

SCREENING ANTAGONISTIK ACTINOBACTERIA SEBAGAI AGEN BIOKONTROL TERHADAP *Ganoderma boninense*

(*Screening of Antagonistic Actinobacteria as a Biocontrol Agent against Ganoderma boninense*)

Hasnaul Maritsa¹, Hesti Riany^{2*}

¹Universitas Jambi, Jl. Raya Jambi-Ma. Bulian KM 15

²UIN Sultan Thaha Saifuddin Jambi, Jl Raya Jambi-Ma. Bulian KM 16

*Corresponding author: hestiriany@uinjambi.ac.id

ABSTRACT

*Actinobacteria (Actinomycetes) is a unique group among microbe and prokaryotes. They have both characteristics of fungi and bacteria. Actinobacteria could produce a wide range of secondary metabolites such as antibiotics, antifungal, antiprotozoal, antiviral, anticholesterol, antihelminth, anticancer, and immunosuppressant. It may cause a better combination as a biocontrol agent for plants. This research aimed to investigating potential actinomycetes as biocontrol agents of fungal plant pathogens, especially *Ganoderma boninense*. The method in this research consists of a few steps. Those are samples collection from soil and water in the primer forest and plantation soil (palm oil), samples isolation, actinobacteria characterization, and evaluation of the antifungal activity. The result has shown that 29 fungal isolates were found in this study. The percent growth inhibition (PGI) of actinobacteria isolates varied from 0-81,58%. And their inhibition mechanisms were antibiosis and competition.*

Keywords: *actinomycetes, antimicrobial, fungal plant pathogen*

ABSTRAK

*Actinobacteria (Actinomycetes) adalah kelompok unik dari kelompok mikroba dan prokariota. Actinobacteria memiliki karakteristik jamur dan bakteri dan dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti antibiotik, antijamur, antiprotozoal, antivirus, antikolesterol, antihelminth, antikanker, serta imunosupresan. Kemampuannya ini dapat dimanfaatkan untuk campuran pada agen biokontrol tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktinomisetes sebagai agen biokontrol jamur patogen tanaman, khususnya *Ganoderma boninense*. Metode dalam penelitian ini terdiri dari beberapa langkah, yaitu pengambilan sampel dari tanah dan air di hutan primer dan tanah perkebunan (kelapa sawit), isolasi sampel, karakterisasi aktinobakteri, dan evaluasi aktivitas antijamur. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 29 isolat jamur yang ditemukan. Persentase hambatan pertumbuhan (PGI) isolat aktinobakteri bervariasi antara 0-81,58%. Dan mekanisme penghambatannya adalah antibiosis dan kompetisi.*

Kata kunci: *actinomycetes, antimikroba, jamur patogen tanaman*

Diterima, 16 Januari 2023

Disetujui, 31 Maret 2023

Online, 31 Maret 2023

PENDAHULUAN

Aktinobakteria merupakan mikroorganisme yang umum dijumpai pada berbagai jenis tanah dan memiliki populasi terbesar kedua setelah bakteri dan berperan dalam siklus karbon dengan mendekomposisi bahan organik tanah, sehingga mampu meningkatkan produktivitas tanaman (Araujo *et al.*, 2020). Aktinobakteria memiliki kemampuan dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik (Jose *et al.*, 2016), antitumor, antiprotozoa serta antifungi (Febrianti *et al.*, 2021), dan berpotensi digunakan sebagai biokontrol terhadap patogen tanaman (Zarandi *et al.*, 2022).

Ganoderma boninse diketahui merupakan jamur penyebab penyakit pangkal busuk kelapa sawit (Sujarit, K., et al. 2020) merupakan kendala utama dalam budidaya sawit (Budi *et al.*, 2022). Jazuli *et al.* (2022) melaporkan bahwa, Indonesia merupakan salah satu negara produksi kelapa sawit, diikuti oleh negara Thailand, Kolombia, dan Nigeria. Produksi minyak sawit dunia telah mencapai sekitar 72,27 juta meter ton perkubik dari tahun 2020 hingga 2021, dengan Malaysia dan Indonesia sebagai pengekspor minyak sawit terkemuka di dunia. Namun, munculnya Penyakit pangkal busuk akibat Ganoderma boninense dapat menyebabkan kematian kelapa sawit umur produktif.

