



**ISOLASI BAKTERI ANTIFUNGI DARI RIZOSFER PISANG  
UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Fusarium oxysporum f.sp cubense* (Foc)**

**Albert Sembiring<sup>1\*</sup>, Natalia Lusianingsih Sumanto<sup>2</sup>**  
<sup>1,2</sup>Program Studi Agribisnis Hortikultura, Politeknik Wilmar Bisnis Indonesia  
Jl. Kapten Batu Sihombing, Deli Serdang, Sumatera Utara  
\*Email korespondensi: [albertsembiring16@gmail.com](mailto:albertsembiring16@gmail.com)

*Diterima: Oktober 2019; Direvisi: Nopember 2019; Disetujui: Desember 2019*

**ABSTRAK**

Penyakit layu fusarium pada pisang dikenal juga dengan penyakit panama (*panama disease*) merupakan salah satu jenis penyakit utama yang hingga saat ini masih menimbulkan kerugian besar bagi petani pisang. Penyakit ini disebabkan oleh cendawan patogen tular tanah (*soilborne*) yaitu *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (Foc) yang pengendaliannya masih sangat sulit dilakukan karena bersifat sebagai saprofit di dalam tanah. Cendawan ini masuk dari akar ke jaringan pembuluh dan menyebabkan daun menguning, dengan demikian patogen ini dapat menyerang akar, batang dan daun. Tujuan penelitian ini adalah mencari isolat bakteri dari tanah rizosfer pisang yang memiliki aktivitas antifungi untuk menghambat pertumbuhan cendawan Foc. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat, yang disebar pada media agar King's B dengan suhu inkubasi 28°C (suhu ruang). Setelah itu dilanjutkan dengan ujiantang 4 kuadran secara *in vitro* pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Uji penghambatan Foc menggunakan 20 isolat bakteri hasil isolasi, yang menunjukkan bahwa terdapat 6 isolat bakteri memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan Foc. Berdasarkan hasil persentase penghambatan terdapat 4 isolat yang memiliki persentase di atas 50% dengan penghambatan tertinggi oleh isolat TR2 sebesar 79.07%. Pengujian penghambatan secara *in vitro* ini menegaskan terdapat isolat bakteri dari tanah rizosfer pisang yang mampu menghambat pertumbuhan Foc dan berpotensi untuk dijadikan agen biokontrol.

**Kata Kunci : *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*, rizosfer, bakteri, antifungi**

**ISOLATION OF ANTIFUNGI BACTERIA FROM BANANA RHIZOSPHERE  
TO INHIBIT *Fusarium oxysporum f.sp cubense* (Foc) GROWTH**

**ABSTRACT**

*Fusarium wilt disease* on banana has been known as panama disease one of the main diseases that cause huge losses for banana farmers. It is caused by the soil-borne fungal pathogen, *Fusarium oxysporum f.sp cubense* (Foc), which is very hard control because it is saprophytic in the soil. The mold infiltrates the root to vascular tissue that induces yellowing on the leaf, so this pathogen can attack the root, stem and leaves. The research aimed to search bacteria from the banana rhizosphere that have an antifungal activity to inhibit Foc growth. Bacteria was isolated by serial dilution then was spread on King's B agar medium incubation 28°C (room temperature). Four quadrants *in vitro* test on PDA medium used twenty bacterial from isolation, as a result was obtained six isolates have the potential to inhibit the growth of Foc. Based on percentage inhibition radial growth four isolates that have inhibition 50% over which TR2 was the highest at 79.07%. The *in vitro* test confirmed that bacteria from the banana rhizosphere have potential as biocontrol agent because it was able to inhibit the Foc growth.

