

## Eksplorasi Bakteri Antagonis Asal Jaringan dan Rizosfer Tanaman *Celosia argentea* Untuk Menekan Pertumbuhan *Fusarium* sp. Secara *In Vitro*

### *In Vitro Antagonistic Bacteria Exploration From Celosia argentea Plant Tissue And Rizosfer To Suppress The Growth Fusarium sp.*

\*<sup>1</sup>Siti Shofiya Nasution, <sup>2</sup>Alfi Saryanah

<sup>1</sup>Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala  
Jl. Tgk Hasan Krueng Kalee No. 3 Kopelma Darussalam Banda Aceh

<sup>2</sup> Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor

\*<sup>1</sup>e-mail korespondensi: sitishofiyanasution@usk.ac.id

**Abstract.** *Fusarium* sp. is a fungus causing serious disease in many plants. This study aims to explore antagonistic agents which potential to suppress *Fusarium* sp. in vitro. This research was conducted from October to December 2015 at Nematology laboratory, Department of Plant Protection, Bogor Agricultural University. The materials used in this study were *Celosia argentea*, 20% and 100% TSA media, sterile distilled water, 3% sodium hypochlorite (NaOCl). The tools used are laminar air flow, autoclave, shaker, petridish. This candidate antagonist agent was isolated from the endophytic, phyllosphere, rhizosphere, and rhizoplane of *Celosia argentea*. The results of this study showed that the abundance of bacteria in the phyllosphere of *C. argentea* was higher than the rhizosphere, rhizoplane, and endophytes, but the diversity was higher in the rhizoplane. Bacterial isolates RP10 and RP 11 have potential as antagonistic agents against *Fusarium* sp.

**Keywords:** antagonistic, *Celosia argentea*, exploration, *Fusarium*,

**Abstrak.** *Fusarium* sp merupakan salah satu cendawan yang dapat menyebabkan penyakit serius pada banyak tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi agens antagonis yang berpotensi menekan *Fusarium* sp. secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan bulan Oktober sampai Desember 2015 di Laboratorium Nematologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Tanaman *Celosia argentea*, media TSA 20% dan 100%, media TSB, aquades steril, sodium hipoklorit (NaOCl) 3%. Alat yang digunakan yaitu laminar air flow, autoklaf, shaker, cawan petri. Calon agens antagonis ini diisolasi dari bagian endofit, filofosfer, rizosfer dan rizoplan tanaman *Celosia argentea*. Hasil dari penelitian ini didapatkan kelimpahan bakteri pada filofosfer tanaman *C. argentea* lebih tinggi dibandingkan pada rizosfer, rizoplan, dan endofit, namun keragamannya lebih tinggi pada rizoplan. Isolat bakteri RP10 dan RP11 memiliki potensi sebagai agen antagonis terhadap *Fusarium* sp.

**Kata kunci:** antagonis, *Celosia argentea*, eksplorasi, *Fusarium*

### PENDAHULUAN

Tumbuhan Boroko (*Celosia argentea*) merupakan tumbuhan herba tegak yang sering tumbuh liar di pinggir jalan. Daun boroko mengandung zat aktif flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, dan polifenol (Dalimartha 2003). Tanaman ini memiliki manfaat kesehatan karena daunnya mengandung tinggi beta-karoten, vitamin E, asam folat, asam askorbat, kalsium, zat besi, protein, amaranthine, asam oksalat, dan asam fitat (AVRDC 2023). Kandungan bahan kimia pada Tanaman boroko diduga berpotensi sebagai agens antagonis terhadap *Fusarium* sp.

Pengendalian hayati adalah pengurangan jumlah inokulum atau aktivitas terjadinya penyakit oleh patogen dengan menggunakan satu atau beberapa organisme lain selain manusia (Baker & Cook 1996). Aktivitas ini meliputi penghambatan pertumbuhan, kemampuan menginfeksi, keganasan virulensi, dan berbagai aktivitas patogen lainnya. Mekanisme biokontrol dapat terjadi melalui hiperparasitisme atau predasi, antibiosis, produksi enzim litik, dan senyawa-senyawa lain, serta kompetisi.

