



Efektivitas Metabolit Sekunder *Pseudomonad fluorescent* sebagai Antimikroba Patogen *Fusarium oxysporum* secara In Vitro

Effectiveness of *Pseudomonad fluorescent* Secondary Metabolite as Antimicrobial Pathogen *Fusarium oxysporum* in In Vitro

Aisyah Lulu Hariyanto¹, Yenny Wuryandari^{2*}, Penta Suryaminarsih³

¹ UPN "Veteran" Jawa Timur, email: 17025010044@student.upnjatim.ac.id

^{2*} UPN "Veteran" Jawa Timur, email: yennywuryandari@upnjatim.ac.id

³ UPN "Veteran" Jawa Timur, email: penta_s@upnjatim.ac.id

*Penulis korespondensi: yennywuryandari@upnjatim.ac.id

ABSTRAK

Pseudomonad fluorescent isolat Pf-122 dan Pf-142 merupakan agensia hayati yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *Fusarium oxysporum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* Pf-122 dan Pf-142 pada konsentrasi 20%; 30%; 40%; dan 50% sebagai penghambat pertumbuhan jamur patogen *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*. Pengamatan dilakukan dengan membandingkan diameter pertumbuhan jamur patogen pada masing-masing perlakuan terhadap kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-122 dan Pf-142 mampu menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*. Daya hambat tertinggi metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-122 pada konsentrasi 50%, sedangkan terendah pada konsentrasi 30%. Daya hambat paling tinggi metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-142 pada konsentrasi 20%, sedangkan terendah pada konsentrasi 40%. Dengan demikian aplikasi metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-142 pada konsentrasi 20% adalah yang paling efektif.

Kata kunci: *Fusarium oxysporum*, Metabolit sekunder, *Pseudomonad fluorescent*

ABSTRACT

Pseudomonad fluorescent isolates Pf-122 and Pf-142 are biological agents capable of inhibiting the growth of the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. This study aims to determine the potential secondary metabolites of *Pseudomonad fluorescent* Pf-122 and Pf-142 at a concentration of 20%; 30%; 40%; and 50% as an inhibitor of the growth of the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* *in vitro*. Observations were made by comparing the growth diameter of pathogenic fungi in each treatment against the control. The results showed that the secondary metabolites *Pseudomonad fluorescent* isolates Pf-122 and Pf-142 were able to inhibit the growth of the fungus *Fusarium oxysporum* *in vitro*. The highest inhibitory power of the secondary metabolite *Pseudomonad fluorescent* isolate Pf-122 was at a concentration of 50%, while the lowest was at a concentration of 30%. The highest inhibitory power of *Pseudomonad fluorescent* secondary metabolite isolate Pf-142 was at a concentration of 20%, while the lowest was at a concentration of 40%. Thus, the application of secondary metabolite *Pseudomonad fluorescent* isolate Pf-142 at a concentration of 20% was the most effective.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonad fluorescent*, Secondary metabolites

PENDAHULUAN

Fusarium sp. merupakan salah satu jamur patogen yang mempunyai sebaran populasi yang sangat luas dengan jenis yang beragam. Jamur *Fusarium* sp. sangat merugikan karena dapat menginfeksi tumbuhan (Ngittu, 2014). *Fusarium oxysporum* merupakan patogen tanaman terbawa tanah (*soilborne*) yang tersebar di seluruh dunia. Jamur ini menyebabkan penyakit layu dan mempunyai kisaran tanaman inang yang luas (Hartati et al., 2016).

Aisyah Lulu Hariyanto, Yenny Wuryandari, Penta Suryaminarsih: *Efektivitas Metabolit Sekunder Pseudomonad fluorescent sebagai Antimikroba Patogen Fusarium oxysporum secara In Vitro..(Hal. 514 - 518)*

Gejala infeksi *Fusarium oxysporum* menurut (Raharjo, 2017), pada persemaian, tunas layu kemudian mati. Pada tanaman dewasa, pertulangan daun-daun di bagian atas tanaman memucat. Daun-daun di bagian bawah menguning. Lama-kelamaan ujung daun menggulung kearah bawah, kemudian layu hingga mengakibatkan kematian tanaman. Layu dimulai dari bagian bawah tanaman merambat ke atas.

Pengendalian yang biasa digunakan yaitu dengan pestisida kimia namun menimbulkan dampak negatif karena adanya residu yang tertinggal, kemudian penggunaan agensia hayati menjadi pilihan pengendalian penyakit (Nurfitriana, 2013), membuktikan bahwa bakteri agensia hayati *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-122 dan Pf-142 mampu menekan perkembangan penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium* sp. dengan masing-masing persentase penghambatan 37.47% dan 10.03% pada uji *in vivo* tanaman cabai. Alternatif pengendalian lain yang juga ramah lingkungan salah satunya menggunakan metabolit sekunder dari agensia hayati *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-122 dan Pf-142.

