

PENAPISAN AKTINOMISETES YANG BERSIFAT ANTAGONIS TERHADAP PENYAKIT LAYU BAKTERI TANAMAN CABE

Inggit Winarni (inggit@mail.ut.ac.id)
Elizabeth Novi K (novi@mail.ut.ac.id)
Universitas Terbuka

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum can cause droop bacteria disease in chilli plants which resulted in productivity's decreasing. Chemical substances commonly used to eliminate the bacteria is costly and have negative effect on environment. This research aims to eliminate the varied actinomisetes and to get antagonistics actinomisetes towards the droop bacteria disease of chilli plants. The Botanical forest in Baturaden was chosen because has unique and high diversity microorganism that has characteristic antagonism that pressure growth of other antagonistic's because of antimicrobe. A number of 18 actinomisetes isolat were successfully isolated and then rejuvenated based on morphology, colours, and shape of the colonies. A characterization of morphology trait towards target bacteria had also been conducted. Six of the 18 actinomisetes isolat have antagonist characteristics towards target bacteria's growth. Isolat Btrd II.g and Btrd IV.I have the highest resistor activity as indicated by a 6 and 5 mm crystal clear zone. It indicated that actinomisetes isolat Btrd II.g and Btrd IV.I have relatively high antagonist characteristics. Btrd II.g and Btrd IV.I are potential to be used as an environmental friendly way to eliminate droop bacteria disease in chilli plants.

Keywords: actinomisetes, antagonist, Ralstonia solanacearum.

Tanaman cabe merupakan tanaman hortikultura penting di Indonesia karena mempunyai nilai ekonomi yang dapat menambah devisa bagi negara. Pada tahun 2001 produktivitas tanaman cabe mengalami penurunan dari tahun sebelumnya, yaitu dari 41,66 ku/ha pada tahun 2000 menjadi 40,72 ku/ha (DBPH, 2002). Salah satu penyebabnya adalah serangan penyakit layu bakteri, yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* yang dapat menimbulkan kelayuan secara mendadak bahkan mematikan tanaman.

R. solanacearum memiliki kisaran inang yang luas, dapat berpindah dari satu tanaman ke tanaman lain melalui tanah atau udara (Semangoen, 1994). *R. solanacearum* masuk ke tanaman melalui luka yang disebabkan oleh nematoda, serangga, atau alat pertanian. Infeksi tanaman dapat terjadi melalui akar yang diawali dengan kolonisasi bagian luar perakaran pada perpanjangan akar sekunder. Kolonisasi terus terjadi sampai di ruang intraseluler pada jaringan korteks dan meluas hingga jaringan parenkim, selanjutnya menginvasi pembuluh xylem. Bakteri masuk ke pembuluh dengan cara penetrasi langsung dinding pembuluh. Meskipun hanya dengan satu sel yang masuk ke dalam jaringan pembuluh, bakteri sudah mampu menimbulkan gejala penyakit.

Saat ini pengendalian penyakit layu bakteri yang menyerang tanaman cabe dilakukan petani dengan cara mekanis, yaitu mencabut tanaman yang bergejala (Djafaruddin, 2000). Pengendalian cara ini kurang efektif karena dapat menjadi sumber inokulum sekunder bagi tanaman cabe lainnya.

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengendalikan bakteri patogen, antara lain dengan menggunakan benih bersertifikat, melakukan rotasi tanaman, menggunakan varietas unggul, ataupun menimbun sisa-sisa tanaman setelah panen. Namun cara tersebut belum maksimal dalam menekan perkembangan dan penyebaran penyakit. Demikian pula pengendalian dengan menggunakan pestisida, selain meninggalkan residu, juga dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Dengan demikian perlu cara lain yang lebih efektif dan ramah lingkungan melalui penggunaan mikroorganisme yang bersifat antagonis.

Penggunaan mikroorganisme yang bersifat antagonis semakin mendapat perhatian karena mempunyai harapan besar untuk digunakan sebagai agens pengendali hayati yang ramah lingkungan. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi termasuk mikroorganismenya, sehingga berpeluang memiliki mikroorganisme yang bersifat antagonis yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme lain terutama yang bersifat patogen. Salah satu wilayah di Indonesia yang diduga memiliki keunikan dan keanekaragaman hayati yang tinggi adalah Hutan Wisata Baturaden Jawa Tengah. Lahan tersebut mempunyai struktur tanah sangat subur dan banyak terdapat tumpukan sisa-sisa tanaman yang sudah bertahun-tahun, dan jarang dijamah oleh manusia.

