



BAB 2

IDENTIFIKASI DAN SELEKSI KARAKTER BIOKONTROL ISOLAT BAKTERI DARI RIZOSFER TANAMAN KEDELAI

Pendahuluan

Galur *Pseudomonas* tertentu merupakan komponen biologi pada tanah pertanian yang mampu menekan penyakit yang disebabkan oleh cendawan patogen pada tanaman budidaya. Galur *Pseudomonas* tertentu yang mampu menekan penyakit adalah galur *Pseudomonas* yang mempunyai sifat-sifat biokontrol. Karakter biokontrol galur *Pseudomonas* terhadap patogen tanaman dan mikroba *deleterious* ditunjukkan dengan menghasilkan antibiotik seperti coluteorin, pirolnitrin, *phenazine 1-carboxylic acid* (PCA) dan 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) (Jayaswal *et al.* 1993; Raaijmakers *et al.* 1997; Angulló 2001), senyawa alelokimia termasuk di dalamnya adalah siderofor dan pengkelat besi (Alvarez *et al.* 1994), enzim-enzim seperti kitinase dan glukukanase (Cattelan *et al.* 1999; Saad 2006) yang bersifat litik terhadap dinding sel cendawan patogen dan hidrogen sianida (Haas & Keel 2003).

Pada kondisi besi terbatas, bakteri biokontrol menghasilkan senyawa berberat molekul rendah yang disebut siderofor untuk berkompetisi mendapatkan ion feri. Meskipun berbagai siderofor bakteri biokontrol berbeda dalam kemampuannya untuk mengambil besi, secara umum, siderofor bakteri menghabiskan besi bagi cendawan patogen karena siderofor bakteri mempunyai afinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan siderofor cendawan (O'Sullivan & Gara 1992; Loper & Henkels 1999). Pada kondisi tidak kekurangan besi, siderofor dapat berperan dalam induksi resistensi sistemik bagi tanaman (Ramamoorthy *et al.* 2001).

Beberapa mikrob menghasilkan enzim yang dapat menghidrolisis dinding sel cendawan. Kemampuan menghasilkan kitinase ekstraseluler penting bagi *Sclerotinia marcescens* dalam bertindak sebagai antagonis terhadap *Sclerotium rolfsii* (Ordentlich *et al.* 1988). Kitinase dan laminarinase ekstraseluler yang disintesis oleh *Pseudomonas stutzeri* mampu melisiskan miselia *Fusarium solani* (Lim *et al.* 1991). Hidrogen sianida adalah suatu inhibitor potensial terhadap



sitokrom c oksidase dan beberapa metaloenzim yang lainnya, oleh karenanya patogen menderita karena efek merusak dari hidrogen sianida tersebut (Blumer & Haas 2000).

Aktivitas biokontrol juga dapat ditunjukkan melalui kompetisi nutrisi dan mikrohabitat antara bakteri biokontrol dan fitopatogen. Dengan kemampuannya berkompetisi dapat meningkatkan secara nyata kesehatan dan pertumbuhan tanaman yang dibuktikan dengan meningkatnya munculnya tunas, vigor dan produksi tanaman. Detoksifikasi dan degradasi faktor-faktor virulen dan induksi resistensi sistemik adalah mekanisme aksi tidak langsung bakteri biokontrol (Persego-Cartieaux 2003; Compant *et al.* 2005).

Tantangan untuk mengembangkan bakteri sebagai agen hayati untuk aplikasi komersial sebagai inokulan biokontrol mengharuskan adanya prosedur seleksi dan penapisan yang efektif, sehingga kandidat mikrob yang menjanjikan dapat ditemukan dan dikelola kemampuan lebih lanjut. Strategi efektif untuk menyeksi dan menapis awal sangat diperlukan, seperti pertimbangan spesifikasi tanaman inang, adaptasi terhadap kondisi tanah tertentu, kemampuan melawan patogen di tempat di mana mikrob tersebut diisolasi dan bagaimana bioasai untuk seleksi dan penapisan tersebut dilakukan (Nelson 2004).

Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi isolat-isolat *Pseudomonas* sp. dari rizosfer tanaman kedelai.
2. Menapis isolat-isolat *Pseudomonas* sp. dari rizosfer tanaman kedelai yang mempunyai karakter biokontrol terhadap cendawan patogen tular tanah *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* dan *Rhizoctonia solani*.

Bahan dan Metode

Identifikasi isolat bakteri. Bakteri diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai di kawasan penanaman kedelai di Cirebon, Jawa Barat. Sebanyak 81 isolat yang telah diisolasi digunakan dalam penelitian ini. Identifikasi morfologi dan fisiologi untuk genus *Pseudomonas* menurut *Bergey's Manual of Determinative*

Bacteriology adalah Gram negatif, bentuk batang, motil, aerobik, katalase positif, oksidase positif (Holt *et al.* 1994). Microgen™ (GNA dan GNB) yang berisi 24 substrat biokimia standar (Microgen Bioproducts Ltd, *United Kingdom*) digunakan untuk melengkapi uji fisiologis isolat-isolat yang mempunyai karakter biokontrol. Permutasi substrat yang dimetabolisme, selanjutnya diinterpretasikan menggunakan *software Microgen Identification System* untuk mengidentifikasi bakteri yang diuji.

Antagonisme terhadap cendawan patogen. Antagonisme bakteri terhadap cendawan patogen tular tanah *S. rolfisii*, *F. oxysporum* dan *R. solani* dilakukan dengan menggunakan metode kultur ganda dalam medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA). Potongan agar berbentuk bulat (diameter 4 mm) yang diambil dari kultur cendawan yang sedang aktif tumbuh, diletakkan di tengah-tengah cawan Petri. Selanjutnya, bakteri uji digoreskan pada salah satu sisinya berjarak 3 cm dari titik tengah cawan Petri (Anjaiah *et al.* 1998). Adanya penghambatan pertumbuhan diamati selama 3 hari untuk *S. rolfisii*, 5 hari untuk *F. oxysporum* dan 2 hari untuk *R. solani*. Isolat yang bersifat antagonis akan menunjukkan penghambatan pertumbuhan konsentris cendawan yang ada di cawan Petri. Besarnya persentase penghambatan pertumbuhan radial cendawan oleh bakteri dihitung menggunakan rumus $1-(a/b) \times 100\%$, a menunjukkan jarak antara titik pusat cendawan ke arah isolat bakteri, b menunjukkan jarak antara titik pusat cendawan ke sisi yang berlawanan tanpa bakteri (Dikin *et al.* 2006).

Produksi siderofor. Produksi siderofor oleh isolat-isolat dideteksi dengan menggunakan media agar-agar *Chrome Azurol S* (CAS) (Alexander & Zuberer 1991). Larutan 1 (larutan indikator Fe-CAS) mengandung 10 ml (1mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ di dalam 10 mM HCL), 50 ml larutan CAS (1.21 mg ml⁻¹), dan 40 ml larutan *hexadecyl-trimethylammonium bromide* (HDTMA) (1.82 mg ml⁻¹). Larutan 2 merupakan larutan bufer, disiapkan dengan melarutkan 30.24 g *peperazine-N'-bis[2-ethanesulfonic acid]* (PIPES) ke dalam 750 ml larutan garam (3 g H_2PO_4 , 5 g NaCl, 10 g NH_4Cl , 20 mM $MgSO_4$, 1 mM $CaCl_2$). Akuades ditambahkan untuk mencapai volume larutan 800 ml sebelum diukur pH-nya



