

The Abilities of Bacteria and Yeast Isolated from Vermicompost Water Extract to Inhibit *Alternaria solani* in vitro and Early Blight Disease on Tomato

Noor Istifadah*, Retno Anjani Putri & Sri Hartati

Departement of Plant Pests and Diseases, Agriculture Faculty, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, West Java 45363

*Corresponding Author : n.istifadah@unpad.ac.id

Received December 24, 2021; revised December 30, 2021; accepted January 04, 2022

ABSTRACT

Early blight disease (*Alternaria solani* Sor) is one of limiting factors in tomato production. Bacteria and yeast are potential for biocontrol of plant diseases. Sources to obtain biocontrol agents is water extract of organic matters. The objective of this study was to examine the abilities of bacteria and yeast isolated from vermicompost water extract in inhibiting the growth of *A. solani* in vitro and suppressing the pathogen infection in tomato fruits and leaves. Two types of vermicompost used in this study were cattle manure vermicompost and goat manure vermicompost. The isolation of bacteria and yeast from the vermicompost water extract resulted in 14 isolates, which were 10 isolates from cattle manure vermicompost and four isolates from goat manure vermicompost. Among the isolates, six isolates (three yeast and three bacterial isolates) inhibited the growth of *A. solani* in vitro by 42.8% – 79.1%. In tomato fruits, five isolates inhibited *A. solani* infection by 70.6% - 100.0%. In tomato plants, four isolates suppressed early blight disease in tomato leaves by 56.2% - 83.5%. The isolate that showed consistent effects in vitro as well as in vivo was bacterial isolate KB 3. This isolate was potential as biocontrol agent of tomato diseases caused by *A. solani*.

Keywords: Biocontrol, isolation, cattle manure, goat manure, tomato fruit

ABSTRAK

Kemampuan Isolat Bakteri dan Khamir Asal Air Rendaman Kascing untuk Menghambat *Alternaria solani* in vitro dan Penyakit Bercak Cokelat pada Tomat

Penyakit bercak cokelat (*Alternaria solani* Sor.) merupakan penyakit penting pada tanaman tomat. Bakteri dan khamir sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai agens biokontrol penyakit tanaman. Salah satu sumber untuk mendapatkan mikroba agens biokontrol adalah air rendaman bahan organik. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri dan khamir dari air rendaman kascing yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *A. solani* secara *in vitro* dan menekan infeksinya pada buah dan daun tomat. Bakteri dan khamir diisolasi dari air rendaman kascing berbahan dasar kotoran sapi dan kascing berbahan dasar kotoran domba. Hasil isolasi diperoleh 14 isolat yaitu 10 isolat dari air rendaman kascing berbahan dasar kotoran sapi dan empat isolat dari kascing berbahan dasar kotoran domba. Pada percobaan *in vitro* terdapat tiga isolat bakteri dan tiga isolat khamir yang menghambat pertumbuhan *A. solani* dengan kisaran penghambatan sebesar 42,8% – 79,1%. Pada percobaan di buah tomat, lima isolat yang diuji dapat menekan infeksi *A. solani* sebesar 70,6% - 100,0%. Pada tanaman tomat, dua isolat bakteri dan satu isolat khamir dapat menekan penyakit bercak cokelat 56,2% - 83,5%. Isolat yang menunjukkan efek penekanan yang konsisten pada percobaan *in vitro* dan *in vivo* adalah isolat bakteri KB3. Isolat ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens biokontrol penyakit karena *A. solani* pada tanaman tomat.

Kata Kunci: biokontrol, isolasi, buah tomat, kotoran sapi, kotoran domba

PENDAHULUAN

Tomat merupakan salah satu komoditas hortikultura penting di Indonesia. Buah tomat dapat dikonsumsi secara langsung sebagai buah atau campuran masakan maupun sebagai bahan untuk industri makanan seperti saus. Guna memenuhi pasokan buah tomat di pasaran, tanaman tomat banyak dibudidayakan di daerah dataran menengah maupun tinggi.

