ISSN: 2301-6515

Uji Aktivitas Antijamur *Bacillus cereus* terhadap Colletotrichum fructicola KRCR Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Rawit (Capsicum frutescens L.)

KRISNA SANUBARI PURBA KHAMDAN KHALIMI*) NI WAYAN SUNITI

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana Jl. PB. Sudirman Denpasar 80321 Bali
*)Email: khamdankhalimi@yahoo.com

ABSTRACT

Test of Antifungal Activity of *Bacillus cereus* Against *Colletotrichum fructicola* Causing Anthracnose Disease in Cayenne Pepper (*Capsicum frutescent* L.)

Anthracnose or fruit rot disease that attacks ceyenne pepper is caused by the pathogenic fungus *Colletotrichum fructicola*, this disease can cause crop failure. Currently, control of this disease is still using synthetic fungicides, but this method can cause demage to the ecosystem. Biopesticides are one of the environmentally friendly control of plant phatogens because biopesticides use biologycal agents. The purpose of this study was to determine the ability of *B. cereus* bacteria to inhibit the growth of *C. fructicola* KRCR cause anthracnose desease *in vitro*. The result showed that bacteria *B. cereus* was able to inhibit the growth of fungal colonies *C. fructicola* KRCR on potato dextrose agar (PDA) with an inhibitory percentage of 90.55% when compared to controls. The results of the *B. cereus* filtrate test a concentration of 50% is able to inhibit the growth of *C. fructicola* KRCR with an inhibitory percentage of 87.56%.

Keywords: Anthracnose, B. cereus, C. fructicola.

1. Pendahuluan

Latar Belakang

Cabai rawit merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia, karena cabai dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi serta memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi. Salah satu faktor yang menghambat produksi cabai rawit adalah adanya serangan organisme penggangu tanaman. Penyakit Antraknosa merupakan salah satu penyakit penting yang dapat menimbulkan kerusakan parah hingga gagal panen cabai rawit.

Penyakit antraknosa atau busuk buah disebabkan oleh beberapa spesies jamur *Colletotrichum* diantaranya *C. fructicola, C. acutatum, C. capsici, dan C. gloeosporioides* (Sharma, 2013; Syukur, 2007). *Colletotrichum* bekerja dengan merusak dinding sel tanaman, menyebabkan kerusakan pada semua fase pertumbuhan cabai. Pada fase perkecambahan menyebabkan tanaman gagal berkecambah dan pada fase generatif menyebabkan buah yang masak menjadi busuk dan mengering.

Pengendalian penyakit antraknosa menggunakan fungisida sintetis berdampak negatif karena dapat memyebabkan negatif bagi kesehatan manusia, merusak lingkungan dan menyebabkan resistensi patogen. Untuk mengurangi penggunaan fungisida sintetis perlu dilakukan pengendalian yang lebih ramah lingkungan. Biopestisida merupakan salah satu pengendalian hayati yang aman dan ramah lingkungan sehingga dapat dimanfaatkan sebagai alternatif untuk mengendalikan organisme pengganggu tanaman. Bahan utama biopestisida adalah organisme hidup seperti mikroorganisme, jamur, dan bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan patogen. Adanya agens hayati yang bersifat hayati mampu mengendalikan mikroorganisme patogen dengan cara menghasilkan senyawa antimikroba dan kompetisi.

Potensi yang dimiliki agens hayati ini tentu akan menjadi salah satu pengendalian yang lebih ramah lingkungan. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antijamur *Basillus cereus* terhadap *Coletotricum fructicola* penyebab penyakit antraknosa pada buah cabai rawit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemmpuan *B. cereus* sebagai agens hayati untuk mengendalikan *C. fructicola* penyebab penyakit antraknosa.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2019 sampai Maret 2020 yang dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana Denpasar Bali.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat jamur *C. fructicola* KRCR, isolat bakteri *B. cereus*, kentang, sukrosa, agar, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), aquades, dan air. Alat yang digunakan adalah gelas ukur, cawan Petri, tabung reaksi, labu Erlenmeyer, pipet mikro, *cover glass*, *deck glass*, *autoclave*, sendok pengaduk, kompor gas, api bunsen, panci, timbangan digital, jarum *Ose*, pisau, gunting, *shaker*, , mikroskop, *laminar flow cabinet*, penjepit, saringan, kain kasa, tisu, *aluminium foil*, kapas, masker, penggaris, kamera digital, kertas buram, kertas stiker, dan spidol.