**Keywords: *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*, rhizosphere, bacteria, antifungal**

## Pendahuluan

Budidaya pisang tidak terlepas dari adanya interaksi dengan lingkungan, organisme dan mikroorganisme lain baik yang menguntungkan ataupun merugikan. Salah satu bentuk interaksi merugikan yang sangat mempengaruhi produksi dan kualitas pada pembibitan serta lapangan adalah terjadinya penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* (Foc) (Nasir *et al.*, 2003). Penyakit layu fusarium atau sering dikenal dengan penyakit panama (*Panama disease*) merupakan patogen tular tanah (*soilborne*) yang hidup secara saprofit, meskipun tanpa inang cendawan ini dapat bertahan di tanah hingga lebih dari 30 tahun dengan membentuk klamidospora. Pada kondisi menguntungkan, seperti adanya rangsangan dari jaringan tanaman yang belum terkolonisasi cendawan patogen, spora ini akan berkecambah dan mulai menyerang tanaman (Semangun 2007). Menurut hasil penelitian (Riastiwi 2017) penyakit ini masih menjadi masalah utama dalam produksi pisang karena menyerang semua bagian tanaman (akar, batang dan daun) sehingga begitu banyak varietas yang rentan terhadapnya.

Di Indonesia penyakit ini memberikan kerugian yang besar pada jenis pisang Cavendish di Sumatera, Jawa, dan Halmahera (Ploetz, 2000) menurut (Sukmadjaja *et al.*, 2013) kerugian yang ditimbulkan penyakit ini dapat mencapai 63%. Berdasarkan laporan media daring pada tahun 2017, terjadi kerusakan perkebunan pisang di Kalimantan tengah yang disebabkan oleh layu fusarium, kerusakan mencapai 350 hektar dengan 100 hektar rusak total. Melihat begitu signifikannya nilai ekonomi yang ditimbulkan maka penelitian tentang pengendalian penyakit ini telah banyak dilakukan seperti penggunaan fumigasi dan fungisida untuk sterilisasi tanah (Net *et al.*, 2007) secara fisika dengan rotasi tanaman (Huang *et al.*, 2012) peningkatan daya tahan tanaman dengan pemberian filtrat toksin Fusarium dan asam fusarat (Juminadang *et al.*, 2005); (Sumardiyono *et al.*, 2016) secara biokontrol lewat penggunaan bakteri endofit dan rekayasa daerah genome rizosfer tanaman pisang (Xue *et al.*, 2015); (Ho *et al.*, 2014) Dewasa ini penggunaan agen hayati sebagai pengendali layu fusarium secara biologi

menjadi pusat perhatian mengingat dampak negatif bahan kimia fungisida terhadap kualitas tanah, lingkungan dan kesehatan manusia. Pengendalian fusarium secara biologi memiliki beberapa kelebihan seperti ramah lingkungan, spesifik patogen, memperbaiki kualitas tanah, dan memicu pertumbuhan tanaman.

Pada dasarnya pengendalian secara biologi terjadi secara alami di alam. Hal ini merupakan bentuk salah satu interaksi menguntungkan bagi tanaman, terutama pada daerah rizosfer. Rizosfer merupakan daerah yang paling banyak dihuni oleh mikroorganisme karena daerah ini menghasilkan material yang dapat digunakan bakteri sebagai sumber energinya. Menurut (Weller and Thomas, 2007) pada daerah ini umumnya memiliki jumlah bakteri 10 hingga 100 kali lebih banyak dibandingkan di luar daerah rizosfer.

Penelitian tentang bakteri yang dapat digunakan menjadi agen biokontrol penyakit layu fusarium pada pisang telah dilaporkan, baik dari daerah rizosfer maupun endofit akar seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* B25, *Burkholderia cenocepacia* 869T2 (Ayyadurai *et al.*, 2006); (Ho *et al.*, 2014); (Tan *et al.*, 2013). Kemampuan bakteri dalam menghambat *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* (Foc) terjadi melalui beberapa mekanisme yang mungkin terjadi seperti parasit, antagonis, induksi resistensi, kompetisi nutrisi dan relung (Li *et al.*, 2014); (Chin *et al.*, 2014); (Kamilova *et al.*, 2005); (Van, 2007). Penelitian tentang bakteri rizosfer dari tanaman pisang masih belum banyak dilaporkan di daerah Sumatera Utara. Melihat besarnya potensi sumber daya hayati di Sumatera Utara, menjadi fokus perhatian peneliti, sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri potensial yang mampu menghambat pertumbuhan Foc sebagai alternatif pengendalian hayati secara biologi.