Kendala utama dalam budidaya tomat di antaranya adalah adanya serangan hama dan penyakit tanaman. Salah satu penyakit yang sering menimbulkan kerugian pada pertanaman tomat adalah penyakit bercak cokelat yang disebabkan oleh jamur *Alternaria solani* Sor. Jamur patogen ini dapat menginfeksi hampir semua bagian tanaman tomat antara lain pada daun, ranting atau batang maupun buah tomat. Gejala penyakit pada daun berupa bercak

konsentris berwarna kecokelatan dan jaringan di sekitarnya biasanya juga akan menguning (klorosis). Pada gejala lanjut, bercak akan membesar dan menyatu sehingga daun menjadi mengering. Pada buah yang terinfeksi tampak gejala berupa busuk meleuk yang pada kondisi lembab pada permukaannya tampak adanya lingkaran-lingkaran konsentris. Gejala biasanya muncul pada bagian dekat tangkai sehingga buah terinfeksi akan mudah gugur (Agrios, 2005; Adhikari *et al.*, 2017). Dilaporkan bahwa infeksi *A. solani* pada tanaman tomat dapat menimbulkan kerugian mencapai 79% (Chaerani & Voorrips, 2006).

Cara pengendalian yang sering digunakan untuk menekan penyakit bercak cokelat adalah penyemprotan dengan fungisida. Penggunaan pestisida termasuk fungisida secara terus menerus

dapat menimbulkan berbagai dampak negatif baik seperti pencemaran lingkungan, akumulasi residu pestisida serta timbulnya patogen yang resisten (Mahmood, 2016). Mempertimbangkan berbagai dampak negatif tersebut, maka perlu dikembangkan cara pengendalian yang ramah lingkungan di antaranya adalah pengendalian secara biologi atau biokontrol.

Bahan organik merupakan salah satu sumber mikroba agens pengendali biologi penyakit tanaman. Salah satu bahan organik yang berpotensi sebagai sumber mikroba menguntungkan adalah kascing yaitu hasil dekomposisi bahan organik oleh cacing tanah dan mikroba yang berasosiasi dengannya. Jenis cacing yang banyak dibudidayakan antara lain *Lumbricus*, *Pheretima*, dan *Periony*. Cacing tersebut merupakan bahan yang digunakan sebagai pakan ikan, bahan obat dan juga kosmetik. Pakan yang digunakan untuk budidaya cacing tanah dapat berupa kotoran sapi, kotoran kambing, sampah rumah tangga atau campuran berbagai bahan (Prihatman, 2000). Hasil dekomposisi cacing tanah bertekstur remah dengan kapasitas menahan air dan kandungan unsur hara yang tinggi serta mengandung mikroba yang menguntungkan. Oleh karena itu, kascing merupakan bahan pembenah tanah dan pupuk organik (Pathma & Sakthivel, 2012).

Selain sebagai pupuk organik, kascing atau air rendamannya (*vermicompost water extract*) juga dapat digunakan dalam pengendalian penyakit tanaman. Aplikasi kascing pada medium tanam dapat menekan berbagai penyakit tular tanah (Ersahin, 2011; Pathma & Sakthivel, 2012). Penyemprotan air rendaman kascing juga dapat menekan penyakit tular udara (Sarma *et al.*, 2010; Ersahin, 2011). Bahan dasar dalam pembuatan kascing dapat berpengaruh terhadap kemampuannya dalam menekan penyakit dan kandungan mikroba yang ada di dalamnya. Kascing berbahan dasar kotoran hewan sapi lebih baik dalam menekan penyakit layu *Fusarium* pada tanaman tomat dibandingkan yang berbahan dasar sampah rumah tangga (Istifadah, 2001).

Penekanan penyakit yang dihasilkan akibat aplikasi kascing pada umumnya karena kascing mengandung mikroba yang bersifat antagonistik terhadap patogen tanaman (Sarma *et al.*, 2010; Pathma & Sakthivel, 2012). Istifadah *et al.* (2021) mengisolasi jamur dari air rendaman kascing dan mendapatkan beberapa isolat yang dapat menghambat *A. solani* secara *in vitro* dan menekan penyakit bercak cokelat pada tanaman tomat. Penelitian yang dibahas di sini adalah potensi bakteri dan khamir isolat air rendaman kascing terhadap pertumbuhan *A. solani* secara *in vitro* dan penyakit bercak cokelat pada buah dan tanaman tomat.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Uji Patogenitas Jamur *A. solani*

Jamur patogen *A. solani* diisolasi dari daun

tomat yang bergejala penyakit bercak cokelat. Daun yang bergejala dipotong sekitar 1 cm² pada bagian batas jaringan sakit dan sehat. Potongan daun bergejala kemudian didesinfestasi dengan merendamnya pada larutan khloroks 2% selama dua menit, kemudian dalam alkohol 70% selama 30 detik. Setelah itu, potongan daun dikeringanginkan di atas *filter paper* steril dan setelah kering diletakkan pada petridish berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah diberi antibiotik chloramphenicol 0,1%. Koloni jamur yang tumbuh dan memiliki karakteristik koloni *A. solani* dimurnikan pada media PDA yang baru. Isolat jamur yang peroleh diuji patogenitasnya dengan cara menempelkan potongan biakan pada buah tomat yang telah dilukai.