Aktinomisetes adalah kelompok mikroorganisme tanah yang mampu menghasilkan sejumlah metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa tersebut antara lain: streptomisin (Mc-Manus & Stockwell, 2001), neomisin, tetrasiklin, dan nistatin (Madigan, Martinko, & Parker, 2000). Kemampuan aktinomisetes khususnya *Streptomyces* dalam menghasilkan senyawa antibakteri telah dimanfaatkan pada bidang pertanian dan kesehatan untuk mengendalikan berbagai bakteri patogen.

Hwang, *et.al.* (2001) melaporkan bahwa *Streptomyces humidus* mampu menghambat patogen *Phytophthora capsici* dan *Pseudomonas sp.*, dengan menghasilkan senyawa asam fenil asetat dan sodium fenil asetat. Di Indonesia, Andri (2004) melaporkan bahwa beberapa isolat *Streptomyces* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen kedelai, yaitu *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas axonopodis*.

Cook & Baker (1996) menginformasikan bahwa penggunaan *Streptomyces* akan lebih efektif dibandingkan dengan penggunaan senyawa kimiawi dalam menekan serangan patogen. Percobaan di lapangan membuktikan bahwa pemberian 10^6 - 10^7 cfu/ml *Bacillus subtilis* pada benih *barley* yang terserang *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp.*, dan *Fusarium spp.* dapat meningkatkan hasil sebanyak 9% dan waktu panen menjadi 2 minggu lebih awal. Pada benih gandum pemberian *Streptomyces griseus* juga dapat meningkatkan hasil sampai 40%, dan pada benih wortel 48%. Peningkatan ini terjadi karena kemampuan *Streptomyces griseus* dalam menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* melalui senyawa antifungi yang dihasilkannya. Dengan demikian penapisan aktinomisetes yang bersifat antagonistik terhadap penyakit layu bakteri pada tanaman cabe penting dilakukan.

Tujuan penelitian adalah untuk menapis isolat aktinomisetes yang terdapat di lokasi Hutan Wisata Baturaden, Jawa Tengah dan mendapatkan aktinomisetes yang bersifat antagonistik terhadap penyakit layu bakteri tanaman cabe yang disebabkan oleh *R. solanacearum*. Tulisan ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keragaman isolat aktinomisetes yang terdapat di Hutan Wisata Baturaden dan memberikan rekomendasi tentang isolat aktinomisetes yang bersifat antagonistik untuk dikembangkan lebih lanjut dalam penanggulangan penyakit layu bakteri yang menyerang tanaman cabe.

METODOLOGI

Pengambilan sampel tanah dilaksanakan di daerah Baturaden, Jawa Tengah pada lokasi Hutan Wisata. Diduga tanah pada lokasi tersebut banyak mengandung mikroba tanah, khususnya aktinomisetes yang hingga saat ini penelitian tentang hal tersebut belum banyak dilakukan.

Dalam meneliti sampel tanah digunakan Media selektif Yeast Malt Agar (YMA) dan media Fermentasi (Lampiran 1) untuk isolasi, pemurnian, dan peremajaan aktinomisetes, sedang untuk menumbuhkan bakteri target digunakan media Nutrien Agar (NA) dan Tetra Zolium Chloride (TZC) (Lampiran 1).

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada kedalaman 15-25 cm di sekitar akar tanaman, dengan membagi lokasi Hutan Wisata menjadi 5 (lima) titik pengambilan. Masing-masing titik, diambil sebanyak 3 (tiga) kali ulangan, sehingga terdapat 15 sampel tanah. Sampel tanah tersebut dimasukkan ke dalam kantong plastik, dan diberi label.

Isolasi Aktinomisetes

Semua sampel tanah dikeringanginkan, kemudian dipanaskan dengan menggunakan oven selama 24 jam pada suhu 50-60°C. Masing-masing sampel tanah digerus sampai halus, kemudian disaring dengan menggunakan saringan ukuran 500 µm atau 2 mesh. Hasil saringan pertama diambil sebanyak 1 gram dan ditumbuhkan pada media YMA sebagai pengenceran satu kali. Hasil saringan kedua sebagai pengenceran 2 kali, dan seterusnya sampai tiga kali pengenceran. Perlakuan ini dilakukan terhadap 15 (lima belas) sampel tanah, kemudian diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu ruang, dan diamati koloni yang tumbuh.