Agens hayati dapat berasal dari rizosfer, rizoplan, filofosfer, maupun dari dalam jaringan suatu tanaman. Rizosfer merupakan zona tanah yang dipengaruhi akar dan dapat mempunyai populasi organisme yang lebih banyak dibandingkan dengan tanah yang tidak terpengaruh oleh akar (Vancura *et al.* 2000). Rizoplan merupakan permukaan akar dalam tanah, tempat di mana air dan nutrisi diserap dan tempat dilepaskannya bahan-bahan eksudat. Filofosfer merupakan bagian aerial suatu tanaman yang didominasi oleh daun, sedangkan endofit merupakan semua organisme yang hidup di dalam organ tanaman pada beberapa waktu dalam hidupnya dan dapat mengkolonisasi jaringan internal tanaman tanpa merugikan inangnya (Petrini 1991). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri dari rizosfer, rizoplan, filofosfer, dan endofit untuk menekan pertumbuhan *Fusarium* sp secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2015 di Laboratorium Nematologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Tanaman *Celosia argentea*, media TSA (*Tryptic soy agar*) 20% dan 100%, media TSB (*Tryptic soy broth*), aquadest steril, sodium hipoklorit (NaOCl) 3% serta sejumlah bahan pendukung lainnya. Alat yang digunakan yaitu *laminar air flow*, autoklaf, *shaker*, cawan petri, serta sejumlah peralatan pendukung lainnya.

**Isolasi bakteri endofit.** Bagian akar *C. argentea* dipotong dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian bagian akar disterilisasi permukaan menggunakan NaOCl 10%, alcohol 70% dan aquades. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam potongan akar ke dalam NaOCl 3% selama 3 menit, kemudian direndam dalam alcohol selama 1 menit, dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Potongan akar yang sudah disterilisasi dioleskan pada media TSA 20% sebagai control untuk mengetahui keberhasilan sterilisasi permukaan.

Potongan akar yang sudah disterilisasi dihaluskan dengan mortar, dan ditambah dengan aquades steril 10 mL, lalu suspensi jaringan tersebut diencerkan pada konsentrasi  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$ . Sebanyak 0,1 mL suspensi pada masing-masing konsentrasi di sebar pada cawan petri yang telah berisi media TSA 20% dan diratakan. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

**Isolasi bakteri filofser.** Bakteri diisolasi dari bagian daun *C. argentea*. Daun *C. argentea* dimasukkan ke dalam air steril dan di shaker selama 6 jam, kemudian suspensi tersebut diencerkan pada konsentrasi  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$ , kemudian sebanyak 200  $\mu$ L suspensi disebar pada cawan petri yang berisi media TSA. Setelah 48 jam, dilakukan perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA.

**Isolasi bakteri rhizoplan.** Bakteri rhizoplan diisolasi dengan mencampurkan tanah yang melekat pada bagian perakaran ke dalam air steril. Untuk isolasi bakteri, suspensi tersebut diencerkan pada konsentrasi  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ , kemudian sebanyak 200  $\mu$ L suspensi disebar pada cawan petri yang berisi media TSA. Setelah 48 jam, dilakukan perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA.

**Isolasi bakteri rhizosfer.** Bakteri rhizosfer diisolasi dengan mencampurkan tanah yang berada di sekitar perakaran ke dalam air steril. Untuk isolasi bakteri, suspensi tersebut diencerkan pada konsentrasi  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ , kemudian sebanyak 200  $\mu$ L suspensi disebar pada cawan petri yang berisi media TSA.

**Uji Hemolisis Isolat Bakteri.** Uji hemolisis dilakukan untuk mengetahui potensi isolat bakteri sebagai patogen manusia. Pengujian ini dilakukan dengan menumbuhkan koloni bakteri pada media agar darah. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap adanya zona bening.

**Uji Hipersensitif Isolat Bakteri.** Bakteri yang telah diisolasi diuji potensi patogenitasnya dengan melakukan uji hipersensitif pada tanaman tembakau. Biakan murni bakteri endofit yang diperoleh masing-masing dibuat suspensi nya pada aquadest steril dalam botol sebanyak 1 mL, dihomogenkan menggunakan vortex. Diambil 1 mL masing-masing suspensi bakteri dengan *syringe* kemudian disuntikkan pada bagian tulang daun tembakau. Gejala diamati pada daun setelah 24 jam. Apabila tidak terdapat gejala pada bagian daun yang disuntikkan setelah 24 jam maka bakteri itu tidak patogen.