Isolasi Mikroba dari Air Rendaman Kascing

Kascing yang digunakan dalam penelitian ini adalah kascing berbahan dasar kotoran sapi dan kascing berbahan dasar kotoran domba. Air rendaman kascing dibuat dengan mencampurkan kascing dengan air pada perbandingan (1:4, v/v). Campuran tersebut disimpan dalam wadah tertutup selama dua minggu dan setiap dua hari sekali diaduk. Sebelum digunakan air rendaman kascing disaring agar terpisah dari endapannya. Untuk mengisolasi bakteri dan khamir, air rendaman kascing diencerkan secara berseri. Isolasi dilakukan dengan mengambil suspensi pada pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶ sebanyak 200 µl kemudian ditambahkan media sebanyak 10 ml. Media yang digunakan antara lain *Malt Extract Agar* (untuk isolasi khamir) dan *Nutrient Agar* (untuk isolasi bakteri). Isolat mikroba yang memiliki karakteristik berbeda, dimurnikan pada medium agar yang baru.

Pengujian secara *in Vitro*

Pengujian kemampuan antagonisme bakteri dan khamir asal air rendaman kascing secara *in vitro* dilakukan dua tahap yaitu seleksi awal dan pengujian lanjutan. Pengujian dilakukan dengan metode *dual culture* yang mana isolat bakteri atau khamir digoreskan membentuk garis lurus pada medium *half strength* PDA dengan jarak 3 cm dari potongan biakan *A. solani*. Isolat yang pada seleksi awal menunjukkan penghambatan lebih dari 50%, diuji kembali dengan menggunakan rancangan acak lengkap untuk mengonfirmasi kemampuannya.

Pengamatan dilakukan pada tujuh hari setelah inokulasi dengan cara mengukur jari-jari koloni *A. solani* yang ke arah koloni bakteri atau khamir. Lebar zona bening yang terbentuk antara koloni patogen dengan koloni bakteri atau khamir juga diukur.

Pengujian pada Buah Tomat

Isolat bakteri dan khamir hasil seleksi kemudian diuji kemampuannya untuk menghambat infeksi *A. solani* pada buah tomat. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan empat ulangan. Buah tomat yang digunakan dicuci dengan air mengalir, kemudian permukaannya

didesinfeksi dengan alkohol 70%. Bagian buah yang akan diinokulasi dilukai dengan ujung jarum steril. Potongan biakan jamur *A. solani* (diameter 0,5 cm) ditumpukkan secara berhadapan pada potongan biakan bakteri atau khamir (diameter 0,5 cm), kemudian dilekatkan pada jaringan buah tomat yang telah dilukai dengan bantuan selotip dan *cling wrap*. Pada kontrol, potongan biakan patogen ditumpukkan pada potongan media agar (Istifadah dkk., 2020). Buah tomat yang telah diberi perlakuan ditempatkan pada empat kotak plastik berbeda yang merupakan ulangannya. Guna menjaga kelembaban, di setiap pojok dari kotak diberi kapas basah. Potongan biakan patogen dan selotip dibuka lima hari setelah inokulasi, ketika buah tomat pada kontrol telah mulai bergejala. Diameter gejala yang terbentuk kemudian diukur dan dibandingkan dengan kontrol untuk menentukan persentase penghambatannya.