hingga 6.8 dengan 50% KOH, kemudian 20 g agar-agar *bacto* ditambahkan sebelum disterilisasikan. Larutan 3 mengandung 2 g glukosa, 2 g manitol dan mikro elemen (493 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 11 mg $CaCl_2$, 1.17 mg $MnSO_4 \cdot H_2O$, 1.4 mg H_3BO_3 , 0.04 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 1.2 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ dan 1.0 mg $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$) di dalam 70 ml akuades. Larutan 4 berupa 30 ml 10% (w/v) *casamino acid* yang disterilkan dengan membran *milipore* (0.20 μm). Media ini dibuat dengan mencampurkan larutan 2 dan 4 pada suhu 50°C setelah sterilisasi, kemudian ditambahkan larutan 3 dan larutan 1 secara perlahan-lahan dan dilakukan homogenisasi dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Isolat yang telah diremehkan terlebih dahulu, diuji dengan cara ditotol atau digores pada media agar-agar CAS dengan dua ulangan. Isolat yang menghasilkan siderofor akan membentuk zona berwarna oranye di sekitar koloni setelah diinkubasi semalam.

Produksi kitinase. Produksi kitinase ditentukan berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Cattelan *et al.* (1999). Medium sintetik terdiri dari ($g L^{-1}$): koloid kitin dari cangkang kepiting (Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi [PPSHB] IPB) 0.8; NH_4NO_3 0.78; K_2HPO_4 0.20; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.20; $CaCl_2$ 0.06; NaCl 0.10; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.002; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.00024; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.00004; $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.010; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.003; $Na_2FeEDTA$ 0.028; H_3BO_3 0.005 dan agar-agar 15. Magnesium sulfat dan $CaCl_2$ disterilkan secara terpisah dan ditambahkan ke medium. Biotin ($5\mu g L^{-1}$) dan *p-aminobenzoic acid* ($10\mu g L^{-1}$) disterilkan menggunakan membran *milipore* (0.20 μm) dan ditambahkan ke dalam medium. Zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni menunjukkan adanya pelarutan kitin oleh bakteri penghasil kitinase.

Produksi HCN dengan alkali pikrat. Produksi hidrogen sianida dapat diketahui dengan menggunakan indikator alkali pikrat (Alvarez *et al.* 1994; Angulló 2001; Ramon *et al.* 2003). Produksi sianida oleh isolat *Pseudomonas* dapat dideteksi dengan menginokulasikannya dalam medium agar miring King'B yang ditambahkan 4.4 g/L glisin. Kultur bakteri yang berumur 24 jam dipindahkan ke masing-masing tabung reaksi dan diberikan sepotong kertas saring Whatman No.1 yang telah dicelupkan ke dalam larutan 0.5% asam pikrat dan 2% sodium

karbonat (Na_2CO_3), dibagikan dalam tabung reaksi. Kultur bakteri di dalam tabung reaksi diinkubasi pada suhu 28°C selama 3 sampai 5 hari. Pengujian dilakukan dalam dua ulangan. Perubahan warna dari warna kuning menjadi oranye kecoklatan pada kertas saring menunjukkan adanya produksi sianida.

Hasil

Identitas isolat-isolat dari rizosfer tanaman kedelai

Identitas total 81 isolat dari rizosfer tanaman kedelai adalah genus *Pseudomonas* berdasarkan karakter morfologi dan fisiologis menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition* (Holt *et al.* 1994). Berdasarkan markanya isolat-isolat tersebut termasuk dalam Kategori I: Gram negatif yang mempunyai dinding sel; Group 4: Gram negatif aerobik/mikroaerofilik batang dan bulat; Sub Group 4A: Aerobik; Genus *Pseudomonas*: Gram negatif, bentuk batang, motil, aerobik, katalase positif, oksidase positif. Oleh karenanya, semua isolat tersebut termasuk dalam genus *Pseudomonas*. Selanjutnya, semua isolat diberi nama sebagai *Pseudomonas* sp. CRB, sesuai dengan nama tempat asal isolat yaitu Cirebon (CRB) dan nomer isolatnya. Sifat morfologi Gram negatif, bentuk batang dari 11 isolat dapat dilihat pada Gambar 1.

