

Interaksi Kapang Patogen *Fusarium oxysporum* dengan Bakteri Kitinolitik Rizosfer Tanaman Jahe dan Pisang

Rejeki Siti Ferniah^{1*)}, Sri Pujiyanto¹⁾, Susiana Purwantisari¹⁾ dan Supriyadi¹⁾

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro, Semarang 50275

Diterima 11-03-2009

Disetujui 06-06-2011

ABSTRACT

Fusarium oxysporum is a pathogenic fungi for many plants. The fungi have chitin cell wall that can be degraded by chitinase from chitinolytic bacteria. Aim of this research is determine how the interaction between the bacteria and *F.oxysporum*. Bacteria were isolated from plant rizosfere. Chitinolytic activity were measured based on the clear zone around the colony in chitin medium. Bacteria and fungi interaction were determined by an antagonistic test. This research showed that there were 9 chitinolytic bacteria. J4 and P3 had high chitinolytic index, that are 3 and 3.33, respectively. The two isolates antagonist to *F.oxysporum*, which the bacteria prevent growth of the fungi. The J4 and P3 are alternative biofungicide for *F.oxysporum*.

Keywords: chitinolytic bacteria, *Fusarium oxysporum* f.sp zingiberi, interaction

PENDAHULUAN

Kendala utama produksi tanaman obat maupun hortikultur Indonesia adalah penyediaan bibit unggul dan serangan hama/penyakit tanaman. Penyakit yang banyak menyerang komoditas tanaman Indonesia adalah penyakit layu bakteri, busuk rimpang, dan bercak daun. Penyakit layu bakteri disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum*, busuk rimpang disebabkan oleh kapang *Fusarium oxysporum*, dan bercak daun disebabkan oleh *Alternaria solani*.

Kapang *Fusarium* merupakan salah satu kapang patogen tanaman yang sulit dikendalikan (Singh *et al.* 1999). Kapang ini merupakan patogen tanaman yang penting secara ekonomi karena dapat menyebabkan busuk dan layu pada akar, batang maupun kecambah pada lebih dari 100 jenis tanaman. Genus ini terdiri atas berbagai spesies, yaitu *F.oxysporum*, *F.affine*, *F.culmorum*, *F.dimerum*, *F.graminearum*, *F.moniliforme*, *F.radicicola*, *F.roseum*, *F.solani*, dan *Fusarium* sp. *F.oxysporum* mempunyai beberapa varietas tergantung pada jenis tanaman inangnya. Beberapa varietas *F.oxysporum* dan inangnya adalah *F.oxysporum* f.sp. cubense pada pisang, *F.oxysporum* f.sp. lycopersici pada tomat, dan *F.oxysporum* f.sp. zingiberi pada jahe (Gonsalves & Ferreira 1994). *Fusarium oxysporum* yang menyerang tanaman menyebabkan busuk rimpang yang ditandai dengan layu dan menguningnya daun dan berujung pada kematian tanaman sebelum panen.

Kitin merupakan senyawa utama yang menyusun dinding sel kapang, khususnya *Fusarium* (Fakamizo *et al.* 1996). Pengembangan teknologi yang cocok untuk mengendalikan kapang tersebut adalah pemanfaatan mikroba kitinolitik yang memiliki aktivitas kitinase. Mikroba kitinolitik mampu menghidrolisis senyawa kitin yang merupakan struktur dinding sel kapang patogen. Terdegradasinya senyawa tersebut menyebabkan kapang patogen menjadi lemah atau mati. Dengan demikian mikroba kitinolitik berpotensi digunakan sebagai biofungisida untuk mengendalikan kapang patogen yang memiliki kitin sebagai struktur dinding selnya.

Bakteri kitinolitik merupakan mikroba yang memiliki kemampuan mendegradasi kitin karena memiliki enzim kitinase. Berbagai kelompok bakteri seperti *Streptomyces* (Saito *et al.* 1999), *Bacillus* (Mitsutomi *et al.* 1995), *Aeromonas* (Ueda *et al.* 1996), *Serratia* (Krishnan *et al.* 1999), *Enterobacter* (Chernin *et al.* 1995), *Pseudomonas* (Wang *et al.* 1997), *Arthrobacter* (Okazaki *et al.* 1999, Pujiyanto 2002), dan *Vibrio* (Svitil *et al.* 1997), dilaporkan memiliki aktivitas kitinolitik.