Metabolit sekunder adalah hasil metabolisme yang dibentuk pada akhir pertumbuhan berupa sisa-sisa metabolisme, umumnya dibuang karena tidak dibutuhkan untuk kehidupan organisme atau mikroba. Misalnya antibiotika, enzim, hormon, dan toksin. Hasil metabolit sekunder menyebabkan suatu agensia hayati mempunyai tingkat kemempunan yang tinggi atau rendah dalam mengendalikan OPT (Soesanto et al., 2013).

Bakteri antagonis *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-122 dan Pf-142 dilaporkan mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa siderofor pioverdin, pioluteorin, HCN dan fenazin (Fuaidah, 2019). Arseneault dan Fillion (2016) menyatakan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* spp. termasuk antibiotik dan antimikroba, diantaranya 2,4 *diacetylphloroglucinol* (DAPG), hidrogen sianida (HCN), pirol nitrin, pioluteorin dan fenazin.

Penelitian mengenai penggunaan metabolit sekunder berasal dari bakteri *Pseudomonad fluorescent* Pf-122 dan Pf-142 telah diuji sebelumnya terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*. Fuaidah, (2019) membuktikan bahwa metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* Pf-142 dengan konsentrasi 30% memberikan hasil zona hambat terbesar dalam menekan patogen *R. solanacearum* yaitu 3,26 mm pada uji *in vitro*. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* Pf-122 dan Pf-142 yang telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* juga mampu menghambat penyakit layu yang disebabkan oleh jamur patogen *Fusarium oxysporum* dan apakah terdapat perbedaan antara konsentrasi yang sama pada penelitian sebelumnya dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Tanaman Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur pada bulan April-Mei 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, *shaker*, *centrifuge*, *beaker glass*, *cork borer*, jarum ose dan *syringe filter* 0,22 μ m. Bahan yang digunakan antara lain, isolat *Pseudomonad fluorescent*, isolat *Fusarium oxysporum*, media V8, media Kings'B padat, media Kings'B cair, dan aquades.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 2 faktor yaitu jenis metabolit sekunder (Pf-122 dan Pf-142) dan konsentrasi (20%; 30%; 40%; dan 50%). Hasil yang didapatkan dianalisa menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*), Apabila kesimpulan didapat dengan syarat F hitung > F tabel 5% maka, perbedaan rata-rata antar perlakuan diuji menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf nyata 5%.

Mekanisme Produksi Metabolit Sekunder *Pseudomonad fluorescent*

Bakteri *Pseudomonad fluorescent* dibiakkan pada media Kings'B padat. Biakan yang telah berumur 48 jam kemudian dipanen dengan cara menambahkan 10 ml aquades steril pada tabung reaksi yang berisi isolat *Pseudomonas fluorescent* kemudian bakteri dikerok dan diinokulasikan ke dalam media Kings'B cair sebanyak 240 ml. Media Kings'B cair yang telah berisi bakteri *Pseudomonad fluorescent* dipastikan kepadatan bakterinya hingga 10¹⁰ CFU/ml dan dilakukan penggojokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 72 jam (3 hari). Media

Kings'B berisi bakteri dipindahkan ke dalam *tube centrifuge* kemudian disentrifus dengan kecepatan 3800 rpm selama 20 menit. Melakukan pemisahan filtrate (pellet) dan supernatan dari dalam *tube*. Senyawa aktif dari metabolit sekunder diambil dari supernatant bakteri disaring dengan syringe filter 0,22µm (Elita A et al., 2013)

Uji Metabolit Sekunder *Pseudomonad fluorescent In Vitro*

Metabolit sekunder yang telah diambil dari supernatant bakteri *Pseudomonad fluorescent* masing-masing perlakuan diaplikasikan dengan jamur patogen *Fusarium oxysporum* menggunakan metode kultur filtrat yang dimodifikasi. Metabolit sekunder masing-masing isolat dimasukkan ke dalam media V8 yang masih cair (suhu 45-50°C) sebanyak 20% (2ml metabolit sekunder dituang ke dalam 10ml media V8); 30% (3ml metabolit sekunder dituang ke dalam 10ml media V8); 40% (4ml metabolit sekunder dituang ke dalam 10ml media V8); 50% (5ml metabolit sekunder dituang ke dalam 10ml media V8). Media yang sudah padat kemudian diinokulasikan Jamur *F. oxysporum* dengan memotong biakan murni jamur berumur 7 hari menggunakan bor gabus dengan diameter 5 mm. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dan selanjutnya dilakukan pengamatan diameter pertumbuhan jamur *F. oxysporum* setiap interval 24 jam selama 7 hari (168 jam).