## Bahan dan Metode

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, oven, autoklaf, inkubator, petridish, tabung reaksi, laminar airflow, bunsen, neraca analitik, erlenmeyer. Biakan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp.

*cubense* (Foc), PDA, King's B, tanah rizosfer, NaCl, syringe.

#### Isolasi dan Perbanyak Kandidat Bakteri Penghasil Antifungi

Kandidat bakteri penghasil antifungi diisolasi dari tanah rizosfer dan rizoplan pisang. Pengambilan sampel dilakukan dengan menggali hingga terlihat akar tanaman pisang kira-kira 15 cm. Tanah disekitar perakaran dan rizoplan dimasukkan ke dalam plastik atau botol selai steril secara terpisah dan diberi label untuk masing-masing. Sampel yang telah diperoleh dimasukkan ke dalam *cool box*. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran berseri. Untuk tanah rizosfer dimulai dengan menimbang 1 gr sampel tanah lalu dilarutkan dalam 9 mL buffer posfat. Suspensi tanah pada tingkat pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  diambil sebanyak 100  $\mu$ L lalu disebar pada media agar King's B dan diinkubasi pada suhu 28°C. Sementara itu suspensi rizoplan diperoleh dengan memasukkan 10 gr akar berserta tanah yang melekat ke dalam 100 mL buffer posfat lalu diletakkan pada alat pengaduk selama 10 menit 180 rpm, sebanyak 100  $\mu$ L dari suspensi yang diperoleh disebar pada media King's B. Bakteri yang diperoleh dikultur murni pada media King's B.

#### Uji Kemampuan Antifungal Bakteri Terhadap Foc

Penapisan ini menggunakan metode ujiantang 4 kuadran dengan meletakkan potongan 6mm miselia Foc berumur 48 jam di tengah cawan petri. Setelah itu koloni bakteri berumur 24 jam ditotol dikeempat sisi pada

jarak 3 cm dari miselia Foc. Pengamatan penghambatan dilakukan selama 15 hari pada inkubasi 28°C. Persentase perhitungan penghambatan pertumbuhan radial (PIRG) terhadap Foc mengikuti rumus sebagai berikut:

$$\text{PIRG} = \frac{P1 - P2}{P1} 100\%$$

Keterangan

P1 = Pertumbuhan miselia Foc tanpa penghambatan

P2 = Pertumbuhan miselia Foc dengan penghambatan

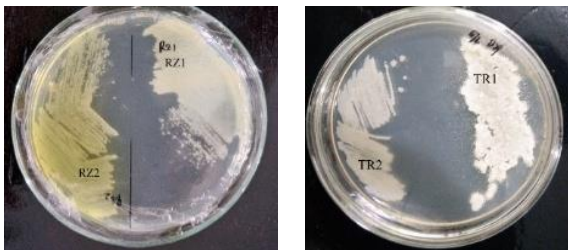
#### Hasil dan Pembahasan

Isolasi yang telah dilakukan menggunakan metode pengenceran berseri dan cawan sebar dengan kondisi inkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C memperoleh hasil 20 isolat bakteri dengan berbagai bentuk, permukaan, tepi dan warna koloni (tabel 1). Hasil isolasi yang diperoleh kemudian dilakukan uji tantang 4 kuadran secara *in vitro* terhadap cendawan Foc. Pengukuran penghambatan dilakukan dengan membandingkan antara pertumbuhan Foc tanpa isolat bakteri dengan perlakuan isolat menggunakan jangka sorong. Hasil yang didapat dari pengamatan penghambatan yang terjadi menunjukkan bahwa terdapat 6 bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan Foc. Akan tetapi berdasarkan nilai persentase pengukuran penghambatan miselia cendawan Foc ada 4 isolat bakteri yang mampu menghambat diatas 50% dengan nilai tertinggi 79.07% oleh isolat TR2 (tabel 2)