Penelitian tentang eksplorasi bakteri kitinolitik indigenous Indonesia telah dilakukan oleh Pujiyanto *et al.* (2002), yang berhasil mengisolasi 55 isolat bakteri kitinolitik dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan Tengah. Hasil pengujian secara *in vitro* diperoleh dua isolat bakteri yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang patogen *Rhizoctonia solani* dan *Helminthosporium oryzae*.

*Telp: +628122889064

Email: ferniah_mikro@yahoo.com

Isolasi bakteri kitinolitik dari berbagai tanah pertanian di Jawa Tengah dilakukan oleh Pujiyanto *et al.* (2004), dan Ferniah *et al.* (2004), yang memiliki kemampuan menghambat dengan kuat pertumbuhan kapang *Alternaria solani* dan *Fusarium oxysporum* yang menyerang tanaman kentang. Interaksi antara bakteri kitinolitik dan kapang patogen tanaman mungkin spesifik bagi tiap kapang dan bakteri.

Berbagai laporan menyebutkan bahwa bakteri kitinolitik sangat potensial digunakan dalam bidang pertanian sebagai agen biokontrol yang efektif terhadap sejumlah kapang fitopatogenik. Bakteri kitinolitik *Aeromonas caviae* digunakan untuk mengontrol serangan *Rhizoctonia solani* dan *Fusarium oxysporum* pada kapas serta *Sclerotium rolfsii* pada buncis. Enzim kitinase yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* juga efektif untuk melawan kapang patogen *S. rolfsii*. Filtrat kultur *Aphanocladium* terbukti menghambat pertumbuhan *Necteria haematococca* yang menyerang kapri. Mikroba kitinolitik *Streptomyces* dan *Paenibacillus* juga dilaporkan dapat mengendalikan kapang *Fusarium* yang menyerang mentimun (Singh *et al.* 1999). Bakteri genus *Pseudomonas* dapat mengendalikan beberapa jenis *Fusarium*, antara lain *P.fluorescens* dapat melawan *F.oxysporum* dan *P.dispersa* dapat melawan *F.udum* (Singh *et al.* 1999 & Gohel *et al.* 2004 dalam Gohel *et al.* 2005). Bakteri kitinolitik juga dapat berperan sebagai biokontrol terhadap serangga hama. Mubarik *et al.* (2010), menemukan dua isolat *Bacillus* dari rizosfer tanaman cabai yang memiliki kemampuan menghidrolisis eksoskeleton serangga *Bemisia tabaci*.

Bakteri kitinolitik berdasarkan penelitian Pujiyanto *et al.* (2002), Ferniah *et al.* (2004), dan Hartantinningsih (2004), dapat ditemukan pada rizosfer tanaman sehat. Bagaimanakah interaksi antara bakteri kitinolitik rizosfer tanaman dengan kapang *F.oxysporum*? Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat bakteri kitinolitik dan mengetahui interaksinya terhadap kapang *F.oxysporum*. Manfaat aplikatif penelitian ini adalah untuk menentukan strategi pengendalian *F.oxysporum* secara alami sehingga kegagalan panen akibat kapang tersebut dapat diminimalisasi.

BAHATANMETODE

Isolat bakteri kitinolitik diperoleh dari rizosfer tanaman jahe dan pisang di daerah Tembalang, Semarang. Kapang *Fusarium oxysporum* diisolasi dari tanaman jahe di daerah Magelang. Medium yang dibutuhkan adalah medium *potato dextrose agar* (PDA) dan kitin agar.

Isolasi dan Seleksi Bakteri Kitinolitik. Bakteri kitinolitik diisolasi dari 1 g tanah pertanian lokal, dengan cara mensuspensikannya dalam 100 ml larutan garam fisiologis steril. Sebanyak 1 ml suspensi ditebar dalam cawan petri yang sudah diisi medium kitin agar. Inkubasi dilakukan pada suhu 27°C selama 48 jam. Isolat kitinolitik ditandai dengan adanya daerah halo (zona bening) di sekitar koloni. Seleksi dilakukan dengan cara mengukur indeks kitinolitik yang dimiliki masing-masing isolat. Indeks kitinolitik merupakan nilai perbandingan antara diameter daerah halo dan diameter koloni. Isolat-isolat dengan indeks kitinolitik tinggi diinteraksikan terhadap kapang *Fusarium oxysporum*.