Pemurnian Aktinomisetes

Semua koloni yang tumbuh dari masing-masing seri pengenceran, ditumbuhkan kembali pada media YMA baru, sampai benar-benar diperoleh koloni tunggal. Inkubasi dilakukan selama 7-14 hari pada suhu ruang.

Peremajaan Aktinomisetes

Setelah diperoleh koloni tunggal, masing-masing diamati morfologinya (warna, permukaan, tepi koloni), dan kemudian dilihat di bawah mikroskop untuk mengamati miselium. Masing-masing isolat kemudian diinokulasikan pada media YMA. Isolat yang tumbuh baik dan berumur 7-14 hari diinokulasikan kembali pada media YMA baru dan siap untuk diuji.

Peremajaan Bakteri Target

Biakan *R. solanacearum* yang berasal dari koleksi Laboratorium Bakteriologi, HPT-IPB ditumbuhkan pada media TZC dan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu ruang dan siap diuji.

Uji Antagonis

Uji antagonis ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (Madigan, Martinko, & Parker, 2000). Sebanyak 100 µl (10^6 cfu/ml) biakan *R. solanacearum* yang telah ditumbuhkan pada media NB selama 24 jam, disebar merata pada seluruh permukaan media NA, dan dibiarkan mengering 5-10 menit. Isolat aktinomisetes dengan menggunakan tusuk gigi steril, diinokulasikan di atas permukaan media NA yang telah ditumbuhi bakteri target tersebut. Pengujian

dilakukan secara duplo (dua kali ulangan). Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona bening yang terbentuk. Besar diameter zona bening diukur berdasarkan diameter seluruh zona yang terbentuk dikurangi dengan diameter pertumbuhan isolat aktinomisetes.

Bioesei Filtrat Kultur

Isolat aktinomisetes terpilih yang membentuk zona bening ditumbuhkan pada media fermentasi. Dengan menggunakan *cook boorer*, isolat aktinomisetes diinokulasikan dalam media fermentasi, dan kemudian ditempatkan pada *rotary shaker* selama 14 hari. Selanjutnya, biakan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 6400 g untuk memisahkan antara pelet dan filtrat kultur.

Filtrat kultur isolat aktinomisetes tersebut selanjutnya digunakan untuk pengujian daya hambat terhadap bakteri target dengan metode difusi agar (Madigan, Martinko, & Parker, 2000). Cara pengujiannya adalah 100 μ l masing-masing biakan bakteri target disebar pada cawan petri yang berisi media NA, kemudian dicampur rata. Setelah kering, cakram kertas berdiameter 13 mm diletakkan dengan sedikit ditekan, dan pada masing-masing cakram tersebut ditetesi 30 μ l filtrat kultur tersebut. Pengamatan zona hambat dilakukan setelah inkubasi 24 jam, dengan mengukur zona bening yang terbentuk. Besar diameter zona bening diukur berdasarkan diameter seluruh zona yang terbentuk dikurangi dengan diameter cakram kertas (13 mm).

Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap miselium dan morfologi (warna, permukaan, dan tepi koloni) aktinomisetes hasil isolasi yang tumbuh dalam waktu 7-14 hari, dan pengamatan terhadap hasil uji antagonis dan bioesei filtrat kultur dilakukan berdasarkan zona bening yang terbentuk (Suriawiria, 1973, Lampiran 2). Isolat aktinomisetes yang mampu membentuk zona bening, diduga bahwa isolat tersebut mempunyai sifat antagonis terhadap penyakit layu bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Peremajaan Aktinomisetes

Sebanyak 18 isolat aktinomisetes diperoleh dari 5 (lima) titik pengambilan sampel yang tersebar di lokasi Hutan Wisata Baturaden. Secara rinci ke 18 isolat aktinomisetes tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Ke-18 isolat aktinomisetes tersebut selanjutnya dimurnikan dan diremajakan dengan menggunakan media YMA dengan waktu inkubasi 7-14 hari pada suhu ruang. Hasil peremajaan terhadap 18 isolat aktinomisetes dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa dari 18 isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi, terdapat 12 isolat yang berhasil tumbuh dan 6 isolat tidak berhasil tumbuh. Tidak tumbuhnya isolat tersebut kemungkinan disebabkan oleh isolat sudah terlalu tua, atau sudah mati ataupun sedang mengalami dorman. Menurut Miyadoh & Otoguro (2004), spora aktinomisetes akan berkembang menjadi miselium dan tumbuh menjadi koloni jika nutrisi, suhu, kelembaban, dan kondisi lainnya memenuhi syarat untuk kehidupan. Isolat yang berhasil tumbuh dalam waktu 3-5 hari mempunyai diameter pertumbuhan mencapai 2-4 mm. Permukaan koloni yang berhasil diremajakan ada yang berbentuk halus seperti beludru, bertepung, kasar, atau keriput. Warna koloni ada yang putih, krem, coklat muda, hitam, dan abu-abu. Bentuk koloni bulat dengan tepi rata atau bergelombang ataupun

