

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Kitinolitik Endofit Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) serta Potensinya dalam Menghambat Pertumbuhan *Fusarium oxysporum*

Isolation and Characterization of Chitinolytic Endophytic Bacteria on Shallot (Allium ascalonicum) and Its Potency to Inhibit Fusarium oxysporum Growth

Indra Adi Wira Prasetya*, Yuni Sri Rahayu, Guntur Trimulyono

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: indraadiw71@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pengendali jamur. *Fusarium oxysporum* merupakan jamur yang menyebabkan penyakit pada bawang merah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri kitinolitik endofit bawang merah, menguji potensi penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh isolat bakteri kitinolitik, serta mendeskripsi karakteristik isolat bakteri kitinolitik yang diperoleh. Penelitian yang dilakukan meliputi uji kitinolitik menggunakan agar koloidal kitin, karakterisasi bakteri, serta uji potensi sebagai antifungi. Pada penelitian ini telah berhasil diperoleh 11 isolat bakteri endofit akar bawang merah yang 5 di antaranya memiliki aktivitas kitinolitik. Kelima isolat bakteri tersebut antara lain: AA2, AA7, AA8, AA9 dan AA10. Empat isolat bakteri yaitu: AA2, AA8, AA9, dan AA10 mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*. Terdapat 37 karakter isolat bakteri kitinolitik yang telah diperoleh. Karakter tersebut meliputi morfologi koloni, morfologi sel, serta sifat fisiologis dan biokimia. Beberapa karakteristik isolat bakteri kitinolitik di antaranya adalah morfologi koloni berbentuk *circular*, *irregular*, dan *filamentous*. Morfologi sel bakteri berbentuk basil dengan rangkaian diplobasil dan streptobasil, serta Gram negatif dan positif.

Kata kunci: bakteri kitinolitik; *Fusarium oxysporum*; bawang merah; isolasi; karakterisasi

ABSTRACT

Chitinolytic bacteria is a group of bacteria that is capable to produce chitinase enzyme so it can be used to control fungus. Fusarium oxysporum can cause a disease to shallot crop. The purpose of this research were to isolate chitinolytic endophytic bacteria in shallot crop, to describe the potency of chitinolytic bacteria isolates to inhibit F. oxysporum growth and to describe the characteristic of that isolates. Test that conducted including the chitinolytic test by chitin colloidal agar, bacteria characterization, and potency test as an antifungal. This research was successfully got 11 endophytic bacteria isolates from shallot root, which 5 isolates had chitinolytic activity. Five isolates were: AA2, AA7, AA8, AA9, and AA10. Four bacteria isolates: AA2, AA8, AA9, and AA10 Are known capable to inhibited F. oxysporum growth. There were 37 characters of chitinolytic bacteria isolates that had been tested. The characteristic were colonies morphology, cell morphology, and physiological and biochemical character. Characteristic of chitinolytic bacteria colonies morphology were circular, irregular, and filamentous shape. Cell morphology were bacillus with diplobacillus and streptobacillus chain and negative and positive Gram.

Key words: chitinolytic bacteria; *F. oxysporum*; shallot; isolation; characterization

PENDAHULUAN

Bakteri kitinolitik adalah kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase (Fernih et al., 2011). Enzim kitinase merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi kitin. Kitin merupakan senyawa biopolimer yang tersebar pada eksoskeleton zooplankton, crustaceae, insekta, dan fungi (Haliza dan Suhartono, 2012). Bakteri kitinolitik dapat hidup secara endofit pada perakaran beberapa tanaman. Tanaman-tanaman tersebut di antaranya adalah tanaman cabai merah

(Mahagiani, 2008), semangka (Rangkuti et al., 2014) dan kentang (Wardhani, 2010).

Bakteri kitinolitik endofit dapat dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati serangga dan jamur. Pada penelitian Fernih et al. (2011), membuktikan bahwa bakteri kitinolitik mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. Hal tersebut dikarenakan bakteri kitinolitik mendegradasi dinding sel jamur yang mengandung kitin sehingga dinding sel menjadi rusak dan jamur tidak dapat berkembang. Kemampuan bakteri kitinolitik dalam

menghambat *F. oxysporum* pada pisang dibuktikan oleh Purba (2010). Terdapat empat jenis isolat bakteri kitinolitik yang diisolasi dari daerah rizozfer tanaman pisang yang mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*.