Pengujian Mikrob pada Tanaman Tomat

Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan perlakuan isolat mikrob antagonis, kontrol dan fungisida (berbahan aktif mancozeb) sebagai pembanding. Perbanyakkan bakteri atau khamir yang digunakan pada percobaan ini dilakukan dengan cara berikut ini. Biakan bakteri atau khamir dari agar miring ditambah 10 ml air steril, kemudian suspensi dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan *vortex stirrer*. Suspensi sel bakteri atau khamir tersebut sebanyak 500 μ l diratakan ke seluruh permukaan medium *half strength* PDA agar yang ada pada petridish. Biakan kemudian diinkubasikan selama tiga hari untuk bakteri dan lima hari untuk khamir. Setelah itu, suspensi bakteri atau khamir yang digunakan untuk perlakuan tanaman tomat dibuat dengan menambahkan 20 ml air steril yang telah ditambah Tween 80 (0,1%) ke dalam petridish yang berisi biakan bakteri atau khamir. Biakan yang menutupi seluruh permukaan agar dilepaskan dengan bantuan jarum ose, kemudian suspensi dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Suspensi yang diperoleh dihomogenkan dengan *vortex stirrer*. Konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan adalah 10^7 cfu/ml, sedangkan untuk suspensi khamir 10^7 sel/ml.

Sehari sebelum inokulasi patogen, anak daun majemuk paling ujung (anak daun terlebar) pada daun keempat, kelima dan keenam dari tanaman tomat (berumur delapan minggu) disemprot dengan suspensi mikrob yang diuji sampai merata. Tanaman yang telah diberi perlakuan kemudian disungkup agar terjaga kelembaban di sekitarnya. Pada perlakuan kontrol dilakukan penyemprotan dengan menggunakan air steril, sedangkan pada perlakuan pembanding daun disemprot dengan suspensi fungisida dengan konsentrasi anjuran. Pada bagian daun yang akan diinokulasi patogen dilukai dengan menggunakan ujung jarum steril. Potongan biakan patogen (diameter

0,5 cm) diletakkan di atas selotip kemudian ditempelkan pada bagian yang telah dilukai dengan bantuan *plastic wrap*. Tanaman tomat yang telah diinokulasi patogen disungkup plastik selama dua hari. Biakan patogen dilepas lima hari setelah inokulasi ketika daun pada kontrol telah menunjukkan gejala penyakit (Istifadah dkk., 2020).

Luas gejala yang muncul pada daun yang diinokulasi dihitung menggunakan milimeter blok. Pengamatan dilakukan setiap dua hari sekali. Data luas gejala digunakan untuk perhitungan *Area Under The Disease Progress Curve* (AUDPC) (Campbell & Madden, 1990). Persentase penekanan penyakit dihitung berdasarkan nilai AUDPC pada perlakuan mikrob atau fungisida dibandingkan dengan kontrol.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) *Version* 21. Apabila hasil berbeda nyata antar perlakuan, dilakukan uji lanjut dengan Tukey's *Honest Significant Difference* (HSD) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghambatan Patogen secara *in Vitro*

Isolasi mikrob dari air rendaman kascing menghasilkan 14 isolat mikrob yang koloninya menyerupai koloni bakteri atau khamir. Air rendaman kascing berbahan dasar kotoran sapi menghasilkan 10 isolat, sedangkan air rendaman kascing yang berasal dari kotoran kambing menghasilkan empat isolat. Perbedaan jumlah dan jenis isolat yang terisolasi dari kascing dapat dipengaruhi oleh jenis cacing dan pakan yang digunakan dalam pembuatan kascing (Liou, *et al.*, 2014). Istifadah (2001) juga menemukan bahwa kascing berbahan dasar kotoran sapi menghasilkan jumlah isolat mikrob yang lebih banyak daripada kascing berbahan dasar sampah rumah tangga.

Pada seleksi awal kemampuan antagonisme secara *in vitro* menunjukkan bahwa delapan isolat hanya dapat menghambat pertumbuhan *A. solani* sampai 12,8%, sementara enam isolat lainnya menunjukkan tingkat penghambatan pertumbuhan patogen lebih dari 50%. Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, diketahui bahwa tiga isolat merupakan khamir dan tiga isolat lainnya merupakan bakteri. Isolat yang pada seleksi awal dapat menghambat pertumbuhan patogen lebih dari 50%, diuji kembali untuk mengonfirmasi kemampuan antagonistiknya. Pada pengujian lanjutan, isolat mikrob yang diuji dapat menghambat pertumbuhan *A. solani* sebesar 43,8% – 79,1% (Tabel 1). Pada pengujian yang kedua ini, ternyata khamir isolat SB 2 menunjukkan tingkat penghambatan kurang dari 50% sehingga isolat ini tidak digunakan dalam pengujian secara *in vivo*.