patahan. Gambar 1 adalah morfologi beberapa isolat aktinomisetes yang terdapat di lokasi Hutan Wisata Baturaden.

Tabel 1. Delapan belas isolat aktinomisetes yang tersebar di 5 (lima) titik pengambilan sampel

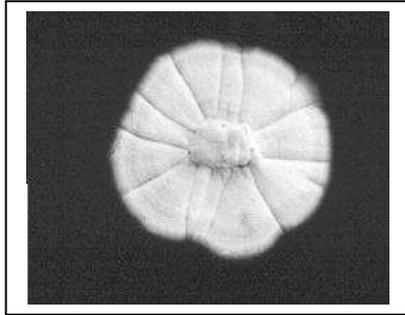
Titik Pengambilan Sampel	Ulangan	Jenis Isolat																	
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r
I	1	√			√														
	2		√																
	3			√															
II	1					√			√										
	2			√			√												
	3							√											
III	1									√		√							
	2				√						√								
	3																		
IV	1											√			√				
	2												√					√	
	3													√					√
V	1										√						√		√
	2																		
	3																		√

Keterangan: I --> ditemukan isolat a, b, c,d,
 II --> ditemukan isolat c, e, f, g, h
 III --> ditemukan isolat d, i, j, k
 IV--> ditemukan isolat l, m, n, o, q
 V --> ditemukan isolat j, p, q, r

Tabel 2. Kemampuan tumbuh isolat aktinomisetes hasil peremajaan pada media YMA

Kode Isolat	Kemampuan Tumbuh
Btrd I.a	+
Btrd I.b	+
Btrd I.c	-
Btrd I.d	-
Btrd II.e	+
Btrd II.f	+
Btrd II.g	+
Btrd II.h	+
Btrd III.i	+
Btrd III.j	-
Btrd III.k	-
Btrd IV.l	+
Btrd IV.m	+
Btrd IV.n	+
Btrd IV.o	+
Btrd V.p	+
Btrd V.q	-
Btrd V.r	-

Keterangan: Btrd : Baturaden
 I – V : Titik Pengambilan Sampel
 a – r : Jenis isolat
 + : isolat mampu tumbuh baik pada media YMA
 - : isolat tidak mampu tumbuh pada media YMA



Btrd IV.1



Btrd II.g

Gambar 1. Morfologi isolat aktinomisetes

Karakterisasi Bakteri *Ralstonia solanacearum*

R. solanacearum yang merupakan bakteri target yang digunakan pada penelitian ini merupakan koleksi dari laboratorium Bakteriologi, Departemen Hama dan Penyakit Tanaman, IPB, Bogor. Bakteri target ditumbuhkan pada media TZC dengan inkubasi 2-3 hari pada suhu ruang dan mempunyai ciri-ciri morfologi seperti Tabel 3.

Tabel 3. Ciri Morfologi Bakteri Target *R. solanacearum*

Ciri Morfologi	Hasil Pengamatan
Bentuk koloni	Bulat
Warna koloni	Putih dengan pusat warna merah
Ukuran koloni	2,5 – 5 mm
Permukaan koloni	Licin/mengkilap
Elevasi	Cembung
Bentuk sel	Batang
Reaksi Gram	Negatif (-)

Pada tabel 3 terlihat bahwa koloni dari bakteri target tersebut berwarna putih dengan pusat warna merah. Warna merah diduga menunjukkan bahwa bakteri target tersebut mempunyai virulensi, artinya mempunyai sifat patogen. Ciri-ciri yang terlihat pada tabel 3 sama dengan ciri-ciri yang dipunyai *Pseudomonas* sp. yang dilaporkan Holt *et.al.* (1994). *R solanacearum* merupakan nama lain dari *Pseudomonas solanacearum*.