Actinobacteria dapat membentuk populasi yang stabil dan persisten di berbagai habitat dan ekosistem terutama di tanah. Tetapi mereka telah didistribusikan dalam ekosistem perairan dari air tawar ke sedimen laut dalam juga (Anandan *et al.* 2016). Dan beberapa diantaranya terdapat pada lingkungan ekstrim seperti pada tanah alkalin (pH 10-12), tanah danau soda (pH 10), tanah Antartika (9-12°C), hutan masam, tanah gambut, lanau kawah dan tanah gurun (George *et al.*, 2012; Bhatti *et al.*, 2017; Ghorbani-Nasrabadi *et al.*, 2013).

Actinobacteria merupakan mikroorganisme yang paling banyak ditemukan di tanah (Trivedi *et al.*, 2020; Goh *et al.*, 2022) keberadaaan mikrobioma tanah salah satunya Actinobacteria berperan secara kritis kesehatan dan fertilitas tanah serta menjaga keberlanjutan produktifitas tanaman dan tanah dan memicu pertumbuhan tanaman dengan menekan pertumbuhan patogen tanaman. Metabolit sekunder yang dihasilkan menjadi kombinasi yang lebih baik sebagai agen biokontrol untuk tanaman menstimulasi pertumbuhan tanaman (Sarma & Salwan, 2018).

Kemampuan actinobacteria untuk hidup pada kondisi yang berbeda akan membawa banyak keuntungan jika diaplikasikan pada lingkungan tanaman dan tanah. Karena selain itu actinobacteria dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder, hal ini dapat menyebabkan kombinasi yang lebih baik sebagai agen biokontrol untuk tanaman (Costa *et al.*, 2013). Actinobacteria dapat mengurangi penggunaan senyawa kimia di perkebunan dan pertanian. Karena actinobacteria juga terkenal memainkan peran penting dalam siklus bahan organik, menghambat patogen tanaman, menghasilkan beberapa enzim ekstraseluler, berkontribusi dalam penyanga tanah, mengontrol fiksasi nitrogen,

mendegradasi senyawa dengan berat molekul tinggi, dan banyak fungsi biokontrol lainnya (Bhatti et al., 2017).

Jambi sebagai salah satu provinsi yang memiliki perkebunan besar (kelapa sawit, karet dan kopi) (Dinas Perindustrian dan Perdagangan 2017) dan lahan pertanian dapat menjadi habitat yang baik bagi patogen jamur tanaman. Selain itu juga memiliki banyak jenis habitat seperti hutan primer, perkebunan, pertanian, danau air tawar, gambut, dan hutan karet yang potensial dalam agen pencarian actinobacteria. Akan tetapi, potensinya sebagai penghasil senyawa bioaktif baru terutama sebagai antijamur untuk perkebunan dan pertanian Jambi masih perlu diteliti. Dengan demikian dilakukan penelitian terkait screening actinobacteria terhadap *Ganoderma boninse* dari sumber habitat tanah hutan Jambi.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Tanah

Sampel yang diambil adalah tanah dan sedimen dari sumber air di tiga wilayah yang berbeda, yaitu hutan primer (Hutan Hujan Harapan), Perkebunan Kelapa Sawit (PTPN VI) dan perkebunan Kopi di Lahan Gambut. Sebanyak 25 g tanah (kedalaman 2-5 cm) dan 100 ml air Tanah dikumpulkan dari setiap habitat. Sampel diangkut dalam cool box dan dibawa ke laboratorium. Sampel kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan lebih lanjut.