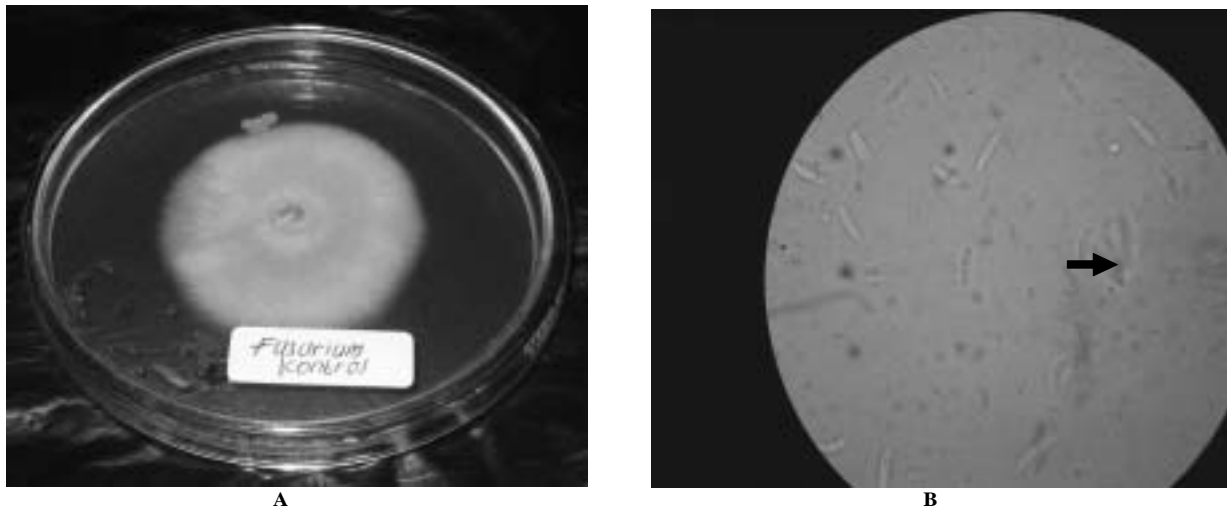
Interaksi Bakteri Kitinolitik dan *Fusarium oxysporum*. Isolat-isolat kitinolitik terpilih dan kapang *Fusarium oxysporum* ditumbuhkan bersama dalam medium PDA dengan metode biakan ganda. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium PDA secara taburan, dan satu potong koloni kapang ditumbuhkan di tengah medium dalam satu cawan petri. Biakan diinkubasi selama 120 jam dalam suhu kamar. Pertumbuhan kapang diukur setiap hari dibandingkan dengan kontrol. Kontrol yang digunakan adalah medium berisi koloni kapang dengan diameter sama dengan pada perlakuan, tanpa isolat bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri kitinolitik berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman jahe dan pisang yang sehat. Tempat pengambilan sampel berada di Kelurahan Tembalang, Semarang, dengan karakteristik tanah berlempung dan lembap. Rizosfer yang diambil adalah berjarak tidak lebih dari 30 cm di sekeliling tanaman. Sebanyak 5 isolat bakteri kitinolitik diperoleh dari rizosfer jahe dan 4 isolat bakteri kitinolitik diperoleh dari rizosfer tanaman pisang (Tabel 1).