Identifikasi lebih lanjut berdasarkan sifat fisiologis menggunakan *kit* MicrogenTM GNA dan GNB dilakukan untuk 11 isolat yang mempunyai karakter biokontrol. Sebelas isolat tersebut adalah *Pseudomonas* sp. CRB-3, CRB-16, CRB-17, CRB-31, CRB-44, CRB-75, CRB-80, CRB-86, CRB-102, CRB-109 dan CRB-112. Identifikasi menggunakan *kit* MicrogenTM GNA dan GNB didasarkan atas substrat biokimia yang dimetabolisme oleh masing-masing isolat. Hasilnya menunjukkan identitas *Pseudomonas* dari beberapa spesies, di antaranya 8 isolat adalah *Pseudomonas pseudomallei*, 2 isolat adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan 1 isolat adalah *Pseudomonas stutzeri* dengan kemiripan antara 45.53-99.99% (tabel 1).



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

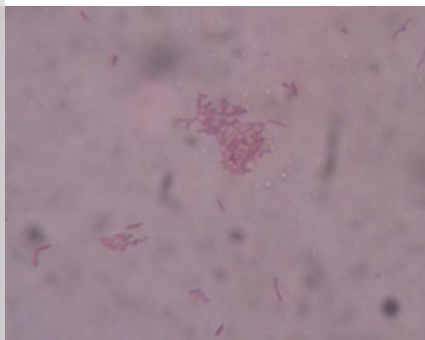
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



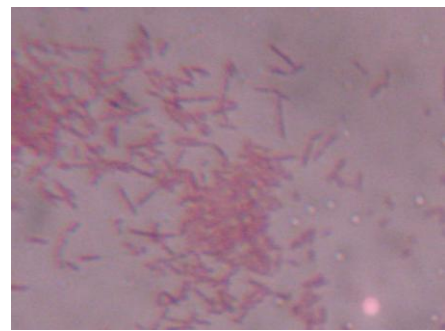
CRB-3



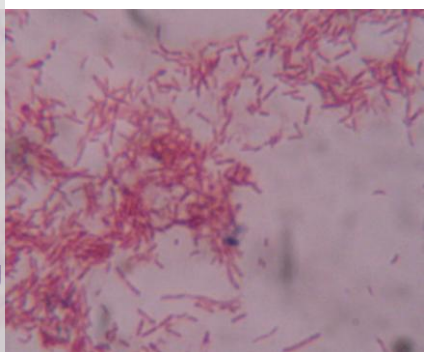
CRB-31



CRB-16



CRB-44



CRB-17



CRB-75

Gambar 1 Morfologi bakteri bentuk batang, Gram negatif dari 11 isolat antagonis *Pseudomonas* sp. CRB yang ditunjukkan dengan pewarnaan Gram. Skala \perp 10 μ m

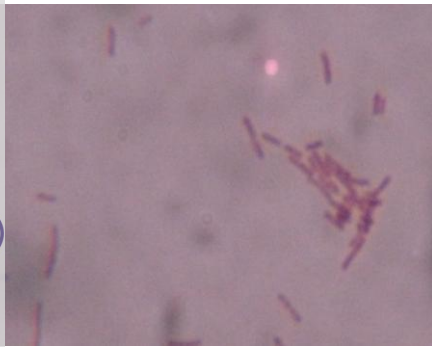


© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

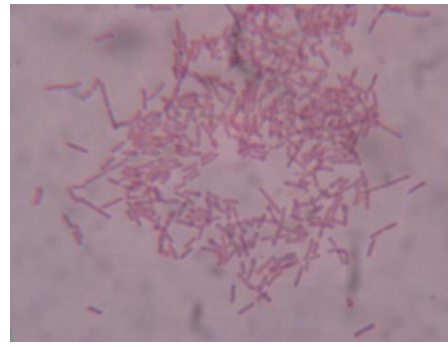
Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