Tabel 1. Kemampuan bakteri antagonis asal kascing untuk menghambat *A. solani* secara *in vitro*

Perlakuan	Jari-jari Patogen (mm)	Penghambatan (%)	Zona Hambat (mm)
Kontrol	14,33 b	0,0	0,00
Isolat SB 1 (khamir)	5,33 a	62,8	4,7
Isolat SB 2 (khamir)	6,23 a	42,8	2,7
Isolat SB 10 (khamir)	4,67 a	67,4	3,0
Isolat SB 7 (bakteri)	5,33 a	62,8	3,3
Isolat KB 2 (bakteri)	3,00 a	79,1	5,3
Isolat KB 3 (bakteri)	4,33 a	69,8	3,0

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda nyata menurut uji Tukey HSD pada taraf 5%.

Penghambatan pertumbuhan patogen oleh isolat bakteri dan khamir yang diuji diduga karena adanya mekanisme antibiosis. Hal ini diindikasikan dengan adanya zona bening di antara koloni mikroba antagonis dan koloni patogen yang lebarnya berkisar antara 2,7-5,3 mm (Tabel 1). Zona hambat tersebut terbentuk karena adanya senyawa antimikrob yang terdifusi ke media sehingga mikroba pada bagian tersebut tidak tumbuh. Khamir (Freimoser et al., 2019) dan bakteri (Raaijmakers et al., 2002) dikenal dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan patogen.

Berdasarkan lebar zona hambat yang terbentuk, sebenarnya kemampuan antibiosis isolat-isolat yang diuji masih dalam kategori lemah karena masih kurang dari 6 mm (Morales et al., 2003). Oleh karena itu, selain adanya mekanisme antibiosis penghambatan jamur patogen juga terjadi karena

adanya kemampuan kompetisi dari isolat bakteri atau khamir yang diuji. Beberapa isolat koloninya tampak meluas secara cepat sehingga dapat menyaingi patogen dalam mendapatkan ruang dan nutrisi untuk tumbuh.

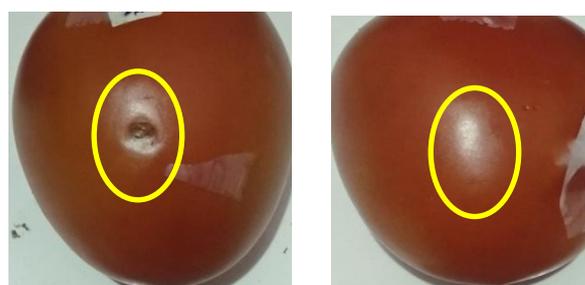
Penghambatan Infeksi *A. solani* pada Buah Tomat

Hasil pengujian pada buah tomat menunjukkan bahwa bakteri dan khamir hasil isolasi dari air rendaman kascing dapat menekan perkembangan penyakit akibat infeksi *A. solani* pada buah tomat sebesar 70,6%-100,0%. Isolat yang menunjukkan penekanan penyakit sampai 100% adalah satu isolat khamir dan dua isolat bakteri (Tabel 2). Buah tomat yang diberi perlakuan isolat tersebut tidak menunjukkan adanya gejala pembusukan, padahal jaringan buahnya telah dilukai dan diinokulasi patogen (Gambar 1).

Tabel 2. Pengaruh bakteri dan khamir asal air rendaman kascing terhadap infeksi *A. solani* pada buah tomat (5 hari setelah inokulasi)

Perlakuan	Diameter Gejala (mm)	Penghambatan (%)
Kontrol	4,3 b	0,0
Isolat SB 1 (khamir)	1,3 a	76,5
Isolat SB 10 (khamir)	0,0 a	100,0
Isolat SB 7 (bakteri)	0,0 a	100,0
Isolat KB 2 (bakteri)	1,3 a	70,6
Isolat KB 3 (bakteri)	0,0 a	100,0

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda nyata % menurut uji Tukey HSD pada taraf 5%.



Gambar 1. Gejala infeksi *A. solani* pada buah tomat. (a) Kontrol; (b) Perlakuan dengan isolat bakteri KB3.