Metode Pengamatan

Pengamatan uji antagonis metabolit sekunder bakteri *Pseudomonad fluorescent* dilakukan dengan cara melihat dan mengukur diameter pertumbuhan jamur *F. oxysporum* yang terjadi pada setiap perlakuan dan ulangan. Pengamatan dilakukan sebanyak 7 kali, yaitu pada 24 jam; 48 jam; 72 jam; 96 jam; 120 jam; 144 jam; dan 168 jam dengan rumus: (Shentu *et al.*, 2014)

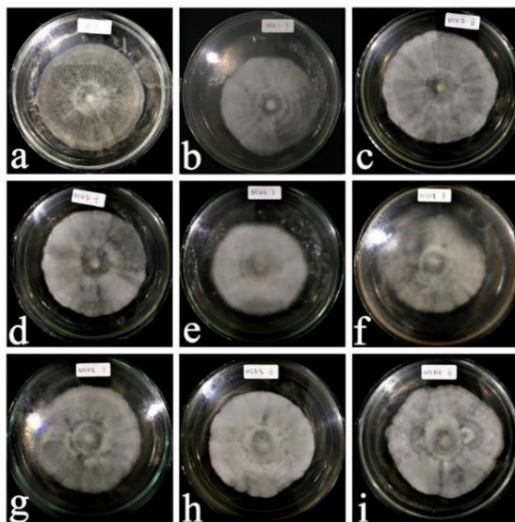
$$P(\%) = \frac{DK - DP}{DK} \times 100\%$$

Keterangan:

P (%) = Persentase penghambatan pertumbuhan jamur patogen
DK = Diameter pertumbuhan jamur pada perlakuan kontrol
DP = Diameter pertumbuhan jamur pada perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji daya hambat metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* terhadap jamur patogen *F. oxysporum* memiliki pengaruh yang nyata terhadap kontrol maupun antar perlakuan.



Gambar 1. Daya hambat metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* terhadap *F. oxysporum* secara *in vitro* a) tanpa metabolit sekunder b) Pf-122 20% c) Pf-122 30% d) Pf-122 40% e) Pf-122 50% f) Pf-142 20% g) Pf-142 30% h) Pf-142 40% i) Pf-142 50%.

Hasil *in vitro* metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* Pf-122 dan Pf-142 pada berbagai konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *F. oxysporum*. Metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* yang memiliki penghambatan lebih besar pada hari ke-7 pengamatan

Aisyah Lulu Hariyanto, Yenny Wuryandari, Penta Suryaminarsih: Efektivitas Metabolit Sekunder *Pseudomonad fluorescent* sebagai Antimikroba Patogen *Fusarium oxysporum* secara *In Vitro*..(Hal. 514 - 518)

adalah isolat Pf-142 konsentrasi 20% yaitu sebesar 13% yang selanjutnya diikuti oleh konsentrasi 30% pada isolat Pf-142 dan konsentrasi 50% pada isolat Pf-122 keduanya memiliki penghambatan sebesar 11%.

Tabel 1. Hasil uji daya hambat metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* terhadap jamur patogen *Fusarium oxysporum*

Isolat Metabolit Sekunder	Konsentrasi	Daya Hambat Koloni <i>Fusarium oxysporum</i> (%)
Kontrol	0%	0.00a
	20%	2.63bcd
	30%	2.01b
Pf-122	40%	3.15bcd
	50%	3.37cd
	20%	3.68d
	30%	3.40cd
Pf-142	40%	2.24bc
	50%	2.52bcd

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang tidak sama berbeda nyata pada taraf uji DMRT 5%.

Isolat Pf-142 memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan isolat Pf-122. Penghambatan pertumbuhan yang terjadi pada patogen *F. oxysporum* diduga karena mekanisme antibiosis senyawa metabolit sekunder dari bakteri agensia hayati *Pseudomonad fluorescent* yang terkandung pada media pembiakan. Antibiosis merupakan mekanisme yang terjadi pada bakteri antagonis akibat senyawa antibiotik yang dihasilkannya, sehingga mampu memblokir zona tumbuh jamur patogen (Sriyanti et al., 2015). Malinda et al., (2015) menambahkan bahwa bakteri yang memiliki kemampuan antibiosis biasanya memiliki senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan morfologis maupun fisiologis jamur patogen. Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri mampu menekan sintesis protein pada patogen. Apabila sintesis protein terganggu menyebabkan patogen kekurangan protein tertentu sehingga menyebabkan pertumbuhannya terganggu. Arseneault dan Fillion (2016) menyatakan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* spp. termasuk antibiotik dan antimikroba, diantaranya 2,4 *diacetylphloroglucinol* (DAPG), hidrogen sianida (HCN), pirol nitrin, pioluteorin dan fenazin.

