan di Australia pada tahun 1876. Penyakit ini ditemukan di semua area yang memproduksi pisang kecuali Mediteranean, Melanesia, Somalia, dan beberapa pulau di Pasifik Selatan (Ploetz 2006). Penelitian mengenai upaya pengendalian *F. oxysporum* f. sp. *cubense* telah banyak dilakukan, termasuk upaya pengendalian secara kimia dengan menggunakan fungisida (Nel *et al.* 2007), pengendalian secara fisika, rotasi tanaman (Huang *et al.* 2012), pengelolaan nutrisi tanah, dan varietas pisang yang resisten (Hwang dan Ko 2004) maupun secara biologi menggunakan agens pengendali hayati (Sivamani *et al.* 1988). Pengendalian secara biologi merupakan salah satu alternatif yang menjanjikan karena selain aman secara ekologi dan spesifik terhadap patogen, agens pengendali biologi (APB) mampu hidup di tanah dalam jangka waktu lama. Pada dekade terakhir perhatian publik kembali tercurah pada penelitian dasar dan pemanfaatan mikrob endofit dan rizosfer sebagai APB. Pemanfaatan komunitas mikrob rizosfer sama

pentingnya dengan mikrob endofit karena sistem perakaran merupakan daerah penting penyerapan nutrisi bagi tanaman dan juga daerah yang rentan bagi masuknya penyebab penyakit tanaman yang berasal dari tanah.

Bakteri rizosfer, seperti *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, dan *Streptomyces* merupakan bakteri agens biokontrol untuk patogen tanaman (Kloepper *et al.* 2004; de Vasconcellos dan Cardoso 2009). Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* oleh bakteri biokontrol dilakukan melalui mekanisme kompetisi nutrisi, oksigen dan habitat; sintesis enzim hidrolase, seperti kitinase, protease, dan β -1-3 glucanase; serta sekresi senyawa antibiotik atau senyawa anticendawan lainnya (de Azaredo *et al.* 2004; Nourozian *et al.* 2006; Rodas-Junco *et al.* 2009). *Bacillus* sp. dan *Streptomyces* sp. diketahui mampu mensekresikan protease dan kitinase yang berpotensi dalam melisiskan dinding sel *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dan menghambat pertumbuhannya (Kloepper *et al.* 2004; de Azaredo *et al.* 2004; Rodas-Junco *et al.* 2009).

Pada penelitian ini dilakukan penapisan sejumlah isolat bakteri dan aktinomiset yang diisolasi dari tanah perakaran tanaman pisang sebagai agens biokontrol terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

BAHAN DAN METODE

Isolat Bakteri dan Aktinomiset

Bakteri dan aktinomiset diisolasi dari rizosfer tanaman pisang yang dikoleksi dari perkebunan pisang di Lampung dan Cugenang-Cianjur. Tanah rizosfer perkebunan pisang di Lampung ada tiga kategori, yaitu tanah rizosfer dengan tingkat serangan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tinggi (> 20%), sedang (6%),

dan rendah (2%). Sampel lainnya ialah tanah rizosfer pisang SJ20 yang cukup resisten terhadap serangan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dan tanah rizosfer pisang Rejang yang relatif resisten terhadap serangan *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Sampel dari perkebunan pisang di Cianjur ialah tanah rizosfer pisang yang relatif tidak terserang *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, terserang *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, dan selama 5 tahun tidak panen, juga tanah rizosfer pisang yang paling tinggi dengan serangan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dan serangan penyakit lainnya.

Bakteri dan aktinomiset diisolasi dari sampel tanah menggunakan metode sebar dengan pengenceran berseri pada medium *yeast soluble agar* (YSA) (2 g ekstrak khamir, 10 g *soluble starch*, 15 g agar-agar, 1 L akuades, pH 7.2). Isolasi bakteri menggunakan medium agar-agar nutrisi (10 g ekstrak kaldu, 10 g pepton, 5 g NaCl, 15 g agar-agar, dan 1 L akuades). Cawan petri diinkubasi pada suhu 28 °C selama 2–7 hari.

Koloni bakteri/aktinomiset dimurnikan pada medium YSA atau agar-agar nutrisi. Biakan murni bakteri disimpan di tabung reaksi pada medium agar-agar nutrisi dan isolat aktinomiset pada medium agar-agar *international streptomyces project* (ISP2) (4 g ekstrak khamir, 10 g ekstrak malt, 4 g dekstrosa, 16 g agar-agar, 1 L akuades, pH 7.2). Isolat tersebut diinkubasi pada suhu 28 °C sampai terjadi sporulasi, kemudian disimpan pada suhu 4 °C.