Sebenarnya pelukaan pada buah tomat sangat mendukung penetrasi jamur patogen ke dalam jaringan. Namun demikian, adanya mikroba antagonis yang diaplikasikan dapat menghambat pertumbuhan dan infeksi patogen. Apabila didasarkan pada pembentukan zona hambatnya pada uji *in vitro*, sebenarnya potensi antibiosis isolat bakteri dan khamir yang diuji masih dalam kategori lemah, tapi ketika diuji pada buah tomat terdapat dua isolat bakteri dan satu isolat khamir yang menghambat infeksi *A. solani* pada buah tomat sampai 100%. Penghambatan ini kemungkinan dikarenakan adanya faktor kompetisi. Ketiga isolat tersebut mempunyai pertumbuhan yang cepat dan meluas sehingga dapat berkompetisi dengan patogen dalam mengolonisasi jaringan inang dan mencegah terjadinya infeksi. Freimoser *et al.* (2019) menyatakan bahwa khamir seperti *Sacharomyces cerevicae* dapat mengolonisasi jaringan buah sehingga membentuk lapisan yang dapat menghalangi penetrasi dan juga menghambat pertumbuhan jamur patogen. Ray *et al.* (2011) juga menyatakan bahwa khamir dan bakteri antagonis yang pertumbuhannya cepat dapat mengolonisasi jaringan dan mengambil nutrisi lebih cepat daripada jamur

patogen sehingga menghambat pertumbuhan patogen tersebut. Isolat mikroba antagonis yang efektif dalam menghambat infeksi *A. solani* pada buah tomat pada penelitian ini berpotensi untuk digunakan dalam pengendalian penyakit pascapanen. Pemanfaatan khamir dan bakteri dalam pengendalian penyakit pascapanen telah banyak dikembangkan (Ray *et al.*, 2011).

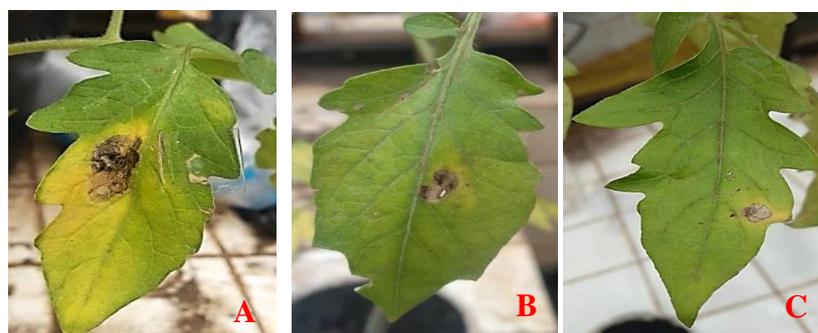
Penghambatan terhadap Penyakit Bercak Cokelat pada Tanaman Tomat

Hasil percobaan pada tanaman tomat menunjukkan bahwa di antara lima isolat mikroba antagonis yang diuji, hanya empat isolat yang dapat menghambat perkembangan penyakit bercak cokelat pada tanaman tomat sebesar 55,9% - 83,4% (Tabel 3). Daun tanaman tomat yang diinokulasi khamir atau bakteri antagonis ini hanya menunjukkan perkembangan bercak yang kecil, sedangkan pada daun yang disemprot menggunakan air (kontrol) gejala penyakit bercak cokelat bertambah luas dan jaringan di sekitarnya menguning atau khlorosis (Gambar 2).

Tabel 3. Pengaruh isolat bakteri dan khamir asal air rendaman kascing terhadap perkembangan penyakit bercak cokelat pada tanaman tomat

Perlakuan	Nilai AUDPC	Penghambatan (%)
Kontrol +	194,9 d	0,0
Pestisida	57,6 a	70,5
Isolat SB 1 (khamir)	51,4 a	73,6
Isolat SB 10 (khamir)	160,6 c	17,6
Isolat SB 7 (bakteri)	85,9 b	55,9
Isolat KB 2 (bakteri)	32,4 a	83,4
Isolat KB 3 (bakteri)	40,7 a	79,1

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey. pada taraf 5%. Nilai AUDPC dihitung berdasarkan data luas bercak (mm^2) dari lima kali pengamatan setiap dua hari sekali.



Gambar 2. Gejala penyakit bercak cokelat pada daun tomat: (A) Kontrol; (B) Perlakuan dengan isolat khamir SB1; (C) Perlakuan dengan isolat bakteri KB 2

Kemampuan isolat bakteri dan khamir dalam menekan penyakit bercak cokelat pada tanaman tomat kemungkinan dapat melalui berbagai mekanisme.