ISSN: 2301-6515

2.3 Pelaksanaan Penelitian

2.3.1 Peremajaan jamur Colletotrichum fructicola KRCR

Jamur *C. fructicola* KRCR (Karangasem Cabai Rawit) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi Labolatorium Biopestisida, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana, yang sudah dibuktikan patogenisitasnya terhadap tanaman cabai dengan postulat Koch. Peremajaan jamur *C. fructicola* KRCR dilakukan dengan cara mengambil koloni jamur dengan menggunakan *cork borer* diameter 5 mm, kemudian koloni tersebut diletakkan menggunakan jarum *Ose* pada cawan petri yang sudah berisi 10 ml media potato dextrose agar (PDA) dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

2.3.2 Peremajaan Bakteri Bacillus cereus

Bakteri *B. cereus* yang digunakan untuk penelitan ini merupakan koleksi Labolatorium Biopestisida, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Sebelum pengujian bakteri *B. cereus* sebagai agens antagonis *B. cereus* diremajakan terlebih dahulu. Peremajaan bakteri *B. cereus* dilakukan dengan membiakkan isolat bakteri pada media PDA nistatin. Isolat *B. cereus* diambil menggunakan jarum ose kemudian isolat digoreskan pada media PDA nistatin lalu diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang. Isolat bakteri yang telah diremajakan dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya.

2.3.3 Uji Daya Hambat Bakteri B. cereus Terhadap Pertumbuhan C. fructicol KRCR Secara in vitro

Pengujian daya hambat B. cereus terhadap pertumbuhan C. fructicola KRCR dilakukan untuk mengetahui persentase daya hambat atau kemampuan B. cereus dalam menekan pertumbuhan C. fructicola KRCR secara in vitro. Pengujian daya hambat B. cereus terhadap pertumbuhan C. fructicola KRCR dilakukan dengan menggunkan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan dua perlakuan yaitu kontrol dan isolat jamur C. fructicola KRCR dengan isolat B. cereus, setiap perlakuan diulang 16 kali. Kemudian uji daya hambat dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat jamur C. fructicola KRCR di tengah - tengah cawan Petri kemudian inokulasikan isolat bakteri B. cereus mengapit pada keempat sisi dengan jarak masing – masing 2 cm dari isolat jamur C. fructicola KRCR dan perlakuan kontrol dilakukan dengan menginokulasikan isolat jamur C. fructicola KRCR ditengah tengah cawan Petri tanpa diampit isolat bakteri B. cereus. Kemudian perlakuan diinkubasi pada suhu ruang hingga kontrol penuh. Luas koloni jamur ditentukan dengan menggunakan kertas kalkir dan kertas milimeter block. Luas koloni masing – masing perlakuan pada cawan Petri digambar pada kertas kalkir kemudiaan dipindahkan ke kertas milimeter block untuk dihitung luas koloninya. Persentase daya hambat bakteri antagonis ditentukan dengan rumus

Setelah dilakukan pengamatan akan diperoleh persentase daya hambat *bakteri B. cereus* dalam menekan pertumbuhan *C. fructicola* KRCR secara *in vitro*.

2.3.4 Pembuatan Filtrat B.cereus

Pembuatan filtrat bakteri diawali dengan membuat media PDB yang akan digunakan sebagai media biakan bakteri B. cereus. Bahan untuk membuat PDB adalah 200 g kentang dan 20 g dextrose. Kentang direbus denga air, kemudian air rebusan kentang disaring menggunakan kain kasa atau saringan sebanyak 1000 ml kemudian campurkan 20 g dextrose, selanjutnya tuang kedalam Erlenmeyer ukuran 250 ml lalu disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Setelah disterilisasi media PDB dibiarkan hingga dingin. Selanjutnya membuat suspensi bakteri dengan menginokulasikan 3 ose isolat bakteri B. cereus kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml air steril kemudian di vortex selama 3 menit atau sampai suspensi tercampur rata (tidak ada gumpalan isolat bakteri). Selanjutnya di dalam laminar flow cabinet 1 ml suspensi bakteri B. cereus dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 250 ml media PDB yang sebelumnya telah didinginkan. Kemudian kultur bakteri B. cereus tersebut dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 14 hari. Setelah di shaker kultur disentrifugasi dengan kecepatan 450 rpm selama 15 menit. Kemudian supernatan disaring menggunkan kertas saring membrane millipore 0.45 μm. Penyaringngan dilakukan didalam laminar flow cabinet sehingga tidak terjadi kontaminasi. Setelah disaring filtrat dapat digunakan.