Isolasi Actinobacteria

Sebanyak 1 g tanah atau 1 ml air ditambahkan ke dalam 9 ml larutan fisiologi. Sebarkan 1 ml larutan dalam *Starch-Casein Agar* (SCA) dan *Raffinose Histidin Agar* (RHA) yang telah ditambahkan nistatin (antijamur). Isolat Inkubasi pada suhu 28°C sekitar 4-14 hari. Isolat yang muncul berbeda akan dimurnikan menggunakan teknik *streak plate* pada SCA dan diinkubasi pada suhu 28°C.

Evaluasi Aktivitas Antijamur

Aktivitas antijamur dari semua isolat murni ditentukan dengan uji antagonis terhadap jamur patogen (*Ganoderma boninense*) dan menggunakan *Potato Dextrose Agar* (PDA). Setelah 24 jam inkubasi (suhu kamar), zona hambat antara actinomycetes dan jamur dicatat dalam mm dan Persentase penghambatan pertumbuhan (PGI) dalam persentase menggunakan persamaan berikut:

$$\% PGI = \frac{(KR - R1)}{KR} \times 100$$

di mana KR menyatakan jarak dari titik inokulasi ke batas koloni pada cawan kontrol, dan R1 jarak pertumbuhan jamur dari titik inokulasi ke batas koloni pada cawan yang diberi perlakuan dalam arah antagonis. PGI dikategorikan pada skala kategori aktivitas antagonis dari 0 sampai 4, di mana 0 = tidak ada penghambatan; 1 = 1-25% inhibisi sangat lemah; 2

= 26-50% inhibisi lemah; 3 = 51-75% daya hambat kuat; 4 = 76-100% penghambatan sangat kuat (modifikasi Živković et al., 2010)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Faktor lingkungan pengambilan sampel

Penelitian ini dilakukan di tiga sumber habitat yang berbeda yaitu Harapan Rainforest, perkebunan kelapa sawit, dan perkebunan kopi di kawasan lahan gambut. Actinobacteria diisolasi dari sedimen tanah dan air tawar dari masing-masing daerah. Laju temperatur menunjukkan bahwa perkebunan kopi memiliki temperatur tertinggi baik di dalam tanah maupun sedimen diikuti oleh perkebunan kelapa sawit dan hutan hujan. Perkebunan Kopi juga menunjukkan kelembaban tertinggi dibandingkan kelembaban di tempat lain. Tapi lokasi ini menunjukkan pH terendah dibandingkan pH dari situs lain, terutama pH di situs sedimen (Tabel 1). Hal ini dipengaruhi oleh bahan organik yang dikandung oleh lahan gambut. Faktor lingkungan yang berbeda dapat disebabkan oleh perbedaan karakter Actinobacteria yang diisolasi. Jumlah Actinobacteria yang terkoleksi dari area tersebut sebanyak 29 isolat. Terdapat 12 isolat dari tanah dan sedimen hutan, 10 isolat dari tanah dan sedimen perkebunan kelapa sawit dan 7 isolat dari perkebunan kopi (Tabel 1)