Fusarium oxysporum merupakan jamur tular tanah. Jamur dapat menular dari satu tanaman yang sakit ke tanaman lainnya melalui tanah (Agrios, 2005). *Fusarium oxysporum* diketahui bersifat patogen pada beberapa tanaman. Sebagai contoh tanaman yang dapat terserang *F. oxysporum* adalah tanaman bawang merah. Penyakit layu *Fusarium* biasa menyerang tanaman bawang pada hari ke 1-9 setelah masa tanam (Udiarto *et al.*, 2005). *F. oxysporum* yang menyerang tanaman bawang merah di Kabupaten Nganjuk memiliki tingkat virulensi antara 29 – 55%. Pada minggu ke-2 setelah penanaman, intensitas serangan *F. oxysporum* terhadap bawang merah mencapai 29%. Pada minggu ke-6 setelah penanaman, intensitas serangan *F. oxysporum* terhadap bawang merah mencapai 55%. Serangan penyakit ini menyebabkan penurunan bobot umbi bawang merah (Nugroho *et al.*, 2011).

Potensi yang telah ditunjukkan oleh bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman *F. oxysporum* melatarbelakangi penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri kitinolitik endofit dari tanaman bawang merah, serta untuk menguji potensinya dalam menghambat *F. oxysporum*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional yang dilaksanakan dari bulan Maret – Juni 2016. Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel di pertanian bawang merah di Kabupaten Nganjuk, Kecamatan Sukomoro, Jawa Timur dan dilanjutkan uji karakterisasi dan uji potensi kitinolitik terhadap *F. oxysporum* di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya.

Penelitian dimulai dengan sterilisasi peralatan dan media yang akan digunakan. Isolasi bakteri diawali dengan melakukan sterilisasi sampel. Sampel akar kemudian dikeringkan dan diencerkan. Bagian ujung-ujung akar sepanjang ± 1 cm dipotong. Akar dihancurkan dengan alu steril, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril dan dihomogenkan dengan vortex (Anggara *et al.*, 2014). Suspensi didiamkan hingga jaringan akar mengendap dan dilakukan pengenceran hingga 10^{-7} . Sampel yang telah diencerkan hingga pengenceran 10^{-7} kemudian dipindahkan 1 ml pada cawan petri

steril dan disuspensikan dengan media *nutrient agar*. Media tersebut selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang 30°C. Isolat bakteri endofit yang didapat kemudian dilakukan pemurnian dan dikarakterisasi morfologi koloninya (Cappucino dan Sherman, 2010).

Isolat bakteri yang telah dimurnikan selanjutnya diuji aktivitas kitinolitiknya menggunakan media agar koloidal kitin. Uji kualitatif bakteri kitinolitik dilakukan menurut Mubarik *et al.* (2010). Isolat bakteri dipindahkan pada media agar kitin dengan cara “menotol” dan diinkubasi dalam suhu 30°C selama 48 jam selanjutnya diamati ada tidaknya zona bening yang terbentuk. Selain dapat diketahui ada tidaknya kemampuan kitinolitik bakteri, dapat diketahui pula indeks kitinolitik masing-masing koloni yang dapat ditentukan dengan cara membagi diameter zona bening dengan diameter koloni. Aktivitas kitinolitik bakteri bernilai rendah bila didapatkan indeks kitinolitik lebih kecil dari 2 ($IK < 2$), sebaliknya bila indeks kitinolitik lebih besar dari 2 ($IK > 2$), maka aktivitas kitinolitik bakteri bernilai tinggi (Famarzi *et al.*, 2009).

Isolat bakteri yang memiliki aktivitas kitinolitik kemudian diuji potensinya dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dan juga dikarakterisasi lebih lanjut. Uji antagonisme dilakukan menurut metode kultur ganda sesuai dengan penelitian Putro *et al.* (2014). Uji antagonisme dimulai dengan membuat media PDA pada cawan steril. Isolat *F. oxysporum* dipindahkan dengan diameter 0,5 cm dengan jarak 3 cm pada tepi cawan berisi media PDA steril. Selanjutnya kertas saring steril berukuran 0,5 cm direndam pada isolat bakteri kitinolitik cair sebanyak 10^6 selama 1 menit, kemudian diletakkan 3 cm dari tepi cawan pada sisi yang berlawanan dengan *F. oxysporum*. Media diinkubasi selama satu minggu. Selanjutnya pertumbuhan *F. oxysporum* dapat diamati. Persentase daya hambat dihitung berdasarkan rumus dari Eliza *et al.* (2007) berikut:

$$\text{Presentase daya hambat} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

R1: Jari-jari pertumbuhan *F. oxysporum* ke arah tepi cawan petri.