2.3.5 Uji Daya Hambat Filtrat Bakteri B. cereus terhadap Koloni Jamur C. fructicola KRCR Secara in vitro.

Pengujian daya hambat filtrat terhadap pertumbuhan jamur C. fructicola KRCR dilakukan mengunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yaitu kontrol, filtrat konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Setiap perlakuan dibuat 4 kali ulangan. Untuk membuat konsentrasi 10% dilakukan dengan menuang 1 ml filtrat kedalam cawan Petri dan ditambahkan 9 ml media PDA kemudian cawan Petri digoyang – goyangkan untuk mencampur filtrat bakteri dengan PDA. Isolat jamur C. fructicola KRCR yang telah diremajakan dipisahkan mengunakan cok borer diameter 4 mm kemudian diambil dengan jarum Ose lalu diletakkan di tengah tengah cawan Petri yang telah berisi filtrat dan PDA yang telah memadat. Selanjutnya perlakuan diinkunbasi selama 10 hari pada suhu ruang. Luas koloni jamur ditentukan dengan menggunakan kertas kalkir dan kertas milimeter block. Luas koloni masing – masing perlakuan pada cawan Petri digambar pada kertas kalkir kemudiaan dipindahkan ke kertas milimeter block untuk dihitung luas koloninya. Luas Koloni dihitung pada 10 hari setelah inokulasi. Kemudian luas

53

koloni jamur *C. fructicola* KRCR dihitung dan dibandingkan dengan setiap perlakuan.

2.3.6 Analisis Data

Data kemudian dianaliss secara statistik dengan ANOVA (Analysis of Varians). Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji beda ratarata Duncan's Multiple Range Test (DMRT) taraf 5%untuk uji filtrat dan untuk uji antagonis bakteri dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Daya Hambat Bakteri B. cereus Terhadap Pertumbuhan C. fructicola KRCR Secara In vitro

Hasil pengamatan luas koloni jamur *C. fructicola* pada pengamatan 10 HSI menunjukkan bahwa *B. cereus* mampu menekan pertumbuhan koloni jamur *C. fructicola*. Hal ini ditunjukkan dengan rendahnya nilai luas koloni jamur *C. fructicola* dan tingginya persentase daya hambat *B. cereus* (Tabel 4.1). Nilai rata-rata luas koloni *C. fructicola* pada perlakuan dengan bakteri *B. cereus* sebesar 558,56 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 90.55% jika dibandingkan dengan kontrol dengan luas koloni 5911,19 mm² (Tabel 1). Hasil uji daya hambat bakteri *B. cereus* terhadap pertumbuhan jamur *C. fructicola* KRCR menunjukkan adanya potensi *B. cereus* sebagai agens hayati untuk menghambat pertumbuhan jamur *C. fructicola*.

Tabel 1. Luas koloni *C. fructicola* KRCR dan daya hambat *B. cereus* terhadap pertumbuhan *C. fructicola* KRCR pada pengamatan 10 HSI.

	v 1 1 (
Perlakuan	Luas Koloni (mm ²⁾	Persentase Daya Hambat
		(%)
Kontrol	5911,19 a	-
B.cereus	558,56 b	90.55
BNT	190.10	

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Ada 3 mekanisme agens hayati dalam menghambat pertumbuhan patogen berdasarkan kriteria yang dikemukakan Windham (2008) yaitu: mekanisme kompetisi dimana agens hayati menutupi koloni patogen, pertumbuhan hayati lebih cepat dibanding pertumbuhan patogen serta pada daerah kontak hifa patogen mengalami lisis. Kedua mekanisme antibiosis apabila terbentuk zona bening diantara jamur patogen dengan agens hayati, terdapat perubahan hifa dan dihasilkan pigmen dipermukaan bawah koloni agens hayati. Ketiga mekanisme Parasitisme, dimana agens hayati tumbuh diatas hifa jamur patogen, pada daerah kontak ditemukan hifa jamur melilit hifa patogen serta mengalami lisis.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bakteri *B. cereus* menghambat pertumbuhan *C. fructicola* dengan cara mekanisme antibiosis. Hal ini dilihat dengan terbentuknya zona bening diantara jamur patogen *C. fructicola* KRCR dan agens hayati *B. cereus* seperti pada Gambar 1.