Uji Aktivitas Antagonisme Bakteri dan Aktinomiset terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense* secara *in Vitro*

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* yang digunakan sebagai patogen uji berasal dari Lampung (koleksi Loekas Soesanto, Unsoed Purwokerto). Uji aktivitas biokontrol terhadap patogen uji menggunakan *cross-plug* dengan dua ulangan. Satu ose biakan bakteri atau aktinomiset ditumbuhkan di tengah cawan petri yang berisi medium PDA dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama 2 hari. Masing-masing 1 blok agar-agar patogen uji berdiameter 5 mm ditumbuhkan pada medium PDA pada

kedua sisi cawan dengan jarak 2 cm dari bakteri atau aktinomiset. Untuk perlakuan kontrol, 1 blok agar-agar patogen uji ditumbuhkan pada medium PDA di kedua sisi cawan petri yang tidak diinokulasi dengan bakteri atau aktinomiset.

Setelah 5 hari inkubasi, zona penghambatan yang terbentuk dari aktivitas bakteri atau aktinomiset diamati. Persentase penghambatan dihitung mengikuti rumus (Nourozian *et al.* 2006).

% Penghambatan = $((C-T)/C) \times 100\%$, dengan C, diameter *F. oxysporum* f. sp. *cubense* kontrol; T, diameter *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dengan perlakuan agens pengendali hayati.

Uji Kualitatif Aktivitas Protease

Uji aktivitas protease secara kualitatif ditentukan menggunakan metode *disc blank* yang telah dimodifikasi (Basha dan Ulaganathan 2002). Isolat bakteri diinokulasi pada medium nutrient broth (NB) dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 24 jam, sedangkan isolat aktinomiset diinokulasi pada medium ISP2 dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48–72 jam. Selanjutnya 1 ose biakan bakteri atau aktinomiset diletakkan di bagian tengah cawan petri yang berisi medium *protease-skim milk agar* 1%, pH 7.0 dengan 2 ulangan dan diinkubasi pada suhu 28 °C.

Zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni bakteri/aktinomiset diukur diameternya. Aktivitas secara kualitatif ditentukan berdasarkan nilai indeks, yaitu diameter total zona dibagi diameter koloni bakteri.

Uji Kualitatif Aktivitas Kitinase

Uji aktivitas kitinase secara kualitatif ditentukan dengan metode *disc blank* (Basha dan Ulaganathan 2002). Isolat bakteri diinokulasi pada medium NB dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 24 jam, sedangkan isolat aktinomiset diinokulasi pada medium ISP2 dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48–72 jam. Selanjutnya 1 ose bakteri atau aktinomiset diletakkan pada bagian tengah cawan petri yang berisi medium agar-agar kitin 0.5% (5 g kitin, 3 g glukosa, 1 g polipepton,

1 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 20 g agar-agar, dan 1 L akuades, pH 6.8) dengan 2 ulangan dan diinkubasi pada suhu 28 °C.

Pengamatan zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni bakteri atau aktinomiset diukur diameternya. Aktivitas secara kualitatif ditentukan berdasarkan nilai indeks, yaitu diameter total zona dibagi diameter koloni bakteri.

Uji Kualitatif Aktivitas Selulase

Uji aktivitas selulase secara kualitatif ditentukan dengan menggunakan metode *disc blank* yang telah dimodifikasi (Basha dan Ulaganathan 2002). Isolat bakteri diinokulasi pada medium NB dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 24 jam, sedangkan isolat aktinomiset diinokulasi pada medium ISP2 dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48–72 jam. Selanjutnya 1 ose bakteri/aktinomiset diletakkan pada bagian tengah cawan petri yang berisi medium *carboxymethyl cellulose* (CMC) (10 g CMC, 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.75 g KNO_3 , 0.5 g K_2HPO_4 , 0.02 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.04 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 g ekstrak khamir, 1 g glukosa, 15 g agar-agar, dan 1 L akuades pH 6.8) dengan 2 ulangan dan diinkubasi pada suhu 28 °C. Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian ditetesi *congo red* 1%, kemudian diamati terbentuknya zona bening di sekelilingnya. Aktivitas secara kualitatif ditentukan berdasarkan pada nilai indeks, yaitu diameter total zona dibagi diameter koloni bakteri.