Siderofor, dan antibiotik lainnya yang dapat menghambat perkembangan patogen (Jatnika et al., 2014). Pioluteorin merupakan jenis antibiotik yang mampu menekan jamur patogen (Munif et al., 2014). Fenazin adalah molekul aktif redoks yang menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap banyak patogen jamur dan bakteri (Biessy & Fillion, 2018). Senyawa HCN yang dikenal sebagai senyawa antifungal yang biasa dihasilkan bakteri (Ainun, 2018)..

Isolat Pf-142 pada konsentrasi 20% lebih mampu menghambat pertumbuhan jamur *F. oxysporum*, sedangkan isolat Pf-122 lebih mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen pada konsentrasi 50%. Hal ini terjadi diduga karena senyawa yang terkandung dalam metabolit sekunder isolat Pf-142 lebih besar daripada isolat Pf-122. Fuaidah (2019), menunjukkan jenis senyawa yang terkandung pada metabolit sekunder Pf-122 dan Pf-142 diantaranya siderofor pioverdin, pioluteorin, HCN, dan fenazin dengan konsentrasi yang berbeda. Metabolit sekunder Pf-122 memiliki senyawa HCN lebih besar dari Pf-142 yaitu 1.32 mg/l untuk Pf-142 0.61 mg/l. Adapun untuk senyawa lain yaitu siderofor pioverdin, pioluteorin, dan fenazin pada Pf-122 memiliki konsentrasi lebih rendah dari Pf-142.

KESIMPULAN

Metabolit sekunder *Pseudomonad fluorescent* isolat Pf-122 dan Pf-142 mampu menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*. Metabolit sekunder Pf-142 konsentrasi 20% memiliki daya hambat paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainun, K. (2018). Aktivitas Bakteri Endofit Asal Tanaman Padi dalam Mendegradasi Kitin, Melarutkan Fosfat, dan Menghasilkan Asam Sianida (HCN). <http://repository.unpad.ac.id/frontdoor/index/index/docId/15598>
- Arseneault, T., & Fillion, M. (2016). Phenazine-producing pseudomonas spp. as biocontrol agents of plant pathogens. In *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity: Vol. 2: Functional Applications* (pp. 53–68). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4_4
- Biessy, A., & Fillion, M. (2018). Phenazines in plant-beneficial *Pseudomonas* spp.: biosynthesis, regulation, function and genomics. *Environmental Microbiology*, 20(11), 3905–3917.
- Elita A, Saryono S, & Christine J. (2013). Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba Dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. DARI UMBI TANAMAN DAHLIA (*Dahlia variabilis*). *Che.Acta*, 3(2)
- Fuaidah, T. (2019). Potensi Metabolit Sekunder Agensia Hayati Bakteri *Pseudomonad fluorescent* Isolat Pf-122 dan Pf-142 dalam Menghambat Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum*.
- Hartati, S. S., Rustiani, U. S., Puspasari, L. T., & Kurniawan, W. (2016). Kompatibilitas Vegetatif *Fusarium oxysporum* dari Beberapa Tanaman Inang. *Agrikultura*, 27(3).
- Jatnika, W., Abadi, A. L., & Aini, L. Q. (2014). Pengaruh aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap perkembangan penyakit bulai yang disebabkan oleh jamur patogen *Peronosclerospora maydis* pada tanaman jagung. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan*, 1(4), pp-19.
- Malinda, N., Soekarno, B. P. W., & Yuliani, T. S. (2015). Penghambatan *Fusarium oxysporum* oleh kultur filtrat bakteri endofit dari tanaman kedelai secara *in vitro*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(6), 196.
- Munif, A., Pandu Pradana, A., PW Soekarno, B., & N Herliyana, N. (2014). Isolasi dan uji potensi konsorsium bakteri endofit asal tanaman kehutanan sebagai agen biokontrol dan pemacu pertumbuhan tanaman tomat
- Ngittu, Y. S. (2014). Identifikasi genus jamur *Fusarium* yang menginfeksi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) di Danau Tondano. *PHARMACON*, 3(3).
- Nurfitriana, I. (2013). Pengujian Isolat Agensia Hayati *Pseudomonad fluorescent* Terhadap Penekanan Perkembangan Laju Infeksi Penyakit Layu *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium* sp. Pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum* L.).
- Raharjo, A. A. (2017). Hama dan Penyakit Tanaman. In Depok: PT. Trubus Swadaya.
- Shentu, X., Zhan, X., Ma, Z., Yu, X., & Zhang, C. (2014). Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus *Trichoderma brevicompactum* from garlic. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(1), 248–254.
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Rahayuniati, R. F. (2013). Aplikasi formula cair *pseudomonas fluorescens* P60 untuk menekan penyakit Virus cabai merah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 9(6), 179.
- Sriyanti, N. L. G., Suprpta, D. N., & Suada, I. K. (2015). Uji keefektifan rizobakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum* spp. penyebab Antraknosa pada cabai merah (*Capsicum annum* L.). *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 4(1), 53–65.