R2: Jari-jari pertumbuhan *F. oxysporum* ke arah bakteri.

Isolat bakteri kitinolitik dikarakterisasi menurut morfologi sel dan sifat biokimianya. Uji pengamatan karakter yang dilakukan antara lain: pewarnaan Gram, uji motilitas, uji katalase, serta

kemampuan mereduksi gula-gula. Data-data yang telah diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Hasil isolasi bakteri endofit pada akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*) diperoleh sebanyak 11 isolat bakteri. Seluruh isolat bakteri yang berhasil diisolasi kemudian dikarakterisasi berdasarkan morfologi koloninya. Isolat bakteri

yang berhasil diisolasi memiliki tiga ragam bentuk yaitu *circular*, *irreggular*, dan *filamentous*. Sebelas isolat bakteri pada umumnya memiliki elevasi *raised* dan *flat* dengan tepi beragam yaitu *undulate*, *entire*, *filamentous*, *erose*, dan *lobate*. Pigmentasi isolat bakteri yang telah diisolasi adalah putih, kecuali isolat AA11 yang berpigmen kuning. Optik isolat bakteri yang telah diisolasi yaitu *opaque* dan *translucent*. Permukaannya sebagian besar halus, kecuali AA4 yang memiliki permukaan kasar (**Tabel 1**).

Hasil skrining bakteri menunjukkan ada tidaknya aktivitas kitinolitik berdasarkan terbentuk atau tidaknya zona bening (*clear zone*) di sekeliling isolat yang telah ditumbuhkan pada media. Isolat bakteri yang mampu menghasilkan zona bening (*clear zone*) terdapat lima isolat. Lima isolat tersebut adalah AA2, AA7, AA8, AA9, AA10. Isolat bakteri yang memiliki zona bening terbesar adalah AA7 yaitu sebesar 0,6 cm, sedangkan yang memiliki zona bening terkecil adalah AA2 dan AA8 yaitu sebesar 0,2 cm (**Tabel 2**).

Lima isolat bakteri yang memiliki kemampuan kitinolitik selanjutnya dikarakterisasi berdasarkan morfologi sel serta sifat fisiologi dan biokimianya. Hasil karakterisasi kelima isolat tersebut di antaranya berbentuk Basil dengan susunan sel yaitu diplobasil dan streptobasil. Isolat bakteri AA2, AA8, AA9, dan AA10 memiliki jenis Gram negatif, sedangkan isolat bakteri AA7 memiliki jenis Gram positif. Semua isolat bakteri kitinolitik mampu menghasilkan enzim katalase dan bersifat non-motil (**Tabel 3**).

Tabel 1. Morfologi koloni bakteri endofit bawang merah (*A. ascalonicum*)

Isolat	Bentuk	Elevasi	Tepi	Pigmentasi	Optik	Permukaan
AA1	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Halus
AA2	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Halus
AA3	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Filamentous</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Halus
AA4	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	<i>Filamentous</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Kasar
AA5	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	<i>Lobate</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Halus
AA6	<i>Filamentous</i>	<i>Flat</i>	<i>Filamentous</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Halus
AA7	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Halus
AA8	<i>Filamentous</i>	<i>Flat</i>	<i>Filamentous</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Halus
AA9	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Erose</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Halus
AA10	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	<i>Lobate</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Halus
AA11	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Kuning	<i>Opaque</i>	Halus

Keterangan: Karakterisasi morfologi koloni berdasarkan Cappucino dan Sherman (1987)

AA : Kode isolat bakteri endofit dari *Allium ascalonicum*

Tabel 2. Aktivitas kitinolitik isolat bakteri endofit bawang merah

Kode Isolat	Diameter Total (cm)	Diameter Koloni (cm)	Zona Bening (cm)	Indeks Kitinolitik
AA1	1,1	1,1	-	-
AA2	2,6	2,4	0,2	0,08
AA3	3,1	3,1	-	-
AA4	1,2	1,2	-	-
AA5	2,3	2,3	-	-
AA6	2,2	2,2	-	-
AA7	1,2	0,6	0,6	1
AA8	3	2,8	0,2	0,07
AA9	3,4	3,1	0,3	0,1
AA10	2,2	1,8	0,4	0,2
AA11	2,6	2,6	-	-

Keterangan: Indeks kitinolitik didapatkan dengan membagi zona bening dan diameter koloni. Indeks kitinolitik bernilai besar bila lebih dari 2 dan bernilai kecil bila kurang dari 2