**Uji antagonis bakteri terhadap cendawan patogen *Fusarium* sp.** Uji antagonis bakteri terseleksi dilakukan terhadap cendawan *Fusarium* sp. Biakan cendawan *Fusarium* sp. dipotong dengan menggunakan *cork borer* berukuran 6 mm, kemudian potongan cendawan tersebut ditempatkan pada bagian tengah cawan petri yang sudah berisi media PDA. Isolat bakteri digoreskan pada media tersebut dengan jarak 2.5 cm dari potongan biakan cendawan *Fusarium* sp. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 5 hari. Zona hambat yang terbentuk diukur.

**Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri.** Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate*. Koloni yang tumbuh diamati warna, ukuran, dan bentuknya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Eksplorasi Bakteri Rhizosfer, Rhizoplan, Filofser, dan Endofit

Bakteri yang diisolasi dari bagian rhizosfer, rhizoplan, filofser, dan endofit menunjukkan kelimpahan yang berbeda-beda (Tabel 1). Kelimpahan bakteri tertinggi terdapat pada bagian filofser yaitu sebesar  $25.5 \times 10^7$ , sedangkan bakteri endofit menunjukkan kelimpahan yang paling rendah yaitu sebesar  $5.06 \times 10^5$ . Namun jika dilihat keragamannya berdasarkan morfologi koloni, bakteri rhizoplan memiliki keragaman yang lebih tinggi. Kelimpahan bakteri yang lebih rendah pada bagian perakaran dan rhizosfer dapat disebabkan oleh kondisi tanah yang sangat kering di sekitar perakaran tanaman celosia, sedangkan pada umumnya bakteri lebih banyak terdapat pada daerah dengan kelembaban yang tinggi.

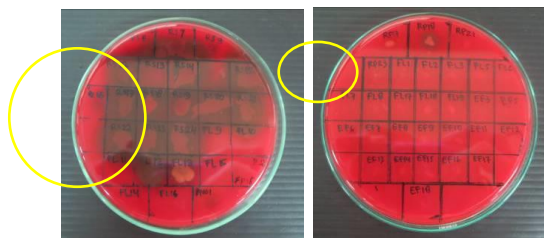
**Tabel 1** Kelimpahan bakteri hasil isolasi dari rhizosfer, rhizoplan, filosfer, dan endofit

No	Bagian Tanaman <i>C. argentea</i>	Jumlah Koloni (cfu/g)
1	Rhizosfer (RS)	$2.02 \times 10^6$
2	Rhizoplan (RP)	$5.85 \times 10^6$
3	Filosfer (FL)	$25.5 \times 10^7$
4	Endofit (EF)	$5.06 \times 10^5$

### Uji Hemolisis.

Uji hemolisis digunakan untuk mengetahui potensi isolat bakteri sebagai patogen manusia. Adanya zona bening di sekitar koloni menandakan bahwa bakteri tersebut tergolong patogen manusia dan hewan (Hall dan Lyman, 2006). Terdapat 18 isolat yang menunjukkan reaksi hemolisis yaitu RP1, RP17, RP18, RP24, RP32, RS12, RS13, RS14, RS15, RS17, RS18, RS20, RS21, RS22, RS23, RS24, FL12, dan FL13 (Gambar 1). Isolat-isolat yang menunjukkan hemolisis pada agar darah tidak digunakan lebih lanjut dalam pengujian. Zona bening di sekeliling koloni pada media agar darah kemungkinan menyertai kemampuannya untuk menghasilkan senyawa yang dapat penetrasi ke dalam membran sel dan menyebabkan sel menjadi lisis.