Identifikasi Bakteri dan Aktinomiset

Ekstraksi DNA bakteri dilakukan berdasarkan metode GES. Sebanyak ± 1 ose sel bakteri disuspensikan dalam ependorf (1.5 mL) yang berisi 1 mL bufer TE, dihomogenkan dengan vorteks, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10 000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. Supernatan dibuang dan sel disuspensikan dalam 50 μL lizozim dengan konsentrasi 0.001 g 1.5 mL (yang terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 37 °C selama 10 menit) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, selanjutnya ditambahkan 250 μL reagen GES (guanidium thyocyanat

5 mol L^{-1} , EDTA 100 mmol L^{-1} , dan sarkosyl 0.5%), dihomogenkan secara hati-hati menggunakan pipet mikro, dan didiamkan selama 10 menit. Selanjutnya 125 μL larutan natrium asetat 7.5 M ditambahkan dan diinkubasi di dalam es selama 10 menit. Sebanyak 500 μL kloroform ditambahkan dan dihomogenkan dengan dibolak-balik sebanyak 50 kali dan disentrifugasi dengan kecepatan 10 000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan 2 lapisan yang terbentuk. Lapisan paling atas ditransfer ke dalam ependorf baru dan ditambah alkohol absolut sebanyak setengah bagian dari volume larutan yang dipindahkan tersebut. Ependorf dibolak-balik dengan hati-hati sampai terbentuk benang-benang DNA. Benang-benang DNA dipindahkan ke ependorf baru dan dicuci dengan etanol 70% dan disentrifugasi. Supernatan dibuang, DNA dikeringanginkan selama ± 10 menit dan kemudian disuspensikan dengan 100 μL 0.2 x TE.

Ekstraksi DNA aktinomiset dilakukan menggunakan PowerSoil® DNA Isolation Kit sesuai petunjuk dari produsen. Amplifikasi PCR menggunakan Primer 20F: 5'GATTTT GATCCTGGCTCAG3' dan Primer 520R: 5'GTGCCAGCAGCCGCGG3'. Hasil amplifikasi PCR dari DNA isolat bakteri dan aktinomiset dirunut urutan kode DNAny dalam format FASTA secara *on-line* di *Genbank* (www.ncbi.nlm.nih.gov) dengan memasukkan data sikuen ke dalam program BLAST.

HASIL

Bakteri dan Aktinomiset dari Tanah Perakaran Tanaman Pisang

Bakteri dan aktinomiset yang berhasil diisolasi dari tanah perakaran pisang perkebunan pisang di Lampung dan kebun pisang lokal di Cianjur ialah 206 isolat. Isolat bakteri terdiri atas 151, jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan aktinomiset yang hanya 55 isolat (Tabel 1).

Aktivitas Penghambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* oleh Isolat Bakteri dan Aktinomiset

Hasil uji antibiosis atau antagonis bakteri dan aktinomiset terhadap patogen uji

Tabel 1 Isolat bakteri dan aktinomiset dari tanah perakaran tanaman pisang dengan tingkat serangan *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* di Lampung dan Cianjur

Daerah	Tingkat serangan pada perakaran	Jumlah
Lampung	Tinggi (> 20%)	29
	Sedang (6%)	32
	Rendah (2%)	17
Rejang Cianjur	Relatif resisten*	18
	Cukup resisten**	25
Cianjur	Relatif tidak terserang	31
	Terserang selama 5 tahun dan tidak dapat panen	28
	Serangan paling tinggi dan serangan penyakit lainnya	26
Total		206

*Perakaran pisang Rejang; ** Perakaran pisang SJ 20

F. oxysporum f. sp. *cubense* menunjukkan 21 isolat bakteri dan 10 isolat aktinomiset dapat menghambat patogen uji. Secara umum isolat aktinomiset memiliki persentase penghambatan yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri. Aktinomiset L.A.I.DW, L.3.1.DW, dan Ci.I.A5.DW memperlihatkan tingkat hambatan yang cukup tinggi (45–60%) dibandingkan dengan isolat bakteri yang hanya mencapai 15–45%. Isolat bakteri yang memperlihatkan kemampuan penghambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* cukup tinggi ialah bakteri L.II.4.ND dan L.A.I-5.DW.