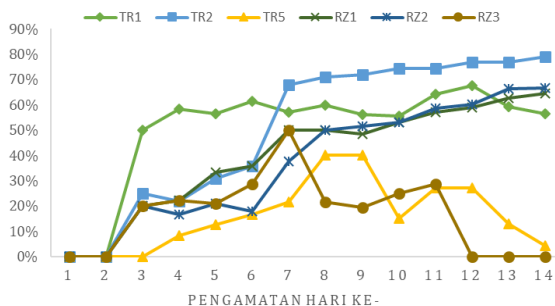
Tabel 1 Morfologi koloni bakteri

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Permukaan Koloni	Tepi Koloni	Warna
TR 1	Berupa akar	Rata	Berombak	Putih
TR 2	Titik titik	Rata	Bergerigi	Putih
TR 3	Tidak Beraturan	Rata	Utuh	Bening
TR 4	Tidak Beraturan	Rata	Berbelah	Krem
TR 5	Tidak Beraturan	Rata	Bergerigi	Krem
TR 6	Titik titik	Rata	Utuh	Krem
RZ 1	Bulat	Timbul rata	Utuh	Kuning
RZ 2	Tidak Beraturan	Rata	Membelah	Kuning
RZ 3	Tidak Beraturan	Rata	Bergerigi	Krem

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Permukaan Koloni	Tepi Koloni	Warna
RZ 4	Tidak Beraturan	Timbul rata	Keriting	Krem
RZ 5	Tidak Beraturan	Melengkung	Utuh	Krem
RZ 6	Tidak Beraturan	Mencembung	Utuh	Krem
RZ 7	Tidak Beraturan	Timbul rata	Bergerigi	Krem
RZ 8	Berbenang	Rata	Utuh	Krem
RZ 9	Bulat	Rata	Utuh	Putih
RZ 10	Tidak Beraturan	Mencembung	Utuh	Krem
RZ 11	Tidak Beraturan	Timbul rata	Bergerigi	Krem
RZ 12	Tidak Beraturan	Timbul rata	Bergerigi	Krem
RZ 13	Tidak Beraturan	Mencembung	Utuh	Krem
RZ 14	Tidak Beraturan	Timbul rata	Utuh	Krem



Gambar 1 Beberapa Isolat Bakteri Hasil Isolasi



Gambar 2 Persentase Harian Penghambatan Foc

Tabel 2 Persentase Penghambatan Tertinggi Terhadap Foc

No	Isolat	PIRG (%)
1	TR1	64.29
2	TR2	79.07
3	TR5	46.88
4	RZ1	64.44
5	RZ2	66.67
6	RZ3	50

Berdasarkan isolasi yang telah dilakukan diperoleh 20 isolat bakteri, langkah awal dalam menganalisis keberagaman bakteri dapat dilihat dari bentuk, ukuran, warna, dan tepi koloni (Bivi *et al.*, 2010). Dari hasil ini menunjukkan bahwa jumlah isolat yang didapat masih tergolong rendah, karena tanah