Tabel 3. Karakteristik bakteri kitinolitik endofit tanaman bawang merah

Karakteristik	Isolat Bakteri				
	AA2	AA7	AA8	AA9	AA10
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Susunan Sel	Diplobasil	Diplobasil	Streptobasil	Diplobasil	Streptobasil
Gram	-	+	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+	+
Reduksi Gula					
Glukosa	+	+	+	+	+
Fruktosa	+	+	+	+	+
Sukrosa	+	+	+	+	+
Laktosa	-	+	+	-	-
Amilum	+	+	+	+	+
Manitol	-	-	+	-	-
Pembentukan Gas					
Glukosa	-	-	+	-	-
Fruktosa	-	-	+	-	-
Sukrosa	-	-	+	-	-
Laktosa	-	-	+	-	-
Amilum	-	-	-	-	-
Manitol	-	-	+	-	-

Keterangan: (+) : Gram positif; (-) : Gram negatif;
 + : bakteri mampu membentuk/mereduksi;
 - : bakteri tidak mampu membentuk/mereduksi
 AA: Kode isolat bakteri endofit dari *Allium ascalonicum*.

Tabel 4. Persentase daya hambat *F. oxysporum*

Isolat	Jari-jari <i>F. oxysporum</i> ke arah tepi cawan (cm)	Jari-jari <i>F. oxysporum</i> ke arah bakteri (cm)	Persentase daya hambat (%)
AA2	2,75	2,6	0,05
AA7	2,85	3,4	0
AA8	3	2,5	0,17
AA9	2,55	2,35	0,08
AA10	2,6	2,45	0,06
Kontrol	3	3,7	0

Lima isolat bakteri yang telah dikarakterisasi lebih lanjut juga telah diuji antagonisme dengan *F. oxysporum* untuk mengetahui persentase penghambatannya terhadap jamur tersebut. Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa isolat bakteri AA2, AA8, AA9, dan AA10 yang diperoleh memiliki persentase daya hambat yang lebih tinggi dari perlakuan kontrol. Bakteri yang memiliki daya hambat tertinggi ditunjukkan oleh isolat AA8, yaitu sebesar 0,17%. Isolat bakteri yang memiliki persentase hambatan sama dengan 0 antara lain adalah AA7 (Tabel 4).

PEMBAHASAN

Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari perakaran bawang merah berjumlah 11 isolat. Compant *et al.* (2010) menyatakan bahwa sebagian besar bakteri endofit dapat berasal dari daerah rizosfer tanaman. Bakteri dapat mendekati permukaan akar dikarenakan adanya eksudat

yang dikeluarkan oleh akar. Eksudat tersebut menyebabkan terjadinya kemotaksis sehingga bakteri mendekati sumber penghasil eksudat yaitu akar tanaman.

Hasil uji kitinolitik dengan media koloidal kitin menghasilkan lima isolat bakteri yang memiliki aktivitas kitinolitik. Lima isolat bakteri tersebut yaitu isolat bakteri AA2, AA7, AA8, AA9, dan AA10. Lima isolat bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim kitinase karena bakteri mampu menghasilkan protein ChiA, ChiB, ChiC, chitobiase, dan CBP21. Protein tersebut akan disintesis ketika ada induksi dari lingkungan. Penghasilan kitinase dipengaruhi adanya induktor dan represor. Induktor kitinase berupa senyawa kitin, sedangkan hasil degradasi berupa GlcNAc dan glukosa akan berperan sebagai penghambat atau represor (Brurberg *et al.*, 2000).

Bakteri yang terinduksi akan mensintesis protein ChiA, ChiB, ChiC, chitobiase, atau CBP21

(*chitin binding protein*). Sintesis protein tersebut berlangsung dalam beberapa tahap. Tahap pertama yaitu pengaktifan asam amino oleh *aminoacyl-tRNA sintetase* di sitosol hingga menghasilkan *aminoacyl-tRNA*, kemudian barulah terjadi inisiasi. Inisiasi dimulai dengan mRNA yang berikatan dengan ribosom sub unit kecil dan *aminoacyl-tRNA inisiator*, selanjutnya ribosom subunit besar berikatan sehingga membentuk kompleks inisiasi bersama mRNA dan terjadilah translasi pada kodon start. Proses selanjutnya yaitu elongasi atau pemanjangan polipeptida oleh asam amino yang dibawa dan disusun oleh tRNA hingga selesai karena adanya sinyal dari kodon stop pada mRNA. Polipeptida yang telah selesai ditranslasi dikeluarkan dari ribosom dan mengalami proses *foldling* atau pelipatan-pelipatan sehingga dihasilkan protein bentuk tiga dimensi yang merupakan bentuk protein aktif secara biologis (Lehninger, 2012).