Aktivitas Enzim Protease, Kitinase, dan Selulase

Aktivitas enzim secara kualitatif ditentukan berdasarkan pada terbentuknya zona bening di sekeliling koloni bakteri dan aktinomiset (Tabel 2; Tabel 3). Isolat bakteri yang mempunyai aktivitas enzim protease ialah sebanyak 13 isolat, 3 isolat bakteri (L.A.I-22.DW, L.A.I-5.DW, dan L.A.II-18.DW) mempunyai aktivitas protease cukup tinggi yang

diindikasikan dari indeks zona bening, 5 isolat bakteri (L.I.2.ND, L.II 4.ND, L.A.I-5.DW, L.A.II-18.DW, dan L.P.II-19.DW) mempunyai aktivitas kitinase yang relatif rendah (Tabel 2).

Sebanyak 10 isolat aktinomiset mampu menghambat *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Tabel 3). Semua isolat mempunyai aktivitas kitinase dan 7 isolat mempunyai aktivitas selulase. Berbeda dengan isolat bakteri yang sebagian besar mempunyai aktivitas protease, hanya 2 isolat aktinomiset yang mempunyai aktivitas protease, yaitu aktinomiset L.P.I-5b.DW dan L.8.8.DW.

Dua bakteri diidentifikasi sebagai *Klebsiella pneumonia* (L.II.4.ND) dan *Burkholderia* galur L.A.I-5.DW (Tabel 2) serta tiga aktinomiset diidentifikasi semuanya sebagai *Streptomyces*, yaitu galur L.3.1.DW, L.A.I.DW, dan Ci.I.A5.DW (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Secara umum isolat aktinomiset lebih mampu menghambat *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dibandingkan dengan bakteri. Nourozian *et al.* (2006) juga mengemukakan penghambatan patogen oleh *Streptomyces* sp. lebih tinggi dibandingkan dengan *Bacillus subtilis*. Ada berbagai macam mekanisme penghambatan patogen secara langsung, salah satunya ialah melalui mekanisme parasitisme atau pengerusakan dinding sel patogen menggunakan enzim hidrolase. Enzim hidrolase yang terlibat dalam mekanisme hidrolisis polimer penyusun dinding sel patogen antara lain ialah kitinase, protease, dan selulase (Ramesh dan Mathivanan 2009; Ara *et al.* 2012). Selain mempunyai hidrolase, aktinomiset juga menghasilkan antibiotik dan metabolit sekunder (Adegboye dan Babalola 2012).

Sampai sekarang aktinomiset masih menjadi sumber utama senyawa bioaktif potensial dalam berbagai bidang industri, termasuk pertanian. Metabolit sekunder dari aktinomiset ini telah terbukti dapat berperan sebagai agens biokontrol (Doubou *et al.* 2001). Isolat *Streptomyces angustmyceticus* L.3.1 juga menghasilkan metabolit sekunder,

Tabel 2 Penghambatan isolat bakteri terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* dan aktivitas enzimnya

Isolat bakteri	Uji antagonis	Aktivitas enzim*		
		Protease	Kitinase	Selulase
L. I. 1. ND	+	+	-	-
L. I. 2. ND	++	+	+	-
L. II. 1. ND	+	+	-	-
L. II. 2. ND	+	+	-	-
L. II. 3. ND	+	-	-	-
L. II. 4. ND	++	+	+	+
L. III. 1. ND	++	-	-	-
L. III. 3. ND	++	-	-	-
L.Res. 1. ND	+	-	-	-
L. Rej. 2. ND	+	+	-	-
L.A.I-22.DW	+	+++	-	-
L.A.I-5.DW	++	+++	++	-
L.A.I-9.DW	+	-	-	-
L.A.II.DW	++	-	-	-
L.A.II-17.DW	+	-	-	-
L.A.II-18.DW	+	+++	++	-
L.P.II-18.DW	+	++	-	-
L.P.II-19.DW	+	-	+	-
Ci.I-23.DW	+	+	-	-
Ci.I-8.DW	+	+	-	-
Ci.II-19.DW	+	+	-	-

*Tingkat aktivitas enzim didasarkan pada indeks zona bening, yaitu > 3, +++; 1.5–3, ++; < 1.5, +. Kisaran persentase indeks penghambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* pada uji antagonis. +, 15–35%; ++, 30–45%; +++, 45–60%.