Uji in vitro dan Bioesei Filtrat Kultur Kemampuan Penghambatan Aktinomisetes terhadap Bakteri Target

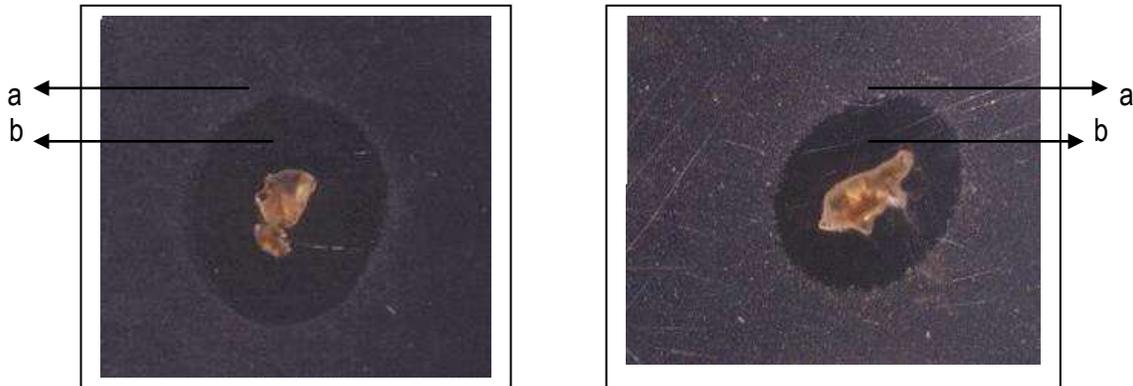
Ke-12 isolat aktinomisetes yang berhasil tumbuh, selanjutnya dilakukan uji antagonis dengan bakteri target dalam hal ini *R. solanacearum*. Sembilan isolat mampu menghasilkan sifat antagonis terhadap pertumbuhan bakteri target. Tabel 4 memperlihatkan sifat antagonis dari 9 isolat aktinomisetes terhadap bakteri target, yang ditunjukkan dengan zona hambat (zona bening).

Tabel 4. Kemampuan penghambatan aktinomisetes terhadap bakteri target *R. solanacearum*

Kode Isolat	Diameter Zona Hambatan Ulangan (mm)		
	1	2	Rataan
Btrd I.a	-	-	-
Btrd I.b	2,0	1,0	1,50
Btrd II.e	3,5	4,0	3,75
Btrd II.f	3,0	2,5	2,75
Btrd II.g	5,5	6,5	6,00
Btrd II.h	-	-	-
Btrd III.i	2,0	1,5	1,75
Btrd IV.l	5,0	6,0	5,50
Btrd IV.m	5,5	5,0	5,25
Btrd IV.n	4,5	6,0	5,25
Btrd IV.o	3,0	3,5	3,75
Btrd V.p	-	-	-

Keterangan: Tanda - menunjukkan tidak mampu menghasilkan zona hambat

Zona bening tertinggi adalah isolat Btrd II.g dengan diameter isolat 6,00 mm, kemudian diikuti berturut-turut dengan isolat Btrd IV.l, Btrd IV.m, dan Btrd IV.n dengan masing-masing diameter zona adalah 5,50 mm dan 5,25 mm (Gambar 2). Zona bening terendah dihasilkan oleh isolat Btrd I.b dengan diameter zona 1,50 mm. Bahkan terdapat 3 isolat yang tidak mampu membentuk zona bening, yaitu: Btrd I.a, Btrd II.h, dan Btrd V.p.



Gambar 2. Hasil uji antagonis isolat aktinomisetes, (a) zona bening (b) koloni aktinomisetes