Gambar 1. Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *B. cereus* terhadap Pertumbuhan *C. fructicola* KRCR pada Pengamatan 10 HSI. Keterangan: (A) Perlakuan Kontrol Jamur *C. fructicola* KRCR (B) Perlakuan *C. fructicola* KRCR dan *B. cereus*

Pertumbuhan koloni jamur *C. fructicola* KRCR tanpa perlakuan bakteri *B. cereus* (kontrol) tumbuh dengan baik karena nutrisinya terpenuhi. Sedangkan perlakuan yang diberi bakteri *B. cereus* pertumbuhan koloni jamur *C. fructicola* KRCR terhambat akibat adanya interaksi antagonis antar bakteri *B. cereus* dengan jamur *C. fructicola* KRCR (Gambar 4.1). Adanya zona bening pada perlakuan menunjukkan bakteri *B. cereus* kemungkinan memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik dan enzim. Senyawa antibiotik yang dihasilkan bakteri *B. cereus* dapat menghambat pertumbuhan patogen. Maria (2002) menyatakan kriteria keefektifan hasil uji antagonis secara invitro dalam *screening* dilihat dari ada atau tidaknya zona bening diantara patogen dan bakteri antagonis.

Bakteri *B. cereus* mengahasilkan enzim kitinase, Muharni dan Wijayanti (2011) menyatakan kitinase adalah enzim yang dapat menguraikan zat kitin. Dinding hifa *Colletotrichum* memiliki tekstur mikrofibril yang terbuat dari kitin yaitu β1,4-N-asetilglukosamin (Alfijar, 2013). Sehingga diduga enzim kitinase yang dihasilkan *B. cereus* dapat merusak dinding sel jamur patogen *C. fructicola* yang mengandung kitin dan akhirnya menyebabkan pertumbuhan sel jamur patogen terhambat.

3.2 Pengujian Daya Hambat Filtrat B. cereus Terhadap Pertumbuhan C. fructicola Secara In vitro

Hasil uji daya hambat filtrat bakteri *B. cereus* terhadap jamur *C. fructicola* KRCR secara *in vitro* menunjukkan bahwa filtrat *B. cereus* mampu menekan

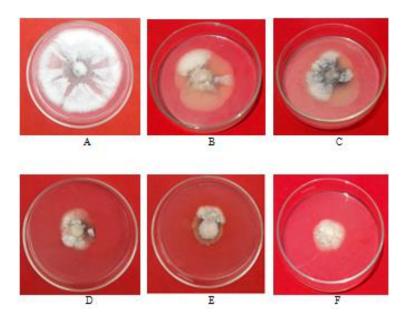
pertumbuhan jamur *C. fructicola* KRCR secara efektif. Masing – masing perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda terhadap pertumbuhan jamur *C. fructicola* KRCR pada pengamatan 10 HSI. Semakin tinggi konsentrasi filtrat *B. cereus* maka semakin tinggi persentase daya hambat (Tabel 2).

Tabel 2. Persentase Daya Hambat Filtrat Bakteri *B. cereus* terhadap Jamur *C. fructicola* KRCR pada Pengamatan 10 HIS

Perlakuan / Konsentrasi Filtrat	Luas Koloni (mm²)	Daya Hambat (%)
10%	2.264,5 a	32,98
20%	1.407,00 b	66,49
30%	1.135,50 c	72,95
40%	681,75 d	83,76
50%	522,00 e	87,56
Kontrol	4.198,75 f	-

Keterangan : Nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa filtrat *B. cereus* dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. fructicola* KRCR. Persentase daya hambat tertinggi ditunjukkan pada perlakuan dengan konsentrasi filtrat 50% dengan luas koloni sebesar 522 mm² dan persentase daya hambat sebesar 87,56%, konsentrasi 40% dengan luas koloni sebesar 681,75 mm² dan daya hambat sebesar 83,56%, konsentrasi 30% luas koloni sebesar 1.135,50 mm² dengan persentase daya hambat 72,95%, dan konsentrasi 20% dengan luas koloni sebesar 1.407,00 mm² dan persentase daya hambat sebesar 66,49%. Sedangkan persentase daya hambat terendah pada perlakuan filtrat 10% dengan luas koloni sebesar 2.264,5 mm² dengan persentase daya hambat sebesar 32,98%, jika dibandingkan dengan luas koloni kontrol sebesar 4.198,75 mm² pada pengamatan 10 HSI.



Gambar 2. Hasil Daya Hambat Filtrat Bakteri *B. cereus* terhadap *C. fructicola* KRCR pada Pengamatan 10 HSI. Keterangan: (A) Perlakuan Kontrol, (B) Perlakuan filtrat *B. cereus* konsentrasi 10%, (C) Perlakuan Perlakuan filtrat *B. cereus* konsentrasi 20%, (D) Perlakuan filtrat *B. cereus* konsentrasi 30%, (E) Perlakuan filtrat *B. cereus* konsentrasi 50%.