Tabel 1 Hasil Isolasi Bakteri dan Pengujian Aktivitas Kitinolitik

Kode isolat	Asal isolat	Zona bening (mm)	Diameter koloni (mm)	Rasio zona bening
J1	Tembalang	15	9	1,66
J2	Tembalang	7	6	1,16
J3	Tembalang	27	17	1,58
J4	Tembalang	16	4	4
J5	Tembalang	7	5	1,40
P1	Tembalang	24	12	2
P2	Tembalang	24	20	1,20
P3	Tembalang	26	6	4,33
P4	Tembalang	10	5	2



Gambar 1 Morfologi *Fusarium oxysporum*: a. Koloni kapang umur 5 hari; b. Makrokonidia berbentuk bulan sabit bersepta

Tabel 2 Perbandingan diameter kapang yang ditumbuhkan bersama Bakteri Kitinolitik pada Hari ke-5 dengan Kontrol Kapang *Fusarium oxysporum*

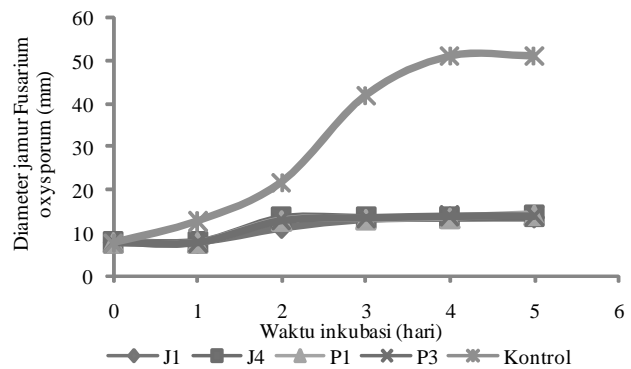
No.	Kode isolat	Diameter kapang (mm)
1.	Kontrol fusarium	51
2.	J4	14
3.	P3	14

Isolat J4 dari rizosfer jahe dan P3 dari rizosfer pisang dipilih untuk digunakan dalam uji interaksi terhadap kapang. Pemilihan isolat dilakukan berdasarkan nilai aktivitas hidrolisis kitin. Aktivitas hidrolisis kitin tertinggi dari bakteri rizosfer jahe dimiliki oleh J4. Isolat dari rizosfer pisang dengan aktivitas hidrolisis kitin tertinggi adalah P3.

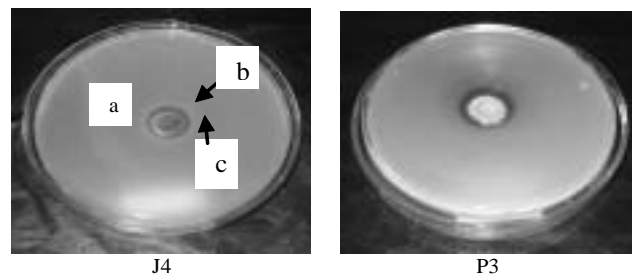
Kapang berhasil diisolasi dari tanaman jahe yang berada di Magelang, dengan kondisi tanah yang lembap. Gambar 1 menunjukkan morfologi kapang *Fusarium oxysporum*. Koloni kapang berwarna merah jambu dengan miselium muda berwarna putih. Makrokonidia kapang ini berbentuk khas, yaitu seperti bulan sabit dan bersekat-sekat (bersepta).

Hasil interaksi bakteri–kapang ditunjukkan pada Tabel 2. Pengukuran terhadap diameter kapang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan kapang jika kapang ini ditumbuhkan bersama bakteri kitinolitik.

Gambar 2 menunjukkan bahwa isolat J4 dan P3 mempunyai aktivitas katalitik yang sama terhadap *Fusarium oxysporum*. Kedua isolat menyebabkan hambatan pertumbuhan sehingga pada hari ke-5 diameter koloni hanya mencapai sepertiga dari pertumbuhan normal. Interaksi bakteri-kapang sampai dengan hari ke-5 menunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni kapang (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa di daerah zona bening terjadi kompetisi antara bakteri dan kapang, tetapi kitin pada miselium kapang didegradasi oleh bakteri yang tumbuh di sekitar kapang.

