

## Penghambatan *Actinomyces* Asal Limbah Kulit Bawang Merah terhadap *Sclerotium Rolfsii* Secara In Vitro

Reni Nurjasmi<sup>1</sup>, Suryani<sup>1</sup>, dan Carta<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Respati Indonesia Jakarta

<sup>2</sup> Pusat Pengembangan Benih dan Proteksi Tanaman Dinas Kelautan Pertanian dan Ketahanan Pangan Provinsi DKI Jakarta

Email: reni\_nurjasmi@yahoo.co.id

### ABSTRAK

*Sclerotium rolfsii* adalah jamur patogen yang merugikan bagi tanaman. Upaya pencegahan jamur masih banyak menggunakan pestisida kimia yang diketahui berdampak negatif bagi lingkungan, sehingga dibutuhkan alternatif pestisida yang lebih ramah lingkungan seperti actinomyces. Actinomyces merupakan bakteri yang dapat ditemukan pada berbagai habitat. Lebih dari 80% diketahui sebagai penghasil senyawa bioaktif dengan berbagai peran salah satunya adalah sebagai antijamur patogen tanaman. Tujuan penelitian adalah mengisolasi actinomyces dari limbah kulit bawang merah dan mengetahui potensinya sebagai penghambat *Sclerotium rolfsii*. Tahap penelitian diawali dengan pengomposan limbah kulit bawang merah selama 3 hari. Sampel kompos tersebut digunakan sebagai sumber actinomyces. Actinomyces diisolasi menggunakan media spesifik yaitu *Starch Nitrate Agar* (SNA) secara *pour plate* kemudian dipurifikasi menggunakan media SNA dengan metode *streak plate*. Selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi koloni dan miselium isolat actinomyces menggunakan metode *slide culture*. Semua isolat yang memiliki morfologi koloni dan miselium berbeda ditumbuhkan menggunakan media cair SNA selama 14 hari untuk memperoleh filtrat zat metabolit kemudian dilakukan uji daya hambat filtrat zat metabolit isolat actinomyces terhadap *S. Rolfsii* dengan metode peracunan medium. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh sebanyak 16 isolat actinomyces asal limbah kulit bawang merah. Semua isolat menghasilkan miselium sehingga dapat diduga isolat yang telah diisolasi merupakan kelompok *Streptomyces* namun berdasarkan pengamatan morfologi koloni dan miselium, semua isolat merupakan jenis yang berbeda. Hasil peracunan medium menunjukkan dari 16 isolat yang diuji hanya 11 isolat yang mampu menghambat *S. rolfsii* dan 4 isolat tidak mampu menghambat *S. rolfsii*. Dari 11 isolat, sebanyak 5 isolat mempunyai daya hambat lebih dari 50% yaitu A1.9 (77,78%); A9. 16 (77,78%); A3.14 (72.22%); A12.15 (66.67%); A2.4 (55.56%).

**Kata kunci:** Actinomyces, Daya hambat, Antijamur, *Sclerotium rolfsii*

### ABSTRACT

*Sclerotium rolfsii* is a pathogenic fungus that is detrimental to plants. Efforts to prevent fungi still use a lot of chemical pesticides that are known to have a negative impact on the environment, so that an alternative environmentally friendly pesticide is needed such as actinomyces. Actinomyces are bacteria that can be found in various habitats. More than 80% are known to produce bioactive compounds with various roles, one of which is plant pathogenic antifungals. The aim of the study was to isolate actinomyces from red onion skin waste and to determine their potential as *Sclerotium rolfsii* inhibitors. The research phase begins with composting of shallot skin waste for 3 days. The compost sample is used as a source of actinomyces. Actinomyces were isolated using specific media namely *Starch Nitrate Agar* (SNA) by *pour plate* then purified using SNA media using the *streak plate* method. Furthermore, observation of the morphology of colonies and mycelium of actinomyces isolates using *slide culture* method All isolates that had morphology of different colonies and mycelium were grown using SNA liquid media for 14 days to obtain the filtrate of metabolites, then the inhibitory power test of the metabolite isolates of actinomyces on *S. Rolfsii* was carried out by medium poisoning method. Based on the isolation results obtained as many as 16 isolates of actinomyces from onion skin waste.