Mikroba antagonis yang diaplikasikan sebelum inokulasi patogen dapat mengolonisasi permukaan daun sehingga menghambat perkecambahan spora

jamur patogen (Sangiogo *et al.*, 2018). Isolat mikroba yang dapat menekan penyakit bercak cokelat ini dapat menghasilkan zona hambat secara *in vitro* sehingga kemungkinan penekanan penyakit dapat pula dikarenakan dihasilkannya metabolit sekunder yang dapat menghambat patogen. Legein *et al.* (2020) menyatakan bahwa mekanisme yang terlibat dalam penekanan penyakit pada filosfer di antaranya adalah adanya metabolit sekunder yang bersifat antimikrob.

Selain karena adanya antagonisme secara langsung, penekanan penyakit bercak cokelat oleh isolat bakteri dan khamir asal air rendaman kascing dapat pula karena adanya kemampuan isolat dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit. Kemampuan bakteri (Pieterse *et al.*, 2014) dan khamir (Freimoser *et al.*, 2019) untuk menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit telah banyak dilaporkan. Hasil penelitian Istifadah & Herawati (2021) menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi dari air rendaman bahan organik ada yang dapat menginduksi ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit bercak cokelat yang dindikasikan dengan pemisahan tempat antara mikroba antagonis dengan patogennya serta adanya peningkatan aktivitas β -glucanase dan chitinase.

Pada percobaan di tanaman tomat, terdapat satu isolat khamir SB 10 yang tidak menunjukkan efek penekanan, padahal pada pengujian *in vitro* dapat menghambat *A. solani* bahkan pada buah tomat dapat menekan terjadinya infeksi *A. solani* sampai 100%. Hal ini terjadi kemungkinan karena isolat tersebut tidak mampu beradaptasi dan berkembang pada daun tomat secara baik sehingga kemampuan antagonistiknya tidak terlihat secara optimal. Besset-Manzoni *et al.* (2019) melaporkan bahwa antagonis yang menunjukkan kemampuan antagonisme yang baik pada uji *in vitro* tidak selalu efektif ketika diuji pada tanaman. Sebaliknya, mikroba yang kurang efektif dalam pengujian *in vitro* ternyata dapat efektif menekan penyakit pada tanaman. Hal ini karena mekanisme penekanan penyakit selain melalui antagonisme langsung dapat pula secara tidak langsung melalui induksi ketahanan tanaman.

Hasil percobaan secara keseluruhan menunjukkan bahwa air rendaman kascing merupakan sumber mikroba yang bersifat antagonistik terhadap patogen tanaman. Beberapa isolat bakteri dan khamir yang diisolasi dari air rendaman kascing dapat menghambat pertumbuhan *A. solani* secara *in vitro* dan infeksinya pada buah dan daun tomat. Pada penelitian ini, tidak semua isolat yang dapat menghambat patogen secara *in vitro* dan menekan infeksi pada buah juga efektif menekan penyakit bercak cokelat pada daun tomat. Isolat yang konsisten menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan *A. solani* dan perkembangan infeksinya adalah isolat bakteri KB 3. Isolat ini dapat menekan infeksi *A. solani* pada buah sampai 100% dan menekan penyakit bercak cokelat pada daun tomat sebesar 79,1%. Isolat ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens

biokontrol penyakit karena *A. solani* pada tanaman tomat.