Tabel 3 Penghambatan isolat aktinomiset terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* dan aktivitas enzimnya

Isolat aktinomiset	Uji antagonis	Aktivitas enzim		
		Protease	Kitinase	Selulase
L.A.I.DW	+++	-	+	-
L.P.I-5b.DW	++	++	+	-
L.A.I-1.DW	++	-	+	-
L.3.1.DW	+++	-	++	+
L.8.8.DW	+	+	+	++
L.8.10.DW	+	-	+	+
Ci.I.A5.DW	+++	-	+	+
Ci.II.A14.DW	++	-	++	+
Ci.I.A16.DW	+	-	++	+
Ci.I.18a.DW	+	-	++	+

*Tingkat aktivitas enzim didasarkan pada indeks zona bening, yaitu > 3, +++; 1.5–3, ++; < 1.5, +. Kisaran persentase indeks penghambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* pada uji antagonis. +, 15–35%; ++, 30–45%; +++, 45–60%.

namun belum diketahui struktur kimianya (data belum dipublikasi).

Tiga isolat aktinomiset yang mempunyai aktivitas penghambatan cukup tinggi merupakan isolat mikrob yang diisolasi dari tanah perakaran yang berbeda, yaitu tanaman pisang dengan tingkat serangan *F. oxysporum*

f. sp. *cubense* tinggi (isolat L.A.I.DW), tanah perakaran pisang yang relatif tidak terserang *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (isolat Ci.I.A5.DW), dan tanah perakaran pisang Rejang yang relatif resisten terhadap serangan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (isolat L.3.1.DW).

Data ini menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara sumber isolat (jenis tanah perakaran) dan tingkat kemampuan isolat dalam menghambat *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

Semua isolat aktinomiset mempunyai aktivitas kitinase, sedangkan sebagian besar isolat bakteri mempunyai aktivitas protease. Apabila dihubungkan antara aktivitas enzim dan kemampuan penghambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tampak tidak ada korelasi yang nyata. Isolat bakteri yang mempunyai aktivitas protease tinggi (L.A.II-18.DW, L.A.I-22.DW dan L.A.I-5.DW) ternyata hanya memperlihatkan tingkat hambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* yang relatif rendah (+ atau ++). Sebaliknya, isolat aktinomiset yang mempunyai tingkat hambatan terhadap patogen uji cukup tinggi (L.A.I.DW, L.3.1.DW dan Ci.I.A5.DW) ternyata tidak memiliki aktivitas enzim protease dan hanya memiliki aktivitas enzim kitinase dan selulase yang relatif rendah (+ atau ++). Kemampuan penghambatan terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tidak hanya disebabkan oleh adanya aktivitas enzim, tetapi kemungkinan besar diduga juga oleh adanya metabolit sekunder (antibiotik) yang dihasilkan oleh isolat bakteri atau aktinomiset. Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* oleh bakteri biokontrol telah dilaporkan kompetisi nutrisi, oksigen, dan habitat; sintesis enzim hidrolase, seperti kitinase, protease, dan β -1-3 glukonase; serta sekresi senyawa antibiotik atau senyawa anticendawan lainnya (Benyagoub *et al.* 1998; Getha dan Vikineswary 2002; de Azaredo *et al.* 2004; Nourozian *et al.* 2006; Rodas-Junco *et al.* 2009). Jadi kemungkinan kemampuan penghambatan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dari isolat-isolat uji disebabkan oleh kombinasi aktivitas enzim hidrolase dan sekresi senyawa antibiotik yang dihasilkan.

Lima isolat uji yang menunjukkan hasil potensial ialah bakteri *Klebsiella pneumonia* (L.II.4.ND) dan *Burkholderia* sp. (L.A.I-5.DW) serta *Streptomyces* sp. L.3.1.DW, dan dua spesies *Streptomyces*, sp. L.A.I.DW, dan *Streptomyces* sp. Ci.I.A5.DW. Genus *Streptomyces* merupakan kelompok bakteri