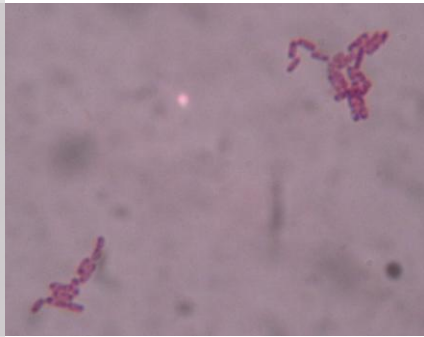
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



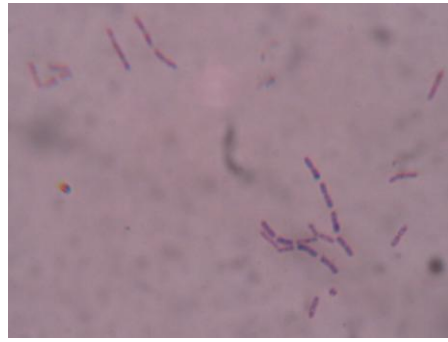
CRB-80



CRB-109



CRB-86



CRB-112



CRB-102

Gambar 1 (lanjutan) Morfologi bakteri bentuk batang, Gram negatif dari 11 isolat antagonis *Pseudomonas* sp. CRB yang ditunjukkan dengan pewarnaan Gram. Skala \perp 10 μ m

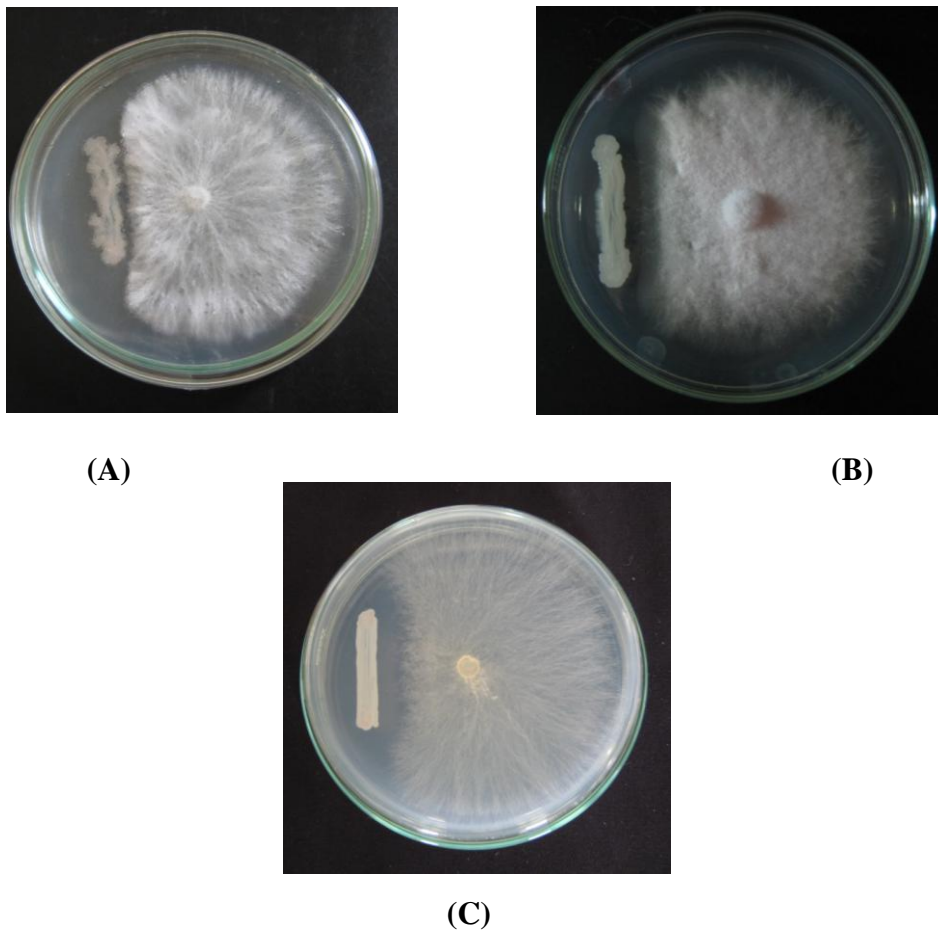
Tabel 1 Identifikasi *Pseudomonas* sp. CRB yang mempunyai karakter biokontrol menggunakan kit fisiologis Microgen™. Kit Microgen™ terdiri dari 24 sumur (GNA dan GNB) yang berisi substrat biokimia standar.