KESIMPULAN

Isolasi dari air rendaman kascing menghasilkan 14 isolat bakteri dan khamir, enam isolat di antaranya dapat menghambat pertumbuhan *A. solani* secara *in vitro* sebesar 42,8%-79,1%. Pada uji di buah tomat, tiga isolat bakteri dan dua isolat khamir dapat menghambat infeksi *A. solani* pada buah tomat sebesar 70,6%-100%. Pada pengujian di tanaman tomat terdapat empat isolat yang dapat menekan penyakit sebesar 56,2%-83,7%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini adalah salah satu bagian dari serangkaian penelitian dengan skema "Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT)" yang didanai oleh DRPM-DIKTI.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari P, Oh Y, & Panthee DR. 2017. Current status of early blight resistance in tomato: an update. *International Journal Molecular Science*. 18:1-22.
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition, Academic Press. San Diego, California.
- Besset-Manzoni Y, Joly P, Brutel A, Gerin F, Soudière O, Langin T, & Prigent-Combaret C. 2019. Does *in vitro* selection of biocontrol agents guarantee success in planta? A study case of wheat protection against *Fusarium* seedling blight by soil bacteria. *PLoS One*. 5: 14 (12): e0225655. doi: 10.1371/journal.pone.0225655.
- Campbell LC & Madden VL. 1990. *Introduction Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Son. USA.
- Chaerani R & Voorrips RE. 2006. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. *J. Gen. Plant Pathol*. 72: 335-347.
- Ersahin Y. 2010. The use of vermicompost products to control plant disease and pests. *Biology of Earthworms*. 191-213. DOI: 10.1007/978-3-642-14636-7_12.
- Freimoser FM, Rueda-Mejia MP, Tilocca B, & Migheli Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World J Microb Biot*. 35:154.
- Istifadah N. 2001. Kemampuan kascing dalam menekan perkembangan penyakit layu *Fusarium* pada tanaman tomat. *Agrikultura*. 12: 16-21.
- Istifadah N & Herawati L. 2021. The potential of microbes isolated from spent substrate of shiitake and oyster mushrooms to induce resistance against early blight disease in tomatoes. *Advances in Biological Sciences Research*. 15: 80-85

- Istifadah N, Novilaressa PG, Widiyanti F, & Hartati S. 2020. Keefektifan bakteri dan khamir asal air rendaman kompos dalam menekan perkembangan penyakit bercak cokelat (*Alternaria solani* Sord.) pada tomat. *Jurnal Agrikultura*. 31 (1): 52-60.
- Istifadah N, Putri RA, Widiyanti F, & Hartati S. 2021. The potential of fungal isolates from vermicompost water extract to inhibit *Alternaria solani* in vitro and suppress early blight disease in tomato. *Advances in Biological Sciences Research*. 13: 46-50.
- Kohl J, Koolnar R, & Ravensberg WJ. 2019. Mode of action of microbial biological plant disease: relevance beyond efficacy. *Front. Plant Science*. 10:845.
- Leguin M, Smets W, Vandenhoevel D, Eilers T, Muyschondt B, Prinsen E, Samson R & Lebeer S. 2020. Modes of action of microbial biocontrol in the phyllosphere. *Front. Microbiol*. 11:1619. doi: 10.3389/fmicb.2020.01619.
- Liou G, Strauss S, McClean A, & Kluepfel D. 2014. The Identification of Bacteria Species in Vermicompost. USDA Agricultural Research Service.
- Mahmoud I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, & Hakeem KR. 2016. Effects of pesticides on
- Akhtar MS, Abdullah SNA (Eds.) *Plant, Soil and Microbes*. Volume 1: Implications in Crop Science. Springer International. Switzerland.
- Morales G, Sierra P, Mancilla, Parades A, Loyola LA, Gallardo O, Borquez J. 2003. Secondary metabolites from four medicinal plants from Northern Chile, antimicrobial activity, and biotoxicity against *Artemia salina*. *Journal Chile Chem*. 48(2) doi: 10.4067/S0717-97072003000200002.
- Pathma J & Sakthivel N. 2012. Molecular and functional characterization of bacteria isolated from straw and goat manure based vermicompost. *Applied soil ecology*. 70: 33-47.
- Pieterse CMJ, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, VanWees SCM, & Bakker PAHM. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol*. 52:347-75.
- Prihatman K. 2000. *Budidaya Cacing Tanah*. Deputi Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Iptek, Kemeristek. Jakarta.
- Raaijmakers JM & Souza MJD. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *AntoniLeeuwenhoek Int J*. 81:537-547.
- Ray RC, Swain MR, Smita H., Panda SH, and Lata. 2011. Microbial Control of Postharvest Diseases of Fruits, Vegetables, Roots, and Tubers. Pp 311-355 in Singh A, Parmar N, Kuhad RC (eds.). *Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol, Soil Biology*. Springer-Verlag, Berlin (Heidelberg).
- Sangiogo M, Rodriguez DP, Moccellini R, Bermudez JMM, Correa BO, & Moura AB. 2018. Foliar spraying with bacterial biocontrol agents for the control of common bacterial blight of bean. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 53(10). doi: 10.1590/S0100-204X2018001000003.
- Sarma BK, Singh P, Pandey SK, & Singh HB. 2010. Vermicompost as modulator of plant growth and disease suppression. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 4 (Spl. Issue 1): 58-66.