Semakin besar zona hambat yang dihasilkan semakin kuat isolat aktinomisetes dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri target. Dua populasi bakteri yang ditumbuhkan bersama akan saling berinteraksi dan dapat menunjukkan pertumbuhan yang sinergis atau antagonis/kompetisi. Pada penelitian ini sifat sinergis ditandai dengan tidak adanya zona bening di sekitar isolat aktinomisetes. Hal ini dapat disebabkan aktinomisetes tersebut tidak dapat menghasilkan senyawa anti bakteri atau senyawa bioaktif yang dihasilkan sehingga tidak menyebabkan terhambatnya bakteri target, tetapi sebaliknya kedua populasi tersebut dapat tumbuh bersama dengan baik. Aktivitas sinergis dari dua populasi mikroba dapat saling melengkapi/menyempurnakan suatu lintasan metabolik. Sifat kompetisi/antagonis ditandai dengan adanya pertumbuhan yang saling menghambat. Dalam penelitian ini terbentuknya zona bening di sekitar isolat aktinomisetes menunjukkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri target, dalam hal ini *R. solanacearum*. Kemungkinan isolat aktinomisetes selain dapat menghasilkan senyawa anti bakteri berupa antibiotik (Mc-Manus & Stockwell, 2001) dan enzim biodegradasi (Chamberlain & Crawford, 2000), juga memproduksi metabolit sekunder lain berupa hormon (Hwang, *et.al.*, 2001). Neeno-Eckwall, Kinkel, & Schottel (2001) mengatakan lebih lanjut, kemampuan aktinomisetes dalam mencegah atau menghambat bakteri target dapat melalui produksi antibiotika atau kompetisi nutrisi.

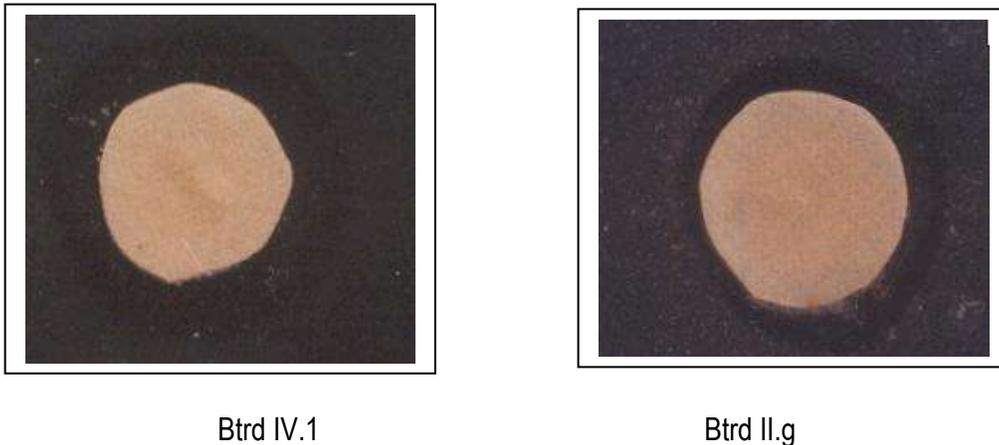
Sembilan isolat yang diduga mampu menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat bakteri target, selanjutnya difermentasi dalam medium fermentasi I yang mempunyai kandungan nutrisi minimal. Pada kondisi minimal ini, diharapkan dapat menstimulir dihasilkannya metabolit sekunder oleh aktinomisetes. Filtrat kultur yang diperoleh dari isolat tersebut, diujikan kembali terhadap bakteri target yaitu *R. solanacearum* dengan metode cakram kertas. Hasil uji tersebut terdapat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji antagonis filtrat kultur 9 isolat aktinomisetes terhadap bakteri target *R. Solanacearum*

Kode Isolat	Daya Hambat Filtrat Kultur	
	Diameter Zona (mm)	Kemampuan Penghambatan ^{*)}
Btrd I.b	1,0	+
Btrd II.e	3,5	++
Btrd II.f	-	-
Btrd II.g	6,0	+++
Btrd III.i	-	-
Btrd IV.l	5,0	+++
Btrd IV.m	3,5	++
Btrd IV.n	4,0	++
Btrd IV.o	-	-

Keterangan: *) Kriteria penghambatan tertera pada Lampiran 2

Hasil uji antagonis aktivitas filtrat kultur terhadap 9 jenis isolat aktinomisetes menunjukkan bahwa isolat Btrd II.g dan Btrd IV.l mempunyai kemampuan menghambat cukup kuat terhadap pertumbuhan bakteri target, yaitu masing-masing 6,0 mm dan 5,0 mm. Bahkan terdapat empat isolat lain tidak dapat menghasilkan daya hambat, atau walaupun ada tidak begitu kuat/kecil, tidak jelas, dan tidak konsisten terhadap ulangan. Gambar 3 menunjukkan hasil uji aktivitas filtrat kultur isolat Btrd II.g dan Btrd IV.l.