Nama Isolat	Sumur GNA												Sumur GN B												Identifikasi			
	oksidase	motilitas	nitrat	lisin	ornitin	H ₂ S	glukosa	manitol	xilosa	ONPG	indol	urease	V.P.	sitrat	TDA	gelatin	malonat	inositol	sorbitol	rhamnosa	sukrosa	laktosa	arabinosa	adonitol		rafinosa	salisin	arginin
CRB 3	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.99%
CRB 16	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 48.89%
CRB 17	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.95%
CRB 31	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.62%
CRB 44	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 45.53%
CRB 75	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.96%
CRB 80	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.99%
CRB 86	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.99%
CRB 102	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 90.91%
CRB 109	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas stutzeri</i> 72.52%
CRB 112	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 99.99%

Catatan: *Pseudomonas pseudomallei* = *Pseudomonas cepacia*

Antagonisme *Pseudomonas* sp. CRB terhadap cendawan patogen tular tanah

Sebelas isolat dari 81 isolat *Pseudomonas* sp. CRB yang diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai telah diseleksi mempunyai sifat-sifat yang dapat berperan sebagai agen biokontrol. Sifat-sifat biokontrol yang dipunyai di antaranya adalah menunjukkan penghambatan pertumbuhan radial cendawan patogen tular tanah *S. rolfsii*, *F. oxysporum* atau *R. solani* pada media PDA di cawan Petri (Gambar 2). Sebelas *Pseudomonas* sp. CRB menunjukkan penghambatan pertumbuhan radial terhadap cendawan patogen berkisar antara 11-60%, menghasilkan senyawa anticendawan lainnya seperti siderofor, enzim chitinase dan hidrogen sianida (Tabel 2).



Gambar 2 Antagonis *in vitro* *Pseudomonas* sp. CRB-80 terhadap *Sclerotium rolfsii* (A), *Pseudomonas* sp. CRB-86 terhadap *Fusarium oxysporum* (B) dan *Pseudomonas* sp. CRB-102 terhadap *Rhizoctonia solani* (C).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Tabel 2 Karakter biokontrol *Pseudomonas* sp. CRB yang diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai.

Isolat	PIRG ^a			produksi siderofor	produksi kitinase	sianogen
	<i>S. rolfsii</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>R. solani</i>			
CRB-3	-	-	56.7	+	+	+
CRB-6	-	24.6	-	+	-	-
CRB-7	-	14.3	-	+	-	-
CRB-11	-	18.7	50.0	+	-	+
CRB-14	-	39.2	-	+	-	-
CRB-15	-	11.1	37.7	-	-	+
CRB-80	20.0	-	52.3	+	+	-
CRB-86	-	30.3	36.9	-	-	-
CRB-102	25.0	-	60.0	-	-	-
CRB-109	-	-	36.9	-	-	-
CRB-112	-	-	48.1	+	-	+

^a PIRG *percentage of inhibition radial growth* (persentase penghambatan pertumbuhan radial cendawan patogen oleh isolat bakteri)