Luas koloni jamur patogen pada perlakuan dengan menggunakan filtrat *B*. cereus lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Gambar 4.2). Pertumbuhan jamur *C. fructicola* terhambat karena adanya aktivitas antibiosis oleh bakteri antagonis. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *B. cereus* telah terdifusi dengan filtrat., senyawa metabolit yang dihasilkan mampu menutup zona tumbuh jamur patogen.

Pada penelitian yang dilakuakan Suryadi *et al* (2015) hasil uji GC- MS menunjukkan bakteri *B. cereus* mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti 9,19-cyclolanostan-3-ol, acetate, (3.beta.)- (CAS) cycloartanyl acetate, 4-(2',2'-dimethyl-6'-methyliden-1'-cyclohexyliden)-3-methyl-2-butanonedan stigmast-5-en-3-ol, oleat. Cyclolanostan merupakan turunan dari senyawa triterpena (steroid) yang dilaporkan aktif melawan jamur dan serangga. Beberapa senyawa turunan triterpena telah dijadikan sebagai antijamur karena diduga menyebabkan gangguan membran oleh sifat lipofil (Ghosh *et al.* 2013). 4-(2',2'-dimethyl-6'-methyliden-1'-cyclohexyliden)-3-methyl-2-butanone yang kelompok monoterpenoid (flavonoid) yang memliki sifat anti jamur dan stigmast-5-en-3-ol, oleat Senyawa ini digolongkan dalam kelompok fitoaleksin yang juga memiliki sifat antijamur.

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri biasanya memyebabkan perrtumbuhan yang abnormal seperti pembengkakan hifa patogen. Selain itu kitinase yang dihasilkan bakteri *B. cereus* mampu menghidrolisis dinding sel *C. fructicola* yang mengantung kitin, sehingga pertumbuhan jamur patogen terhambat. Aktivita

ISSN: 2301-6515

antijamur dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH lingkungan, besarnya inokulum, aktivitas metabolik bakteri. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri *B. cereus* yang terdapat pada filtrat bersifat fungistatik, dimana mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen tetapi tidak menyebabkan kematian sel jamur patogen.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Perlakuan bakteri *B. cereus* mampu menghambat pertumbuhan *C. fructicola* dengan persentase daya hambat sebesar 90,55% apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada pengamatan 10 HSI.Filtrat *B. cereus* pada konsentrasi 10 – 50% mampu menghambat pertumbuhan *C. fructicola* dengan persentase daya hambat berkisar antara 32,98% sampai 87,56%.

4.2 Saran

Adapun saran yang dapat penulis sampaikan adalah perlu dilakukan peenelitian lebih lanjut untuk menguji kemampuan daya hambat bakteri *B. cereus* sebagai antijamur terhadap pertumbuhan *C. fructicola* KRCR secara *in vivo* pada buah cabai maupun aplikasi langsung di lapangan.

Daftar Pustaka

- Alfijar, Marlina, S. Fitri. 2013. Kemampuan Antagonis *Trichoderma* Sp. terhadap beberapa Jamur Patogen *In Vitro*. J. Floratek, 8: 45 51
- Ghosh, P, A. Mandal, M.D,G, Rasul . 2013. A new bioactive ursane-type triterpenoid from Croton bonplandianum Bail. Journal of chemical sciences,125(2) 359–364
- Muharni & H. Wijayanti. 2011. Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis Terhadap Pertumbuhan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lignosus*) dari Rhizosfer Tanaman Karet. Jurnal Penelitian Sains. 14(1): 51-56
- Sharma G, B. D. Shenoy. 2013. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are Involved in Chilli Anthracnose in India. Phytopathology and Plant Protection 47(10):1179 1194
- Suryadi, Y, I. M. Samudra, T.P. Priyanto, D. N. Susilowati, P. Lestari, & Sutoro. 2015. Aktivitas Anticendawan *Bacillus cereus* 11UJ terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Pyricularia oryzae*. Jurnal Fitopatologi Indonesia, 11(2): 35-42.
- Syukur, M, S. Sujiprihati, J. Koswara, & Widodo. 2007. Pewarisan Ketahanan Cabai (*Capsicum annum* L.) terhadap Antraknosa yang Disebabkan oleh *Colletotrichum acutatum*. Jurnal Agronomi Indonesia. 35(2):11