Hemolisin adalah senyawa yang diketahui dapat melisis sel darah merah, melepaskan hemoglobin. Pada media agar darah, koloni bakteri hemolitik dikelilingi oleh zona bening yang jelas karena sel darah merah telah dilisis dengan sempurna (Pelczar *et al.* 1986). Hemolisin dihasilkan oleh berbagai bakteri yang dapat merusak membran eritrosit melalui mekanisme pembentukan pori, cara kerja seperti deterjen, atau aktivitas lipase (Bi *et al.* 2011)

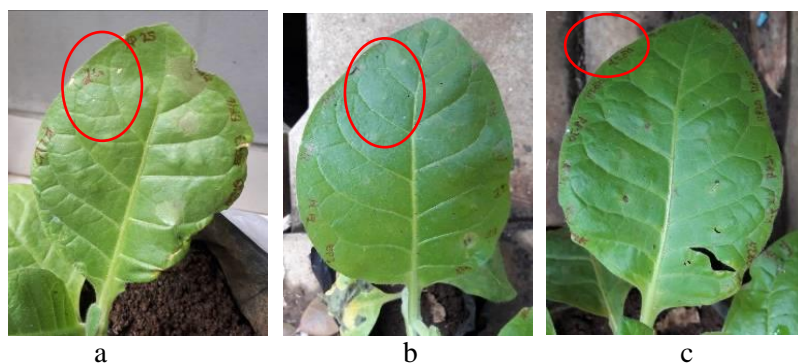


**Gambar 1.** Reaksi hemolisis isolat bakteri rhizosfer, rhizoplan, filosfer, dan endofit, (a) Adanya zona bening disekitar koloni, (b) Tidak adanya zona bening disekitar koloni.

### Uji Hipersensitif.

Berdasarkan uji hipersensitif diketahui bahwa isolat bakteri endofit paling banyak menunjukkan potensi sebagai patogen tanaman (Gambar 2). Dari 13 isolat bakteri endofit yang diinokulasikan pada tanaman tembakau, 11 isolat menunjukkan respon hipersensitif, sedangkan bakteri rhizosfer, rhizoplan, dan filosfer tidak menunjukkan potensinya sebagai patogen tanaman. Bakteri yang menunjukkan potensi sebagai patogen tanaman tidak digunakan lebih lanjut dalam pengujian.

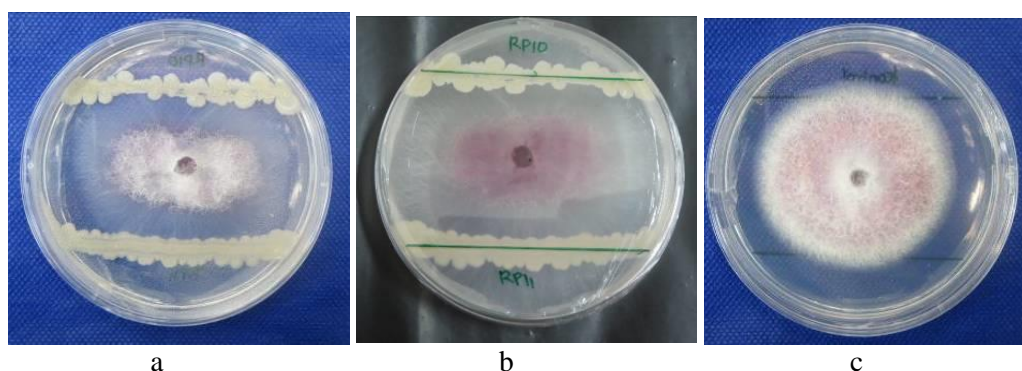
Respon hipersensitif merupakan hasil respon ketahanan yang cepat di daerah yang dipengaruhi dan sel-sel sekitarnya, kemudian secara bertahap melepaskan senyawa toksik yang mematikan sel dan patogen yang menginvasi. Induksi hipersensitif buatan menyebabkan nekrotik dalam 8 sampai 12 jam setelah inokulasi. Respon hipersensitif terjadi ketika strain virulen dari bakteri patogen tanaman yang disuntikkan ke tanaman bukan inang atau kultivar yang tahan (Agrios 2005).