+ : menghasilkan senyawa anticendawan dan karakter biokontrol lain

- : tidak menghasilkan senyawa anticendawan dan karakter biokontrol lain

Beberapa *Pseudomonas* sp. CRB yaitu CRB-31, CRB-80, CRB-86, CRB-102 menunjukkan penghambatan terhadap 2 jenis cendawan patogen. Dari sebelas *Pseudomonas* sp. CRB, 7 isolat menghasilkan siderofor, 2 isolat menghasilkan kitinase dan 4 isolat menghasilkan hidrogen sianida. Masing-masing isolat menunjukkan beberapa sifat biokontrol yang khusus. *Pseudomonas* sp. CRB-3 mempunyai penghambatan terhadap *R. solani*, menghasilkan siderofor, kitinase dan hidrogen sianida. *Pseudomonas* sp. CRB-80 menunjukkan penghambatan terhadap *S. rolfsii*, *R. solani*, menghasilkan siderofor dan kitinase. *Pseudomonas* sp. CRB-102 hanya menunjukkan penghambatan terhadap *S. rolfsii* dan *R. solani*. Sementara, *Pseudomonas* sp. CRB-112 menunjukkan penghambatan terhadap *R. solani*, menghasilkan siderofor dan hidrogen sianida.



Pembahasan

Total 81 isolat yang diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai teridentifikasi sebagai genus *Pseudomonas* sesuai dengan sifat morfologi dan fisiologinya menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition* (Holt *et al.* 1994). Semua isolat bersifat Gram negatif, bentuk batang, motil, aerobik, katalase positif, oksidase positif. Karakter morfologi dan fisiologi ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang mengarah ke genus *Pseudomonas*. Teridentifikasinya isolat-isolat dari rizosfer tanaman kedelai sebagai genus *Pseudomonas* menunjukkan bahwa *Pseudomonas* merupakan bakteri yang secara alami ada rizosfer tanaman kedelai. *Pseudomonas* dapat memanfaatkan eksudat tanaman kedelai sebagai nutrisi untuk tumbuh di sekitar perakaran (Scher *et al.* 1985). Keberadaan *Pseudomonas* sebagai bagian dari bakteri antagonis rizosfer memberikan keuntungan bagi tanaman.

Identifikasi genus *Pseudomonas* lebih lanjut menggunakan Microgen™ GNA GNB menunjukkan sebagian besar isolat yaitu 8 isolat adalah *Pseudomonas pseudomallei* dengan kemiripan antara 48.89-99.99%; 2 isolat mengarah pada *Pseudomonas aeruginosa* dengan kemiripan 45.53 dan 90.91%; 1 isolat mengarah pada *Pseudomonas stutzeri* dengan kemiripan 72.57%. Hal ini mengindikasikan bahwa *Pseudomonas* sp. CRB adalah satu genus *Pseudomonas* dengan beberapa spesies yang berbeda dengan dominasi terbesar sebagai spesies *Pseudomonas pseudomallei*. *Pseudomonas* sp. CRB-3, CRB-80 dan CRB-86 dan CRB-112 teridentifikasi sebagai *Pseudomonas pseudomallei* dengan kemiripan yang sama yaitu 99.99%, meskipun hasil uji biokimianya tidak identik.

Identifikasi fenotif dengan menggunakan *kit* substrat biokimia Microgen™ GNA GNB dapat dilakukan dengan mudah. Substrat biokimia akan berubah warna jika dimetabolisme oleh bakteri selama inkubasi atau setelah ditambahkan reagen tertentu. Permutasi substrat yang dimetabolisme dapat diketahui hasilnya menggunakan *software Microgen Identification System* untuk mengidentifikasi bakteri yang diuji. Meskipun pengartian positif dan negatif tes biokimia menggunakan *kit* Microgen™ GNA GNB dapat mengarahkan ke identifikasi pada tingkat spesies, hasil yang diberikan masih sangat terbatas. Keterbatasan hasil yang diberikan karena terbatasnya ketersediaan basis data spesies referensinya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Microgen™ GNA GNB adalah *kit* untuk identifikasi bakteri famili Enterobacteriaceae dan mencakup juga secara umum *non-fastidious* oksidatif positif, Gram negatif bentuk batang. Untuk famili Enterobacteriaceae dapat mengidentifikasi 28 genus akan tetapi untuk oksidatif positif hanya dapat mengidentifikasi 12 genus, di antaranya, genus *Pseudomonas* hanya diwakili oleh 6 spesies. Oleh karenanya *Pseudomonas* sp. CRB-3, CRB-80 dan CRB-86 dan CRB-102 teridentifikasi sebagai *Pseudomonas pseudomallei* dengan kemiripan yang sama yaitu 99.99%, meskipun hasil uji biokimianya tidak identik.