gram positif yang telah banyak dilaporkan sebagai mikroba pendorong pertumbuhan tanaman. Sebuah penelitian melaporkan kemampuan *Streptomyces* sp. sebagai agens biokontrol terhadap *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* pada tanaman polong (Gopalakrishnan *et al.* 2013). Sedangkan *Klebsiella pneumonia* dan *Burkholderia* sp. merupakan bakteri penambat nitrogen yang sangat penting bagi pertumbuhan tanaman. Dalam beberapa studi, kedua bakteri tersebut juga dapat menaikkan imunitas tanaman terhadap patogen (Liu *et al.* 2011; Suarez-Moreno *et al.* 2008).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Loekas Soetanto atas pemberian isolat *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ras 4 dan proyek Dipa Kompetitif-LIPI atas dana penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adegboye MF, Babalola OO. 2012. Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *Afr J Agric Res.* 7(15):2255–2261. DOI: <http://dx.doi.org/10.5897/AJARX11.071>.
- Ara I, Bukhari NA, Wijayanti DR, Bakir MA. 2012. Proteolytic activity of alkaliphilic, salt-tolerant actinomycetes from various region in Saudi Arabia. *Afr J Biotechnol.* 11(16):3894–3857.
- Basha S, Ulaganathan K. 2002. Antagonism of *Bacillus* species (strain BC121) towards *Curvularia lunata*. *Curr Sci.* 82(12):1457–1463.
- Benyagoub M, Benhamou N, Carisse O. 1998. Cytochemical investigation of the antagonistic interaction between a *Microsphaeropsis* sp. (isolate P130A) and *Venturia inaequalis*. *Phytopathology.* 88(7):605–613. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.7.605>.
- de Azaredo, LAI, Freire DMG, Soares RMA, Leite SGF, Coelho RRR. 2004. Production and partial characterization of thermophilic proteases from *Streptomyces*

- sp. isolated from Brazilian cerrado soil. *Enzyme Microb Technol.* 34(3):354–358. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.11.015>.
- de Vasconcellos RLF, Cardoso EJBN. 2009. Rhizospheric streptomycetes as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. *Biocontrol.* 54(6):807–816. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10526-009-9226-9>.
- Doumbou, CL, Hamby Salove MK, Crawford DL, Beaulieu C. 2001. Actinomycetes, promising tools to control plant disease and to promote plant growth. *Phytoprotection.* 82(3): 85-102. DOI: <http://dx.doi.org/10.7202/706219ar>.
- Getha K, Vikineswary S. 2002. Antagonistic effect of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 28(6):303–310. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jim.7000247>.
- Gopalakrishnan S, Srinivas V, Sree Vidya M, Rathore A. 2013. Plant growth-promoting activities of *Streptomyces* spp. in sorghum and rice. *Springer Plus.* 2(1): 574. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2193-1801-2-574>.
- Huang YH, Wang RC, Lia CH, Zuo CW, Wei YR, Zhang L, Yi GJ. 2012. Control of *Fusarium* wilt in banana with Chinese leek. *Eur J Plant Pathol.* 134(1): 87–95. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-012-0024-3>.
- Hwang SC, Ko WH. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Am Phytopathol Soc.* 88(6):580–588.
- Kloepper JW, Ryu CM, Zhang S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology.* 94(11): 1259–1266. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>.
- Liu Y, Wang H, Sun X, Yang H, Wang Y, Song W. 2011. Study on mechanisms of colonization of nitrogen-fixing PGPB *Klebsiella pneumoniae* NG14 on the root surface of rice and the formation of biofilm. *Curr Microbiol.* 62(4): 1113–1122. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-010-9835-7>.
- Nourozian J, Etebarian HR, Khodakaramian G. 2006. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. *Songklanakarin J Sci Technol.* 28(1):29–38.
- Nel B, Steinberg C, Labuschagne N, Viljoen A. 2007. Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. *Crop Protection.* 26(4):697–705. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2006.06.008>.
- Ploetz RC. 2006. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytopathology.* 96(6):653–656. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>.
- Ramesh S, Mathiavanam N. 2009. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzyme. *World J Microbiol Biotechnol.* 25(12):2103–2111. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-009-0113-4>
- Rodas-Junco BA, Magana-Sevilla HF, Tun-Suarez JM, Reyes-Ramirez A. 2009. Antifungal activity *in vitro* of native *Bacillus* sp. strain against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Res J Biol Sci.* 4(9):985–989.
- Sivamani E, Gnanamanickam SS. 1988. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in banana by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Soil.* 107(1):3–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02371537>.
- Suarez-Moreno ZR, Caballero-Mellado J, Venturi V. 2008. The new group of non-pathogenic plant-associated nitrogen fixing *Burkholderia* spp. shared conserved quorum-sensing system, which is tightly regulated by the RsaL repressor. *Microbiol.* 154(7):2048-2059. DOI: <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.2008/017780-0>.