Hasil karakterisasi morfologi koloni kelima isolat bakteri yang memiliki kemampuan kitinolitik memiliki berbagai macam bentuk koloni antara lain: *circular*, *irregular*, dan *filamentous*, selain itu lima isolat tersebut memiliki tepian, elevasi, dan optik yang berbeda-beda. Morfologi koloni suatu bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor umur dan lingkungan hidupnya (Fardiaz, 1992).

Isolat bakteri yang telah dikarakterisasi memiliki bentuk morfologi sel yang beragam. Bentuk sel bakteri lima isolat seluruhnya adalah basil, sedangkan susunan rangkaian sel bakteri adalah diplo (ganda) dan strepto (rantai). Hasil uji Gram kelima isolat bakteri kitinolitik AA2, AA8, AA9, dan AA10 merupakan Gram negatif, sedangkan bakteri AA7 merupakan Gram positif. Zinniel *et al.* (2002) juga mengungkapkan bahwa pada berbagai jaringan tanaman dapat ditemukan bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

Hasil uji motilitas kelima isolat bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri non-motil. Bakteri yang bersifat non-motil tidak memiliki alat gerak berupa flagel (Cappucino dan Sherman, 2010). Uji katalase isolat bakteri kitinolitik menunjukkan hasil positif pada semua isolat. Hasil positif dapat dilihat dengan adanya gelembung gas yang merupakan oksigen dari proses penguraian hidrogen peroksida oleh enzim katalase. Hidrogen peroksida merupakan salah satu produk yang dihasilkan saat respirasi aerob. Hidrogen peroksida yang terakumulasi pada substansi bersifat racun bagi bakteri sehingga harus diurai menjadi air dan oksigen (Cappucino dan Sherman, 2010).

Uji reduksi gula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi dan melakukan metabolisme suatu gula tertentu. Uji reduksi gula oleh kelima isolat bakteri memberikan hasil perubahan warna pada media yang mengandung gula yang diujikan, yaitu gula: glukosa, fruktosa, laktosa, sukrosa, amilum, dan manitol. Perubahan warna media dari merah menjadi kuning menunjukkan bahwa hasil uji positif. Perubahan warna tersebut disebabkan karena pH media yang berubah akibat terjadinya pembentukan asam oleh bakteri seperti asam laktat dan alkohol sehingga pH media menjadi lebih asam. Produksi asam terkadang juga diikuti oleh pembentukan gas karena adanya CO₂ yang dibentuk (Cappucino dan Sherman, 2010). Hal ini terjadi pada isolat bakteri AA8 yang melakukan pembentukan gas pada uji reduksi glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa, dan manitol.

Hasil uji potensi bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* membuktikan jika isolat AA2, AA8, AA9, dan AA10 yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*. Hal ini dapat dilihat dari persentase hambatan yang dihasilkan oleh isolat bakteri kitinolitik. Isolat AA2, AA8, AA9, dan AA10 memiliki persentase hambatan yang lebih besar dari atau sama dengan 0, sementara AA7 memiliki persentase hambatan sama dengan nol (0). Persentase hambatan yang lebih besar dari 0 menunjukkan bahwa pertumbuhan jamur ke arah bakteri kitinolitik lebih kecil dari pertumbuhan jamur ke arah tepi cawan.

Penghasilan enzim kitinase oleh bakteri kitinolitik merupakan bentuk karakter fisiologis yang dapat dimanfaatkan sebagai pengendali hayati. Haliza dan Suhartono (2012) menyatakan bahwa enzim kitinase berfungsi dalam menghidrolisis kitin yang terkandung dalam dinding sel jamur menjadi kitin oligosakarida atau N-asetil glukosamin. Nasiroh *et al.* (2015) menyatakan ketika koloni jamur bertemu dengan koloni bakteri, kitin pada jamur akan menginduksi pembentukan kitinase pada bakteri. Bakteri akan memanfaatkan kitin dari hifa jamur menjadi sumber karbon, sehingga mampu menyebabkan hifa dan dinding sel jamur lisis.

Ferniah *et al.* (2003) mengungkapkan bahwa mekanisme kitinolitik bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur terdapat dua tahap. Tahap pertama bakteri akan menghasilkan enzim kitinase dan merusak komponen struktural jamur yaitu dinding selnya. Kerusakan dinding sel tersebut akan mempengaruhi permeabilitas membran sel jamur, sehingga sistem transpor zat

antar sel jamur menjadi terganggu. Hal ini akan menghambat pertumbuhan jamur.