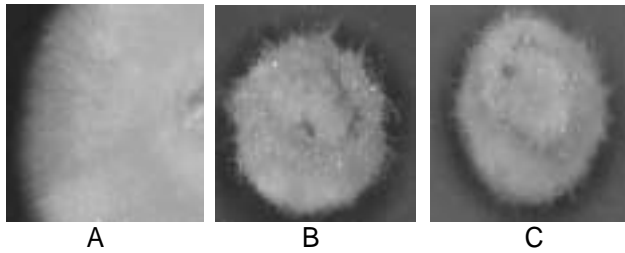


Gambar 2 Pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* yang diuji dengan bakteri kitinolitik pada inkubasi selama 5 hari



Gambar 3 Interaksi bakteri kitinolitik dan *Fusarium oxysporum* pada inkubasi hari ke-5. a. Isolat bakteri kitinolitik, b. Zona bening, c. *Fusarium oxysporum*

Hasil uji antagonisme tersebut menunjukkan interaksi antara jamur *F. oxysporum* dengan bakteri kitinolitik, dimana miselium jamur *F. oxysporum* yang diuji dengan bakteri kitinolitik cenderung tumbuh serong ke atas (menjauhi media), tetap berwarna putih dan miseliumnya tumbuh lebih panjang jika dibandingkan dengan miselium kontrol (Gambar 4). Hal ini disebabkan oleh adanya bakteri kitinolitik pada media yang mampu menghasilkan enzim kitinase yang dapat menghambat dan mengganggu proses pertumbuhan jamur *F. oxysporum*. Pertumbuhan miselium yang cenderung serong ke atas (menjauhi media) selain merupakan mekanisme pertahanan diri untuk menghindari bakteri



Gambar 4 Pertumbuhan miselium *Fusarium oxysporum* setelah berinteraksi dengan bakteri kitinolitik. a. kontrol, b. jamur yang diuji dengan isolat bakteri J4, c. jamur yang diuji dengan isolat bakteri P3

kitinolitik juga dilakukan untuk mencari oksigen yang ada di udara.

Bakteri kitinolitik dapat mendegradasi kitin karena menghasilkan enzim kitinase. Enzim kitinase disintesis secara induktif, yaitu hanya akan dihasilkan jika ada senyawa kitin sebagai indusernya. Hasil degradasi kitin berupa senyawa N asetil D glukosamin selanjutnya digunakan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri, sehingga bakteri tumbuh lebih cepat menutupi zona bening yang semula terbentuk. Bakteri kitinolitik terus tumbuh memblokir pertumbuhan kapang *Fusarium oxysporum*.

Interaksi antara bakteri kitinolitik dan kapang ber dinding sel kitin merupakan interaksi yang menguntungkan bagi bakteri kitinolitik tetapi merugikan bagi kapang. Bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat merusak komponen struktural kapang. Adanya enzim hidrolitik, misalnya kitinase pada bakteri kitinolitik, mampu mendegradasi kitin penyusun dinding sel kapang. Yurnalisa, 2001, melaporkan bahwa kitinase kasar mampu menghambat perkecambahan konidia *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*. Singh *et al.* 1999, juga menunjukkan bahwa kitinase dari *Streptomyces* mampu melisis dinding sel dan menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*.

Hasil interaksi bakteri-kapang pada penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri kitinolitik dapat menjadi musuh alami bagi kapang *Fusarium oxysporum*. Suatu biofungisida bagi kapang ini dapat dibuat menggunakan bahan dasar bakteri-bakteri kitinolitik.