dari daerah rizosfer seharusnya memiliki komunitas bakteri yang jumlahnya 10-100 kali lebih banyak dibandingkan dengan daerah yang berada diluarnya (Weller and Thomas 2007). Hal ini mungkin terjadi karena berbagai faktor seperti jenis media, bakteri yang bersifat anaerob tidak tumbuh pada kondisi aerob, preparasi sampel dan interaksi sesama mikroorganisme tanah. Uji potensi bakteri dalam menghambat pertumbuhan Foc dihitung berdasarkan persentase penghambatan selama 15 hari. Hal ini dilakukan untuk melihat kemampuan penghambatan terhadap Foc oleh bakteri calon agen hayati. Dari hasil pengukuran persentase penghambatan harian Foc (gambar 2), menunjukkan bahwa terdapat 4 isolat (TR1, TR2, RZ1, RZ2) yang cenderung stabil dalam menekan pertumbuhan Foc hingga akhir pengamatan. Isolat TR2 memiliki sifat antagonis tertinggi sebesar 79.07% pada hari ke 14, berdasarkan hasil pengamatan mekanisme ini terjadi melalui senyawa bioaktif yang dikeluarkan oleh isolat tersebut ke dalam media. Sedangkan untuk TR1, RZ1, RZ2 kemungkinan mekanisme penghambatan terjadi melalui senyawa bioaktif yang dikeluarkan ke media atau juga interaksi langsung. Grafik penghambatan menunjukkan bahwa keempat isolat ini masih menekan pertumbuhan Foc dan cenderung terjadi peningkatan penghambatan sampai akhir pengamatan, ini berarti selama 2 minggu isolat-isolat ini dapat menghambat pertumbuhan Foc dengan stabil. Hal ini mungkin terjadi karena isolat tersebut memproduksi senyawa bioaktif dalam jumlah yang besar dan produksinya masih berlanjut



hingga akhir pengamatan atau mereka memiliki berbagai mekanisme yang berbeda dalam menghambat Foc. Sementara itu isolat RZ3 dan TR5 memiliki penghambatan tertinggi pada hari ke 7 dan 8, sebesar 50% dan 46.88% kemudian mengalami penurunan drastis pada hari ke 12 dan 15 hingga 0% yang memberikan makna bahwa senyawa antibiosis yang dihasilkan telah habis diproduksi seiring dengan pertumbuhan sel yang telah memasuki fase kematian. Mekanisme antagonis yang dilakukan oleh bakteri terhadap jamur patogen dengan mengeluarkan senyawa hasil metabolit sekunder dapat berupa antifungal. Antifungal yang dihasilkan dapat merusak hifa atau miselium sehingga mengalami pertumbuhan yang abnormal baik itu melalui interaksi langsung dengan bakteri ataupun diekskresikan ke dalam media. Bakteri yang mampu menghambat Foc terjadi melalui beberapa mekanisme yang mungkin seperti 1) parasit dengan menghasilkan enzim hidrolase kitinase dan  $\beta$ -1,3 glukonase, 2) antagonis dengan antibiotik atau antifungi, 3) Induksi resisten melalui asam salisilat, lipopolisakarida dan *sidephore* 4) kompetisi nutrisi dan relung (Riastiwi, 2017); (Ploetz, 2000); (Sukmadjaja, 2013). Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh (Ayyadurai et al., 2006) bakteri *P. aeruginosa* yang diisolasi dari daerah rizosfer pisang memiliki kemampuan menghasilkan hormon IAA, melarutkan posfat, memproduksi *sidephore* dan senyawa antibiosis spektrum luas berupa DAPG (2,4-diacetylphloroglucinol) yang memiliki zona bening terhadap Foc 0.16-0.25 cm, sementara itu hasil penelitian (Tan et al., 2013) mendapatkan isolat *B. subtilis* B25 memiliki senyawa antifungal dari golongan protein, (Ho et al., 2014) juga memperoleh bahwa bakteri *B. cenocepacia* 869T2 dapat menghambat pertumbuhan Foc sebesar 44.4% secara *in vitro*. Dengan demikian isolat bakteri yang diperoleh sangat potensial untuk dijadikan agen pengendali hayati.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji *in vitro*, dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat empat bakteri hasil isolasi yang memiliki kemampuan aktivitas antifungi dalam menghambat pertumbuhan Foc di atas 50% dan berpotensi tinggi untuk dijadikan agen biokontrol terhadap cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp

*cubense*. Untuk selanjutnya hal yang mungkin bisa dikaji lebih dalam adalah pengujian jenis-jenis mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh isolat-isolat tersebut serta pengujian hasil ekstraksi senyawa bioaktif yang dihasilkan dalam berbagai pelarut terhadap Foc.