**Gambar 2** Hasil uji hipersensitif pada 24 jam setelah inokulasi (a) Tanaman mengalami nekrotik, (b) Tanaman tidak mengalami nekrotik, (c) Kontrol

### Uji Antagonis Bakteri terhadap *Fusarium* sp.

Bakteri rhizoplan, rhizosfer, filosfer, dan endofit tidak menunjukkan adanya aktivitas antibiosis. Namun terdapat bakteri yang menunjukkan seperti aktivitas lisis yang ditunjukkan dengan menipisnya miselium *Fusarium* sp. (Gambar 3). Isolat RP10 dan RP11 menunjukkan penghambatan tertinggi terhadap *Fusarium* sp., miselium terlihat menjadi menipis dan mati. Bakteri yang memiliki mekanisme antibiosis dapat menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder (Huang *et al.* 2005), senyawa-senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan cendawan atau bakteri yang ditandai dengan adanya zona bening. Sehingga tidak adanya mekanisme antibiosis pada isolat bakteri yang diuji terhadap *Fusarium* dapat disebabkan oleh tidak adanya senyawa metabolit yang dapat menghambat atau mematikan cendawan *Fusarium*.



**Gambar 3.** Uji antagonis isolat RP10 dan RP11 terhadap *Fusarium* sp. tampak depan (a) dan tampak belakang (b), kontrol (c).

### Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri

Bakteri hasil isolasi menunjukkan karakter morfologi yang berbeda-beda. Warna koloni isolat ada yang berwarna kuning, krem, putih, dan merah. Bentuk koloni seluruh isolat circular dengan tepian entire dan undulate. Elevasi koloni bakteri ada yang pulvinate, raised, convex, dan flat. Ukuran koloni bakteri ada yang kecil, moderate, dan punctiform. Tekstur koloni bakteri ada yang kasar dan halus. Isolat yang memiliki potensi sebagai agen antagonis yaitu RP10 dan RP11 Isolat yang berpotensi dalam meningkatkan pertumbuhan akar tanaman padi yaitu RP30 dan meningkatkan tinggi tanaman yaitu RP4.

**Tabel 2.** Karakterisasi morfologi koloni bakteri

Nama Isolat	Karakteristik Morfologi Bakteri				
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Ukuran	Tekstur
RP10	Circular	Entire	Raised	Punctiform	Kasar
RP11	Circular	Entire	Raised	Kecil	Halus
RP30	Circular	Entire	Convex	Kecil	Kasar
RP4	Circular	Entire	Raised	Punctiform	Halus

### KESIMPULAN

Kelimpahan bakteri pada filosfer tanaman *C. argentea* lebih tinggi dibandingkan pada rhizosfer, rhizoplan, dan endofit, namun keragamannya lebih tinggi pada rhizoplan. Isolat bakteri RP10 dan RP11 memiliki potensi sebagai agen antagonis terhadap *Fusarium*.

### DAFTAR PUSTAKA

- [AVRDC] Asian Vegetable Research and Development Center. 2023. **Celosia**, in *Discovering Indigenous Treasures: Promising Indigenous Vegetables from Around the World*. <http://avrdc.org/celosia-celosia-argentea/>. [25 Januari 2023]
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. 5th Ed. Burlington: Elsevier Academic Press.
- Baker KF, Cook JR. 1996. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. Minnesota (US): APS Press.
- Bi S, Zhao Y, Ru S, Liu Y. Studies on hemolysis of hemolysin produced by *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J of Ocean University of China* 10(4): 362-368.
- Dalimartha, S. (2003). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Volume 3*. Niaga Swadaya: Jakarta.
- Hall, KK dan JA Lyman. 2006. Update review of blood culture contamination. *Clin. Microbiol. Rev.* 19: 788–802.

Huang CJ, Wang TK, Chung SC, Chen CY. 2005. Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. *J Biochem Mol Biol* 38(1):82-88.

Pelczar Jr MJ, Chan ECS, Krieg N R. 1986. *Microbiology: An Application Based Approach*, 5th edn. New York (US): McGraw-Hill Book Company.

Petrini O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. Di dalam: Andrews JH, Hirano SS, editor. *Microbial Ecology of Leaves*. New York (US): Springer New York.

Vancura V, Kunc F. 2000. *Soil Microbial Association*. New York (US): Elsevier Science Publishing Company Inc.