Adanya variasi persentase hambatan isolat bakteri kitinolitik terhadap jamur *F. oxysporum* dapat disebabkan oleh perbedaan kemampuan bakteri dalam menghasilkan kitinase (Suryanto *et al.*, 2011). Hal ini ditunjukkan pada hasil indeks kitinolitik yang berbeda-beda pula. Hasil persentase hambatan isolat AA7 tidak menunjukkan aktivitas penghambatan jamur *F. oxysporum*. Hasil tersebut berbanding terbalik dengan hasil uji kitinolitik pada media koloidal kitin yang menunjukkan bahwa isolat AA7 memiliki indeks kitinolitik (IK) tertinggi.

Hal serupa ditunjukkan pada penelitian Muharni *et al.* (2011). Isolat bakteri kitinolitik BRK6 dari tanaman karet yang memiliki IK yang lebih tinggi dari isolat BRK7 justru tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur. Penelitian milik Suryanto *et al.* (2011) juga menunjukkan bahwa isolat bakteri KR04 dan KR06 yang memiliki aktivitas kitinolitik yang tinggi justru memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan jamur lebih kecil dari pada isolat bakteri LK08 yang memiliki aktivitas kitinolitik lebih rendah. Hal ini dapat disebabkan adanya perbedaan jenis kitinase yang dihasilkan oleh masing-masing isolat.

Jenis kitinase yang berbeda mampu mempengaruhi aktivitas hidrolisis kitin dari isolat bakteri. ChiA diketahui memiliki kemampuan dalam menghidrolisis kitin paling cepat dibandingkan ChiB dan ChiC. ChiB mampu menghidrolisis kitin lebih cepat dari ChiC. Aktivitas ChiA, ChiB, dan ChiC juga dipengaruhi oleh jenis substrat kitin. ChiA paling baik dalam menghidrolisis koloidal kitin, sedangkan ChiC yang paling rendah aktivitasnya dalam menghidrolisis koloidal kitin. ChiA memiliki aktivitas paling tinggi dalam menghidrolisis kitin serbuk/padat dan kitosan, sementara ChiB memiliki aktivitas terendah. ChiC memiliki aktivitas tertinggi dalam menghidrolisis kitin yang terlarut dalam air dan *glycol chitin*, sedangkan ChiA memiliki aktivitas terendah (Suzuki *et al.*, 2002).

Bormann *et al.* (1999) menyatakan bahwa aktivitas penghambatan dari bakteri dapat pula dipengaruhi oleh jumlah enzim kitinase yang diproduksi dan jenis kitinase yang diproduksi. Aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur dipengaruhi pula oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan protein pengikat kitin (*chitin binding protein*) yang dihasilkan saat perombakan kitin.

Jenis Gram bakteri juga dapat mempengaruhi aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur. Isolat bakteri AA2, AA8, AA9, dan AA10 memiliki Gram negatif. Bakteri Gram negatif diketahui memiliki endotoksin yang terletak pada dinding selnya. Endotoksin bakteri memiliki ciri di antaranya yaitu tahan terhadap panas, memiliki substansi yang terdiri dari fosfolipid dan karbohidrat (lipopolisakarida), dan tidak mudah dinetralkan oleh antitoksin. Endotoksin bakteri akan dilepaskan ketika ada sel bakteri yang hancur atau lisis (Pelczar dan Chan, 1986). Isolat bakteri AA7 yang memiliki Gram positif tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur diduga karena tidak adanya endotoksin pada dinding selnya.

Perbedaan persentase hambatan dengan indeks kitinolitik juga dapat disebabkan oleh adanya pertahanan dari dinding sel *F. oxysporum*. Daya tahan dinding sel jamur dapat menyebabkan peran enzim kitinase dalam melisiskan kitin menjadi kurang efektif. Sivan dan Chet (1989), menyatakan bahwa *F. oxysporum* diketahui memiliki dinding sel yang mengandung protein lebih banyak dibandingkan dengan jamur yang lain. Hal ini dibuktikan dengan pemberian perlakuan dengan menggunakan enzim proteolitik dan NaOH yang ternyata mampu menambah efektivitas kitinase dalam melisiskan dinding sel.