### Ucapan Terima kasih

Ucapan terima kasih kepada DRPM KEMENRISTEKDIKTI yang telah memberikan Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun 2018.

### Daftar Pustaka

- Ayyadurai N, Naik PR, M. Rao MS, Kumar RS, Samrat SK, Manohar NM. Sakthivel. 2006. Isolation and characterization of a novel banana rhizosphere bacterium as fungal antagonist and microbial adjuvant in micropropagation of banana. *J App Microbiol.* 100:926-937.
- Chin-A-Woeng TFC, Bloemberg G V., Mulders IHM, Dekkers LC, Lugtenberg BJJ. 2000. Root Colonization by Phenazine-1-Carboxamide-Producing Bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 Is Essential for Biocontrol of Tomato Foot and Root Rot. *Mol Plant-Microbe Interact.* 13(12):1340-1345.
- Ho YN, Chiang HM, Chao CP, Su CC, Hsu HF, Guo CT, Hsieh JL, Huang CC. 2014. In planta biocontrol of soilborne Fusarium wilt of banana through a plant endophytic bacterium, *Burkholderia cenocepacia* 869T2. *Plant soil.* 387:295-306.
- 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.
- Kamilova F, Validov S, Azarova T, Mulders I, Lugtenberg B. 2005. Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environ. Microbiol.* 7:1809-17.
- Jumidang, Nasir N, Riska, Handayani H. 2005. Teknik Pengujian In Vitro Ketahanan Pisang terhadap Penyakit Layu Fusarium Menggunakan Filtrat Toksin dari Kultur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *J Hort.* 15(2):135-139
- Li S, Jochum CC, Yu F, Zaleta-Rivera K, Du L, Harris SD, Yuen GY. 2008. An antibiotic

- complex from *Lysobacter enzymogenes* strain C3: antimicrobial activity and role in plant disease control. *Phytopathology*. 98:695-701
- Nasir N, Jumjunidang, Eliesti F Mehliya Y. 2003. Penyakit layu Panama pada pisang: Observasi ras 4 *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* di Jawa Barat. *J. Hort.* 13(4):269-275.
- 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.
- Ploetz, RC, and Pegg, KG. 2000. *Fusarium* Wilt. hal: 143-159. in: Diseases of banana, abaca and enset. D.R Jones, CABI Publishing, Wallingford UK.
- Riastiwi I. 2017. Inventarisasi penyakit tanaman pisang koleksi kebun plasma nuftah, cibinong science center-BG. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 1(1):38-44.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sukmadjaja, D., R. Purnamaningsih, Y. Supriati, dan S. Rahayu. 2010. Rekayasa genetik dan mutasi pisang varietas Ambon Kuning untuk memperoleh pisang dengan produktivitas 15 ton/ha dan tahan 60% terhadap penyakit *Fusarium*. Laporan Hasil Penelitian Program Riset Insentif 2010. Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Badan Litbang Pertanian. 21 hlm
- Sumardiyono C, Suharyanto S, Suryanti S, Rositasari P, Chinta YF. 2016. Deteksi pengimbasan ketahanan pisang terhadap penyakit layu fusarium dengan asam fusarat. *J Perlin Tan Indo*. 19(1):40-44.
- Tan, Z, Lin B, Zhang R. 2013. A novel antifungal protein of *Bacillus subtilis* B25. *Springerplus*. 2:543.
- Van Loon LC. 2007. Plant responses to plant growth-promoting bacteria. *Eur. J. Plant Pathol*. 119:243-54.
- Weller DM, and Thomashow LS. 2007. *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms*. Current Challenges in Introducing Beneficial Microorganisms into the Rhizosphere.
- Xue, C, Penton, CR, Shen Z, Zhang R, Huang Q, Li R, Ruan Y, Shen Q. 2015. Manipulating the banana rhizosphere microbiome for biological control of Panama disease. *Sci Rep*. 5:1-11.