Bakteri rizosfer yang bersifat antagonis dapat ditemukan di komunitas mikro rizosfer. Sebelas isolat *Pseudomonas* sp. CRB yang mempunyai aktivitas anticendawan dapat ditemukan dari rizosfer tanaman kedelai. Sehubungan dengan aktivitas anticendawan, bakteri ini merupakan bakteri yang dapat berperan dalam pelekuan penyakit secara alami di rizosfer. Meskipun jumlahnya tidak begitu banyak, *Pseudomonas* sp. CRB penghasil senyawa anticendawan merupakan bakteri antagonis yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen biokontrol.

Uji antagonis bakteri terhadap cendawan patogen yang sudah dikenal dan banyak dilakukan adalah kultur ganda. Uji ini dapat menunjukkan apakah isolat bakteri dapat menghambat pertumbuhan cendawan patogen atau tidak. Seperti pada penelitian ini, evaluasi aktivitas anticendawan *in vitro* merupakan persyaratan yang harus dilakukan sebelum dilakukan evaluasi aktivitas anticendawan *in planta*. Adanya antagonis mengindikasikan adanya produksi senyawa anticendawan. Makin tinggi presentase penghambatan pertumbuhan yang ditunjukkan isolat bakteri makin besar sifat antagonisnya. Isolat yang menunjukkan persentase penghambatan lebih dari 20% merupakan kandidat biokontrol yang baik. *Pseudomonas* sp. CRB-31, CRB-80, CRB-86 dan CRB-102 menghambat dua jenis cendawan. Hal ini mengindikasikan bahwa keempat isolat tersebut menghasilkan beberapa senyawa anticendawan. Seperti pada *Pseudomonas fluorescens* Pf5, bakteri ini menghasilkan anticendawan pioluteorin, pirolnitrin, 2,4 DAPG, hidrogen sianida dan protease ekstraseluler (Paulsen *et al.* 2005). Pf5 dapat menghambat cendawan patogen *R. solani* karena menghasilkan pirolnitrin dan juga dapat menghambat *Pytium ultimum* yang menyebabkan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memunculkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



penyakit busuk kecambah pada kecambah tanaman kapas karena menghasilkan pioluteorin (Howell & Stipanovic 1980; Nowak-Thompson *et al.* 1999).

Kemampuan menghasilkan enzim kitinase, siderofor dan hidrogen sianida merupakan sifat-sifat biokontrol yang dapat berperan juga dalam penekanan penyakit yang disebabkan cendawan patogen. *Pseudomonas* sp. CRB yang mempunyai satu atau lebih karakter biokontrol sangat menguntungkan, karena mereka dapat memberikan beberapa mekanisme antibiosis sekaligus untuk mengendalikan cendawan patogen atau dapat mengendalikan beberapa patogen.

Impulan

1. Sebanyak 81 isolat bakteri dari rizosfer tanaman kedelai dari daerah Cirebon teridentifikasi secara morfologi dan fisiologis sebagai genus *Pseudomonas* dan diberi nama *Pseudomonas* sp. CRB.
2. Sebanyak 11 isolat di antara 81 *Pseudomonas* sp. CRB bersifat antagonis terhadap cendawan patogen tular tanah *S. rolfsii*, *F. oxysporum* atau *R. solani*. Isolat-isolat ini mempunyai sifat-sifat biokontrol yaitu menunjukkan penghambatan pertumbuhan terhadap cendawan patogen tular tanah *S. rolfsii*, *F. oxysporum* atau *R. solani*. Tujuh isolat di antaranya menghasilkan siderofor, 2 isolat menghasilkan enzim kitinase dan 4 isolat menghasilkan hidrogen sianida. Isolat-isolat yang mempunyai sifat-sifat biokontrol berpotensi sebagai agen biokontrol.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

Bogor Agricultural University

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)