Komposisi protein yang melindungi dinding sel jamur membuktikan jika enzim kitinase yang dihasilkan oleh isolat bakteri AA2, AA8, AA9, dan AA10 tidak bekerja sendiri, melainkan terdapat enzim lain yang membantu melisiskan protein pada dinding sel jamur yaitu enzim protease. Enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri mampu memecah protein menjadi monomer-monomernya (Laili, 2012). Hal ini juga menghambat produksi enzim jamur yang penting bagi metabolisme jamur, sehingga proses pertumbuhan menjadi terhambat pula (Nasiroh *et al.*, 2015).

Penjelasan di atas menunjukkan bahwa aktivitas kitinolitik yang ditunjukkan dari indeks kitinolitik tidak selalu berbanding lurus dengan persentase hambatan pada jamur. Penghambatan bakteri kitinolitik terhadap jamur dipengaruhi oleh perbedaan jenis Gram, adanya protein pengikat kitin CBP21, serta ketahanan dari spesies jamur. Isolat bakteri AA2, AA8, AA9, dan AA10 mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* diduga dikarenakan karena isolat tersebut memiliki jenis Gram negatif dan memiliki protein CBP21, serta enzim protease yang mampu membantu protein dari *F. oxysporum*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri kitinolitik endofit pada tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum*) dan potensinya dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*, telah didapatkan beberapa simpulan antara lain: Terdapat 5 bakteri kitinolitik endofit dari 11 bakteri endofit yang berhasil diisolasi dan diskriming. Isolat bakteri tersebut diberi kode AA2, AA7, AA8, AA9 dan AA10. Terdapat 4 isolat bakteri kitinolitik yang mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*. Empat isolat tersebut adalah AA2, AA8, AA9 dan AA10. Karakteristik isolat bakteri kitinolitik AA2, AA7, AA8, AA9, dan AA10 antara lain morfologi koloni berbentuk *circular*, *irregular*, atau *filamentous*, elevasi *raised* atau *flat*, tepi *entire*, *filamentous*, *undulate*, *erose* atau *lobate*, pigmen putih, optik *opaque* atau *translucent*, dan permukaan halus. Morfologi sel bakteri berbentuk basil dengan rangkaian diplobasil atau streptobasil, Gram negatif atau positif. Karakteristik fisiologi dan biokimia sel bakteri antara lain bersifat non-motil, dapat menghasilkan enzim katalase, dapat mereduksi glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa, amilum, dan manitol. Menghasilkan gas atau tidak pada uji glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa, dan manitol, serta tidak menghasilkan gas pada uji amilum. Berdasarkan karakteristik tersebut dapat dilakukan penelitian berikutnya untuk mengidentifikasi jenis isolat bakteri kitinolitik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN, 2005. *Plant Pathology Fifth Edition*. Amerika Serikat: Elsevier Academic Press
- Anggara BS, Yuliani, dan Lisdiana L, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon Indole Acetic Acid (IAA) dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*). *LenteraBio*. 3(3):160-167
- Bormann C, Baier D, Horr I, Raps C, Berger J, Jung G, dan Schwarz H, 1999. Characterization of a Novel, Antifungal, Chitin-Binding Protein from *Streptomyces tendae* Tu'901 That Interferes with Growth Polarity. *Journal of Bacteriology*. 181(24): 7421-7429
- Brurberg MB, Synstad B, Klemsdal SS, Aalten DV, Sundheim L, dan Eijsink VGH, 2000. Chitinases from *Serratia marcescens*. *Microbiology-Uk*. 141(1): 123-131
- Cappuccino JG dan Sherman N, 2010. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Ninth Edition. New York: Addison - Wesley Publishing Company
- Compant S, Clement C dan Sessitsch A, 2010. Plant Growth-Promoting Bacteria in The Rhizo- and Endosphere of Plants: Their Role, Colonization, Mechanisms Involved and Prospects for Utilization. *Elsevier Soil Biology & Biochemistry*. 42: 669-678
- Eliza, Munif A, Djatnika I, dan Widodo, 2007. Karakter Fisiologis dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Pisang. *Jurnal Hortikultura*. 17(2): 150-160
- Famarzi MA, Fazeli MMT, Yazdi S, Adrangi KJ, Al-Ahmadi N, Tasharrofi dan Mohseni FA, 2009. Optimization of Cultural Condition for Production Chitinase by Soil Isolate of *Massilia timonae*. *Biotechnol*. 8(1): 93 - 99.
- Fardiaz S, 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Ferniah RS, Pujiyanto S, Purwantisari S. dan Supriyadi, 2011. Interaksi Kapang Patogen *Fusarium oxysporum* dengan Bakteri Kitinolitik Rizosfer Tanaman Jahe dan Pisang. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(1): 56-60
- Haliza W dan Suhartono MT, 2012. Karakteristik Kitinase dari Mikrobia. *Buletin Teknologi Pascapanenan Pertanian*. 8(1): 1-14.
- Laili N, 2012. Karakterisasi dan Aplikasi Bakteri Agen Biokontrol: *Bacillus* sp. 140-B dan *Streptomyces* sp. L.3.1-DW Terhadap Kapang Patogen *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *cubense* Pada Tanaman Pisang (*Musa acuminata*) var. Cavendish. Thesis tidak dipublikasikan. Depok. Universitas Indonesia
- Lehninger, 2012. *Principles of Biochemistry*. USA: W.H. Freeman
- Mahagiani I, 2008. Isolasi Enzim Kitinase dari Bakteri Perakaran Tanaman Cabai dan Aplikasi Nya pada Kutu Kebul. *Skripsi* tidak dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Mubarik NR, Mahagiani I, Anindyaputri A, Santoso S, dan Rusmana I, 2010. Chitinolytic Bacteria Isolated from Chili Rhizosphere: Chitinase Characterization and Its Application as Biocontrol for Whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.). *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5 (4): 430-435
- Muharni dan Widjajanti H, 2011. Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis Terhadap Pertumbuhan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lignosus*) dari Rizosfir Tanaman Karet. *Jurnal Penelitian Sains*. 14(1D): 51-56
- Nasiroh U, Isnawati, dan Trimulyono G, 2015. Aktivitas Antifungi *Serratia marcescens* terhadap *Alternaria porri* Penyebab Penyakit Bercak Ungu Secara *in Vitro*. *Lenterabio*. 4(1): 13-18
- Nugroho B, Astriani D, dan Mildaryani W, 2011. Variasi Virulensi Isolat *Fusarium oxysporum* f.sp.*cepae* pada