*All isolates produce mycelium so that it can be suspected that the isolates that have been isolated are Streptomyces groups but based on observations of the morphology of colonies and mycelium, all isolates are of a different type. The results of the medium poisoning showed that from 16 isolates tested only 11 isolates were able to inhibit S. rolfsii and 4 isolates were unable to inhibit S. rolfsii. Of the 11 isolates, 5 isolates had a inhibitory power of more than 50%, namely A1.9 (77.78%); A9. 16 (77.78%); A3.14 (72.22%); A12.15 (66.67%); A2.4 (55.56%).*

**Keywords:** *Actinomycetes, inhibitory power, antifungal, sclerotium rolfsii*

## PENDAHULUAN

Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) merupakan resiko yang harus dihadapi dan diperhitungkan dalam setiap membudidayakan tanaman. Resiko ini merupakan konsekuensi dari setiap perubahan ekosistem sebagai akibat budidaya tanaman yang dilakukan. Perubahan atau ketidakpastian iklim sangat berpengaruh terhadap perkembangan OPT dan berpengaruh langsung terhadap usaha budidaya tanaman. Pengendalian hama dan penyakit tanaman bertujuan untuk membatasi kehilangan hasil akibat serangan OPT menjadi seminimal mungkin, sehingga diperoleh kualitas dan kuantitas produksi yang baik.

Dalam budidaya tanaman kacang-kacangan sering ditemukan kendala antara lain adalah faktor infeksi penyakit. Penyakit dapat disebabkan mikroba seperti jamur, bakteri, dan virus yang mengakibatkan kerugian ekonomis karena menurunkan kualitas dan kuantitas hasil panen. Salah satu penyakit merugikan adalah busuk batang yang disebabkan jamur *Sclerotium rolfsii* (Widyati dan Gianto, 2013).

Petani Indonesia sering menggunakan fungisida sintetis untuk mencegah jamur patogen tanaman, namun pengendalian penyakit menggunakan bahan fungisida sintetis merupakan solusi yang kurang tepat karena cepat atau lambat dapat menimbulkan masalah terhadap ketahanan patogen dan dapat mengganggu keseimbangan alam, hal ini dikarenakan bahan sintetis yang terkandung di dalam fungisida merupakan toksik bagi makhluk hidup. Menurut Wasilah *et al.* (2005), fungisida sintetis yang mencemari lingkungan telah menyebabkan kematian manusia di dunia mencapai 40%. Di samping itu, fungisida sintetis dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan menimbulkan resistensi mikroba patogen.

Bertolak dari keadaan pertanian Indonesia yang sangat tergantung pada fungisida sintetis, maka usaha untuk memproduksi pestisida hayati di dalam negeri sangat memungkinkan. Alam Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati merupakan sumber daya alam potensial

untuk dimanfaatkan bagi kesejahteraan rakyat (Djunaedy, 2009). Peningkatan kepedulian terhadap sumber daya alam mengarah pada pemanfaatan agen pengendali hayati, penggunaan agen pengendali hayati memberi dampak secara perlahan, namun dapat bertahan cukup lama, relatif hemat, dan tidak membahayakan lingkungan (Muanis *et al.*, 2013).

Menurut Muanis *et al.* (2013), dalam upaya mengendalikan OPT, sistem Pengendalian Hama Terpadu merupakan upaya pengendalian yang diterapkan, dimana Konsep Pengendalian Hama Terpadu tersebut didasarkan pada pertimbangan ekologi dan efisiensi dalam rangka pengelolaan agroekosistem yang berwawasan lingkungan. Untuk itu pengembangan agen hayati terus ditingkatkan dan dalam rangka pengembangan tersebut telah dikeluarkan kebijakan-kebijakan dalam bentuk Undang-Undang dan Peraturan Pemerintah serta Keputusan Menteri Pertanian.

Sehubungan dengan hal tersebut, pemanfaatan dan pengelolaan agen hayati perlu digalakan dalam rangka pengembangan teknologi pengendalian OPT yang ekonomis dan ramah lingkungan. Salah satu organisme yang berpotensi sebagai agen hayati adalah actinomycetes. Bakteri ini telah diketahui menghasilkan senyawa bioaktif dengan berbagai kemampuan termasuk anti jamur. Menurut Berdy (2005) dan Parungao *et al.*

Actinomycetes memiliki sebaran habitat yang sangat luas, salah satunya adalah limbah. Limbah yang banyak dihasilkan di Indonesia antara lain adalah kulit bawang merah. Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS), produksi bawang merah pada tahun 2013 mencapai 1,011 juta ton. Jika dibandingkan tahun 2012, produksi meningkat sebesar 46.550 ton atau 4,83%. Besarnya produksi bawang merah ini mengakibatkan tingginya limbah kulit bawang merah, padahal limbah ini berdampak buruk bagi kesehatan dan lingkungan. Limbah kulit bawang merah telah dikelola menjadi kompos seperti di Kelurahan Tengah Kecamatan Kramatjati Jakarta Timur, telah memanfaatkan limbah kulit bawang merah sebagai kompos sejak tahun 2003 (Suryani *et al.*, 2015).