Gambar 3. Hasil uji antagonis aktivitas filtrat kultur isolat aktinomisetes

Bila dibandingkan dengan uji antagonis menggunakan isolat aktinomisetes (Tabel 3), aktivitas filtrat kultur yang diujikan kembali pada bakteri target mempunyai kemampuan daya penghambatan lebih kecil. Hal ini disebabkan pada uji aktivitas filtrat kultur, hanya filtrat yang digunakan dalam pengujian, sedangkan biomassa tidak disertakan. Sedang pada uji dengan menggunakan isolat kemungkinan konsentrasi zat bioaktif tinggi karena yang digunakan adalah seluruh bagian isolat, yaitu filtrat dan biomassa. Yuan & Crawford (1995) menjelaskan kemampuan dalam mencegah terinfeksi patogen *Pythium ultimum* akan lebih baik dengan menggunakan miselia aktinomisetes dibandingkan dengan menggunakan suspensi spora. Syefiyannah (2000) menambahkan bahwa tingkat penghambatan terhadap bakteri target akan semakin bertambah dengan makin tingginya konsentrasi zat bioaktif di dalam filtrat. Peneliti lain Hwang, *et.al.* (1996) juga menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat semakin tinggi daya hambat yang dihasilkan. Hal ini dibuktikan dengan percobaan yang dilakukan dengan menggunakan 2 konsentrasi filtrat yang berbeda. Pada konsentrasi $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ kemampuan menghambat pertumbuhan hifa *Phytophthora capsici* sampai 50% lebih dan konsentrasi $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ kemampuan menghambat 90% lebih. Filtrat tersebut hasil isolasi dari aktinomisetes.

Perbedaan daya hambat suatu agens selain disebabkan oleh konsentrasi zat bioaktif, juga jenis zat bioaktif yang dihasilkan. Mc-Manus & Stockwell (2001) mengatakan lebih lanjut, bahwa pemberian kadar streptomisin yang tinggi dapat bersifat racun pada tanaman, dan pemberian tetrasiklin dapat menyebabkan tertundanya gejala serangan penyakit atau bahkan menjadi berkurang. Ini baru dicobakan terbatas pada tanaman hias, dan sebagai bakteri target adalah *Erwinia amylovora*.

Penghambatan yang dihasilkan isolat Btrd II.g dan Btrd IV.1 dikategorikan cukup kuat, artinya senyawa antibakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri target dengan kuat, yang ditunjukkan adanya zona bening yang sangat jelas dan diameter yang besar. Diduga dua isolat tersebut mempunyai sifat antagonis yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri target. Hal ini menyebabkan kedua isolat tersebut mempunyai peluang untuk dijadikan agens pengendali hayati (biokontrol). Menurut Cook & Baker (1996), persyaratan suatu mikroba dapat dijadikan sebagai

agens pengendali, antara lain mampu memproduksi substrat atau zat antibiotik beracun yang efektif pada konsentrasi rendah apabila diaplikasikan di lapangan.

Kemampuan isolat Btrd II.g dan Btrd IV.1 dalam menghambat serangan bakteri target dalam hal ini penyakit layu bakteri pada tanaman cabe, menjadikan kedua isolat tersebut berpotensi sebagai agens biokontrol. Neeno-Eckwall, Kinkel, & Schottel (2001) mengatakan lebih lanjut, aktivitas suatu agens biokontrol akan efektif bila mampu menghambat/mengurangi serangan target, mampu mengkolonisasi, mampu berinteraksi dengan mikroorganisme lain (indigenous), mampu memproduksi antibiotika, dan bersifat resisten.

KESIMPULAN

Penapisan aktinomisetes terhadap sampel tanah yang berasal dari lokasi Hutan Wisata Baturaden, didapatkan 18 isolat aktinomisetes, yang berbeda secara morfologi baik bentuk, warna, permukaan, maupun tepi koloni.

Isolat aktinomisetes yang menghasilkan sifat antagonis terbesar adalah Btrd II.g dan Btrd IV.I dengan diameter zona 6,0 mm dan 5,0 mm. Kedua isolat tersebut mempunyai potensi sebagai agens pengendali hayati terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*, penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman cabe.