- Beberapa Varietas Bawang Merah. *Jurnal Argin*. 15(1): 8-17.
- Pelczar MJ dan Chan ECS, 1986. Dasar - Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Purba F, 2010. Kelimpahan Bakteri Kelompok Kitinolitik, Tahan Panas, dan Kelompok Fluoresen pada Rizosfer Pisang (*Musa spp.*) serta Potensinya dalam Menghambat *Fusarium oxysporum f .sp. cubense*. *Skripsi* tidak dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Putro NS, Aini LQ, dan Abadi AL, 2014. Pengujian Konsorsium Mikrobial Antagonis Untuk Mengendalikan Penyakit Antraknosa Pada Cabai Merah Besar (*Capsicum annuum L.*). *Jurnal HPT* 2(4): 44-53
- Rangkuti EE, Suryanto D, Nurtjahja K, dan Munir E, 2014. Kemampuan Bakteri Endofit Tanaman Semangka Dalam Menekan Perkembangan Penyakit Bercak Daun Yang Disebabkan Oleh Jamur *Colletotrichum Sp.* *Jurnal HPT Tropika*. 14 (2): 170 - 177
- Sivan A, dan Chet ., 1989. Degradation of Fungal Cell Walls by Lytic Enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Journal of General Microbiology*.135: 675-682
- Suryanto D, Irawati N, dan Munir E, 2011. Potensi Bakteri Kitinolitik Lokal Asal Sumatera Utara dalam Menghambat Pertumbuhan Beberapa Jamur Patogen Tanaman. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Universitas Sumatera Utara*. 171-179
- Suzuki K, Sugawara N, Suzuki M, Uchiyama T, Katouno F, Nikaidou N, dan Watanabe T, 2002. Chitinases A, B, and C1 of *Serratia marcescens* 2170 Produced by Recombinant *Escherichia coli*: Enzymatic Properties and Synergism on Chitin Degradation. *Biosci Biotechnol Biochem* 66 (5): 1075-1083.
- Udiarto BK, Setyawati W, dan Suryaningsih E, 2005. *Pengenalan Hama dan Penyakit pada Tanaman Bawang Merah dan Pengendaliannya*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Wardhani HAK, (2010) Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang Sebagai Anti Nematoda Sista Kuning (*Globodera rostochiensis*). *Skripsi* tidak dipublikasikan. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN MMI Malang
- Zinniel DK, Lambrect P, Hariss NB, Feng Z, Kuczmariski D, Higley P, Ishimaru CA, Arunakumari A, Barletta RG, Vidaver AK, 2002. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Appl Environ Microbiol*. 68: 2198-2208