Diketahui pula bahwa selain sebagai sumber hara tanaman, kompos kulit bawang merah juga berguna sebagai biopestisida karena mengandung senyawa acetogenin yang berfungsi membunuh hama serangga tanaman (Plantus, 2008). Kemampuan limbah kulit bawang merah sebagai biopestisida menarik perhatian peneliti untuk mengeksplorasi actinomycetes yang diduga berpotensi sebagai pengendali jamur patogen tanaman. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi Actinomycetes dari limbah kulit bawang merah dan mengetahui potensinya sebagai penghambat *Sclerotium rolfsii*.

## METODE

### Isolasi Actinomycetes

Sebanyak 90 ml larutan NaCl 0,85% steril dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan 10 gram kompos kulit bawang merah. Erlenmeyer digoyang pada *shaker* selama 30 menit. Selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu 70°C lalu larutan disaring dengan kertas saring steril dan ditampung pada erlenmeyer baru sebagai pengenceran 10<sup>-1</sup>. Larutan NaCl 0,85% dituang ke dalam 3 buah tabung reaksi masing-masing 9 ml sebagai serial pengenceran 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> dan 10<sup>-4</sup>. Sebanyak 0,1 ml larutan dari masing-masing serial pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri steril diikuti penambahan 5 ml medium SNA menggunakan metoda tuang (*pour plate*), kemudian cawan petri digoyang sampai larutan tercampur rata. Setelah media padat, media diinkubasi pada suhu ruang selama 7 sampai 14 hari. Koloni yang telah tumbuh dipurifikasi secara *streak plate* sehingga diperoleh koloni tunggal.

### Identifikasi Morfologi Actinomycetes

Morfologi miselium Actinomycetes diidentifikasi menggunakan metode *culture slide*, selanjutnya dilakukan pengamatan miselium menggunakan mikroskop pembesaran 100X.

### Uji Daya Hambat Actinomycetes terhadap *S. rolfsii*

Potensi actinomycetes sebagai penghambat *S. rolfsii* diukur menggunakan metode peracunan medium PDA. Sebanyak 1

ose masing-masing isolat actinomycetes ditumbuhkan pada SNA cair sebanyak 10 ml kemudian digoyang dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 14 hari. Filtrat zat metabolit tersebut dituang ke dalam tabung reaksi lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit kemudian filtrat tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 65°C. Filtrat diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang kemudian dipanaskan kembali selama 30 menit pada suhu 65°C. Setelah tahap inkubasi selesai, sebanyak 1 ml filtrat zat metabolit dari masing-masing isolat dituang ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan medium PDA bersuhu 50°C. Setelah media PDA padat, dilakukan inokulasi *S. rolfsii* pada bagian tengah cawan petri kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28°C kemudian persentase penghambatan pertumbuhan *S.rolfsii* dihitung menggunakan rumus menurut Nurul (2012) :

$$\text{Daya hambat(\%)} = \frac{Dk - DP}{Dk} \times 100\%$$

Keterangan :

DK : diameter koloni *S. rolfsii* pada kontrol  
DP : diameter koloni *S. rolfsii* pada perlakuan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 16 isolat actinomycetes telah berhasil diisolasi dari limbah kulit bawang merah. Semua isolat memiliki morfologi koloni dan miselium yang berbeda setelah dilakukan identifikasi morfologi menggunakan media SNA menggunakan metode *slide culture*. Namun 95% dari jumlah tersebut dapat dilihat bahwa isolat yang berhasil diisolasi termasuk kelompok Streptomyces karena menghasilkan spora. Menurut Suryani *et al.* (2015) Streptomyces berbeda dengan bakteri lain yang dicirikan dengan pertumbuhan secara perlahan dan akan terlihat jelas pada hari ke-2 sampai ke-3 inkubasi. Koloni menempel kuat pada permukaan media dengan struktur yang kasar atau bertepung sedangkan bakteri lain pertumbuhannya sangat cepat, setelah 24 jam inkubasi koloni sudah terlihat, dan struktur koloni berlendir.

Potensi masing-masing isolat sebagai penghambat *S. rolfsii* diukur menggunakan metode peracunan medium PDA dan hasilnya menunjukkan dari 16 isolat yang diuji hanya 11 isolat yang berpotensi sebagai penghambat *S. rolfsii*. Daya hambat dari masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 1. Isolat yang tidak mampu menghambat *S. rolfsii* diduga memiliki zat antimikroba pada jenis patogen selain *S. rolfsii* karena isolat tersebut tidak mengandung senyawa bioaktif anti *S. rolfsii* atau dapat pula akibat kandungan senyawa antijamur pada isolat yang sangat kecil sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan *S. rolfsii*. Penghambatan jamur patogen yang dihasilkan oleh isolat Actinomycetes diasumsikan akibat adanya senyawa anti jamur metabolit sekunder actinomycetes yang disekresikan pada media.