REFERENSI

- Andri, C. (2004). Kajian potensi *Streptomyces* sp. PS 1-4 sebagai penghasil senyawa bioaktif pengendali bakteri patogen tanaman kedelai. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Chamberlain, K. & Crawford DL. (2000). Thatch biodegradation and antifungal activities of two lignocellulolytic *Streptomyces* strain in laboratory cultures an in golf green turf grass. *Can J. Microbiol* 46: 550-558.
- Cook, R.J. & Baker, K.F. (1996). *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. Ed. ke-3. St. Paul Minnesota. APS.
- Dirjen Bina Produksi Hortikultura. (2002). *Informasi hortikultura dan aneka tanaman hortikultura*. Jakarta.
- Djafaruddin. (2000). *Dasar-dasar pengendalian penyakit tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. & Williams, S.T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Ed. ke-9. USA: Williams & Wilkins.
- Hwang, B.K., Lee, J.Y., Kim, B.S., & Moon, S.S. (1996). Isolation, structure elucidation, and antifungal activity of manumycin-type antibiotic from actinomycetes. *Agric Food Chem* 44: 3653-3657.
- Hwang, B.K., Lim, S.W., Kim, B.S., Lee, J.Y. & Moon, S.S. (2001). Isolation and *in vivo* and *in vitro* antifungal activity of phenylacetic acid and sodium phenylacetate from *Streptomyces humidus*. *Appl Environ Microbiol* 67:3739-3745.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., & Parker, J. (2000). *Brock: Biology of microorganisms*. New Jersey American: Prentice Hall.
- Mc-Manus P.S., Stockwell V.O. (2001). Antibiotic use for plant disease management in the United States. *Plant Health Progress*.
- Miyadoh, S. & Ootoguro, M. (2004). Introduction of actinomycetes. *Workshop on isolation methods and classification of Actinomycetes*. Bogor: Biotechnology Center LIPI.

- Neeno-Eckwall E.C., Kinkel L.L., Schottel J.L. (2001). Competition and antibiosis in the biological control of Potato scab. *Can J Microbiol* 47:332-340.
- Semangoen, H. (1994). *Penyakit-penyakit tanaman hortikultura*. Yogyakarta: Gadjah Mada Univ Pr.
- Suriawiria, U. (1973). Mikroflora penghasil aktivitas anti bakteri di dalam sampel tanah dari beberapa tempat di Jawa Barat. *Acta Paramacautica* 4 (1):10-17.
- Syefiyanah. (2000). Antibiosis Isolat *Streptomyces* sp. terhadap patogen kedelai *Bacillus subtilis* dan *Xanthomonas campestris* pv. *glycine*. Skripsi. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Yuan, W.M. & Crawford, D.L. (1995). Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Appl Environ Microbiol* 61:3119-3128.

Lampiran 1. Komposisi Berbagai Media yang Digunakan dalam Penelitian

Nama Media	Komposisi	Jumlah (g/l)
Yeast Malt Agar (YMA)	Yeast Ekstraks	4,0
	Malt Ekstraks	10,0
	Glucose	4,0
	Bacto Agar	15,0
Nutrient Agar (NA)	Beef Ekstraks	3,0
	Yeast Ekstraks	3,0
	Bacto Pentone	5,0
	Bacto Agar	15,0
Nutrient Broth (NB)	Beef Ekstraks	3,0
	Yeast Ekstraks	3,0
	Bacto Pentone	5,0
Fermentasi	Dextrin	20,0
	Yeast Ekstraks	3,0
	Glukosa	2,0
	Soybean flour	25,0
	CaCO ₃ (pH 6,8-7,0)	3,0
Tetra Zolium Chloride	Pentone	10,0
	Casein	1,0
	Glukosa	0,5
	Bacto Agar	15,0

Lampiran 2. Kriteria Kemampuan Daya Hambat (Suriawiria, 1973)

++++	Kenampakan sangat jelas, diameter ≥ 10 mm Kenampakan jelas, diameter ≥ 15 mm Kenampakan cukup jelas, diameter ≥ 20 mm
+++	Kenampakan sangat jelas, diameter 5-9 mm Kenampakan jelas, diameter 10-14 mm Kenampakan cukup jelas, diameter 15-19 mm Kenampakan samar, diameter ≥ 20 mm
++	Kenampakan sangat jelas, diameter 3-4 mm Kenampakan jelas, diameter 5-9 mm Kenampakan cukup jelas, diameter 10-14 mm Kenampakan samar, diameter 15-19 mm Kenampakan sangat samar, diameter ≥ 20 mm
+	Kenampakan sangat jelas, diameter 1-2 mm Kenampakan jelas, diameter 2-5 mm Kenampakan cukup jelas, diameter 6-9 mm Kenampakan samar, diameter 10-15 mm Kenampakan sangat samar, diameter ≥ 15 mm