SIMPULAN

Interaksi bakteri-kapang menguntungkan bagi bakteri kitinolitik tetapi merugikan kapang *Fusarium oxysporum*. Bakteri kitinolitik memanfaatkan kitin pada dinding sel miselium kapang untuk didegradasi dan hasil degradasinya digunakan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Kapang terhambat pertumbuhannya karena miselium tidak dapat terbentuk dengan baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dirjen Dikti yang telah membiayai melalui Hibah penugasan penelitian Desentralisasi No. 321/SP2H/PP/DP2M/III/2008. Terima kasih kepada semua pihak yang telah terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chernin, L., Ismailov, Z., Haran, S. & Chet, I. 1995. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans*, antagonistic to fungal plant pathogens. *Appl. Environ. Microbiol* **61**: 1720-1726.
- Fakamizo, T., Honda, Y., Toyoda, H., Ouchi, S. & Goto, S. 1996. Chitinous component of cell wall of *Fusarium oxysporum*, its structure deduced from chitosanase digestion. *Biosci Biotech Biochem* **60**: 1705-1708.
- Ferniah, R.S., Pujiyanto, S. & Purwantisari, S. 2004. Potensi bakteri kitinolitik sebagai agen pengendali kapang *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit busuk batang tanaman kentang. *Seminar Nasional Hasil Pertanian*. Yogyakarta.
- Gohel, V., Singh, A., Vimal, M., Ashwini, P. & Chhatpar, H.S. 2005. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. *African Journal of Biotechnology* **5(2)**: 54-72.
- Gonsalves, A.K. & Ferreira, SA. 1994. *Fusarium Primer*, http://www.Extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/fusarium_primer.htm.
- Hartantinningsih, Y. 2004. Penapisan bakteri kitinolitik tanah pertanian yang berpotensi sebagai pengendali jamur patogen. *Laporan Kerja Praktek*. UNDIP, Semarang.
- Krishnan, H.B., Kim, K.Y. & Krishnan, A.H. 1999. Expression of *Serratia marcescens* chitinase gene in *Sinorhizobium fredii* USDA 191 and *S. meliloti* RCR 201 impedes soybean and alfalfa nodulation. *MPMI* **12**: 48-751.
- Mitsutomi, M., Kidoh, H., Tomita, H. & Watanabe, T. 1995. The action of *Bacillus circulans* WL-12 chitinases on partially N-acetylated chitosan. *Biosci. i Biotech. Biochem* **59**: 529-531.
- Okazaki, K., Kawabata, T., Nakano, M. & Hayakawa, S. 1999. Purification and properties of chitinase from *Arthrobacter* sp. NHB-10. *Biosci. Biotech. Biochem* **63**: 1644-1646.
- Mubarik, N.R., Mahagini, I., Anindyaputri, A., Santoso, S. & Rusmana, I. 2010. Chitinolytic Bacteria Isolated from Chili Rhizosphere: Chitinase Characterization and Its Application as Biocontrol for Whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.). *American J of Agricultural and Biological Sciences* **5(4)**: 430-435.
- Pujiyanto, S. 2002. Isolasi dan karakterisasi bakteri kitinolitik serta kloning shotgun gen kitinase dari Ekosistem Air Hitam, Kalimantan Tengah. *Tesis*, IPB, Bogor.
- Ferniah, R.S. dan Purwantisari, S. 2004. Uji Antagonisme bakteri kitinolitik sebagai agen pengendali kapang *Alternaria solani* penyebab penyakit bercak daun tanaman kentang. *Seminar Nasional Hasil Pertanian*. Yogyakarta.
- Pujiyanto, S., Ferniah, R.S. & Purwantisari, S. 2004. Uji Antagonisme bakteri kitinolitik sebagai agen pengendali kapang *Alternaria solani* penyebab penyakit bercak daun tanaman kentang. *Seminar Nasional Hasil Pertanian*. Yogyakarta.
- Saito A., Fujii, T., Yoneyama, T., Redenbach, M., Onho, T., Watanabe, T. & Miyashita, K. 1999. High-multiplicity of chitinase genes in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Biosci. Biotech. Biochem* **63**: 710-718.
- Svitil, A.L., Chadhain, S.M., Moore, J.A. & Kirchman, D.L. 1997. Chitin degradation proteins produced by the marine bacterium *Vibrio harveyi* growing on different forms of chitin. *Appl Environ Micobiol* **63**: 408-413.
- Singh, P.P., Shin, Y.C., Park, C.S. & Chung, Y.R. 1999. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology* **89**: 92-99.
- Ueda, M., Shiro, M., Kawaguchi, T. & Arai, M. 1996. Expression of chitinase III gen of *Aeromonas* 10S-24 in *E. coli*. *Biosci. Biotech. Biochem* **60**: 1195-1197.

Wang, S.L., Chiou, S.H. & Chang, W.T. 1997. Production of chitinase from shellfish waste by *Pseudomonas aeruginosa* K-187. *Proceed. Nat. Sci. Council ROC* **21**: 71-78.

Yurnalisa. 2001. Kajian peran aktinomisetes kitinolitik dalam pengendalian jamur patogen *Fusarium oxysporum* skala laboratorium. *Tesis*. UGM, Yogyakarta.