Daya hambat yang dihasilkan masing-masing isolat bervariasi, hal ini dikarenakan

jenis dan jumlah zat antijamur terhadap *S. Rolfsii* yang terkandung pada isolat juga berbeda-beda. Menurut Anugrahwati (2011) terdapat faktor yang mempengaruhi persentase daya hambat actinomycetes yaitu jenis, jumlah dan kualitas senyawa antijamur yang dihasilkan.

Berdasarkan persentase daya hambat, diketahui isolat A1.9 dan A9.16 memiliki jenis dan jumlah zat antijamur terhadap *S. Rolfsii* yang paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Isolat tersebut diduga mengandung senyawa antijamur *S. rolfsii* yang lebih baik dari kualitas dan kuantitas, sehingga persentase daya hambat yang dihasilkan juga lebih besar. Menurut Susilowati et al. (2007) semakin besar senyawa antijamur yang dilepaskan ke media maka semakin besar pula daya hambat yang dihasilkan oleh suatu mikrobia.

**Tabel 1.** Daya hambat Actinomycetes terhadap *S. rolfsii*

Nama isolat actinomycetes	Diameter <i>S. Rolfsii</i> (cm)	Daya hambat actinomycetes (%)
A1.9	2.0	77.78
A9.16	2.0	77.78
A3.14	2.5	72.22
A12.15	3.0	66.67
A2.4	4.0	55.56
A10.5	4.5	50.00
A5.13	5.0	44.44
A11.24	6.0	33.33
A13.10	6.0	33.33
A6.1	7.0	22.22
A15.7	8.0	11.11
A4.23	9.0	0.00
A7,17	9.0	0.00
A8,18	9.0	0.00
A14.8	9.0	0.00
A16.11	9.0	0.00

## KESIMPULAN

Dari 16 isolat asal limbah kulit bawang merah, sebanyak 11 isolat mampu menghambat

*S. rolfsii* dan 5 isolat diantaranya memiliki daya hambat lebih dari 50% yaitu secara berurutan dari yang paling tinggi adalah A1.9 dan A9.16 (77,78%); A3.14 (72,22%); A12.15 (66,67%); A2.4 (55,56%).

## DAFTAR PUSTAKA

- Anugrahwati DR. 2011. Aktifitas Actinomycetes Endofit sebagai Bionematisida terhadap *Meloidogyne javanica*. *Crop Agro* 1(2):114-126.
- Berdy, J. 2005. Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal of Antibiotics*. 58(1):1-26.
- Djunaedy, A. 2009. Biopestisida sebagai Pengendali Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) yang Ramah Lingkungan. *Embryo* Vol. 6 No. 1. Juni, 2009. ISSN 0216-0188.
- Muanis, N. A., Sutarjo, Lamria Sovia T.S.M. dan Irfan. 2013. Beberapa Jenis Agens Hayati (Biopestisida). Balai Proteksi Tanaman Dinas Kelautan Dan Pertanian.
- Nurul, W. 2012. Kajian Aktinomisetes Sebagai Agens Hayati Untuk Pengendalian *Sclerotium rolfsii* Dan Pemiakannya Pada Media Limbah Organik Padat. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Parungao, M., Villano. 2007. Screening of Antibiotic-Producing Actinomycetes from Marine, Brackish and Terrestrial Sediments of Samal Island. *Journal of Research in Science, Computing, and Engineering*, 4(3). 29-38.
- Plantus. 2008. Executive Summary from the Report: Analysis of Adverse Reactions to Monosodium Glutamate (MSG). *Journal of Nutrition* 126 (6): 1743-1745. PMID7472671.
- Susilowati, D.N., R.D. Hastuti, dan E. Yuniarti. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Aktinomisetes Penghasil Antibakteri Enteropatogen *Escherichia coli* K1.1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes*. *Jurnal Agrobiogen*. 3 (1): 15-23.
- Widyati, N., Gianto. 2013. Kemampuan Aktinomisetes Menghambat Pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* Dan Pemiakannya Pada Media Serbuk Gergaji. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. ISSN: 2379-2479.
- Wasilah F., A. Syulasmis, dan Y. Hamdiyati. 2005. Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum* Secara In Vitro. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung. Tidak Dipublikasikan.