Tabel 1. Faktor Lingkungan Lokasi Pengambilan Sampel

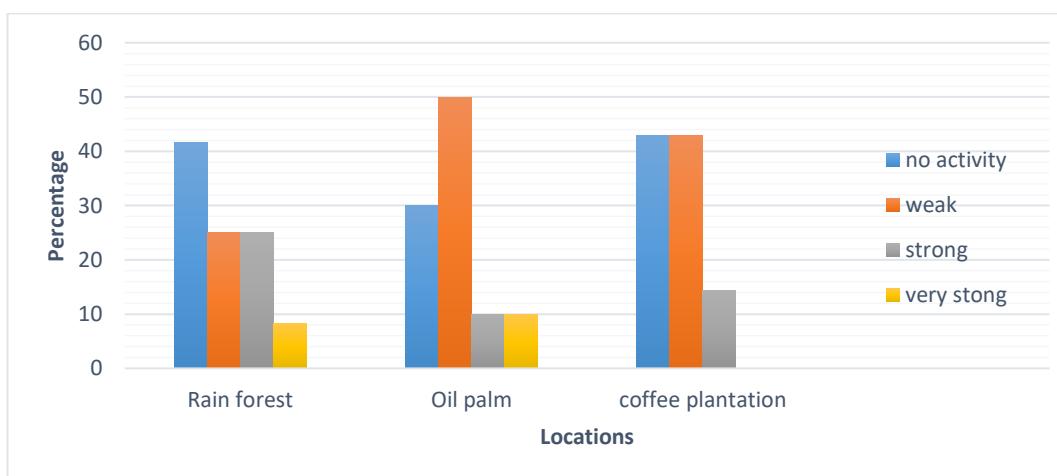
Lokasi	Kode	Temp. (°C)	Hum (%)	pH	Faktor Fisik Lingkungan		Alt. (M)	Depth. (cm)
					Koordinat			
Hutan Harapan								
T1	Soil	HT	27	45	6	S00°18.823' E103°21.462'	77	20
T2	Soil	HT	27	100	5.8	S00°10.729' E103°14.446'	67	20
T3	Soil	HT	70	27	6	S02°11.393' E103°20.662'	47	13
S1	Sediment	HS	27	100	6	S02°10.722' E103°19.979'	74	50
S2	Sediment	HS	27	70	4.8	S02°11.394' E103°20.679'	47	23
S3	Sediment	HS	27	50	6	S02°11.401' E103°20.683'	47	30
PTPN VI								
T1	Soil	T	29	62	6.9	S01°43.436' E103°24.408'	66	20
T2	Soil	T	28	62	6.8	S01°42.453' E103°24.665'	74	20
T3	Soil	T	28	70	6.5	S01°43.153' E103°25.066'	65	20
S1	Sediment	S	28	79	6.9	S01°40.886' E103°24.032'	43	20
S2	Sediment	S	28	70	6.2	S01°40.887' E103°24.032'	43	30
S3	Sediment	S	26	60	6	S01°40.886' E103°24.032'	45	40
Kopi Lahan Gambut								
T1	Soil	KT	29.9	100	6	S00°58.838' E103°21.479	15	20
T2	Soil	KT	32.5	100	6.3	S00°58.852' E103°21.481'	2	20
T3	Soil	KT	32	100	6.2	S00°58.867' E103°21.486'	3	25
S1	Sediment	KS	31	100	5.4	S00°58.821' E103°21.462'	5	22
S2	Sediment	KS	32	100	5.4	S00°58.823' E103°21.463'	6	35
S3	Sediment	KS	33	100	4.9	S00°58.821' E103°21.461'	5	39

Sedikit berbeda dengan Schneider (2015) yang menunjukkan bahwa perkebunan kelapa sawit memiliki keragaman mikroba yang paling tinggi dibandingkan dengan habitat lainnya. Hal ini dimungkinkan karena metode konvensional yang digunakan dalam penelitian ini. Metode konvensional memiliki kelemahan untuk mengisolasi dan mendeteksi mikroorganisme.

Firmicutes, Actinomycetes, a-Proteobacteria, dan b-Proteobacteria adalah filum bakteri yang banyak ditemukan di dalam tanah dan kelompok bakteri yang dominan di dalam tanah adalah Actinobacteria atau diketahui merupakan kelompok Actinomycetes. Keragaman bakteri dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti pH, suhu, kelembaban, salinitas dan kandungan organik habitatnya, terutama Actinomycetes. Isolat ini dapat hidup pada kisaran pH sekitar 5-9 dan optimum pada pH netral (Saadoun *et al.*, 2017). Beberapa Actinobacteria dapat diisolasi dari pH rendah (3,5-6,5 atau optimum 4,5-5,5). Namun pada penelitian ini Actinobacteria dari pH rendah (sedimen lahan gambut) tidak dapat diisolasi (Gambar 1). Semua isolat Actinobacteria pada penelitian ini hampir diisolasi dari pH netral dan Zanane *et al.*, (2018) juga mengatakan bahwa bakteri Actinobacteria memiliki kecenderungan hidup pada pH netral yaitu sekitar 6,5-8.

Antagonis Actinobacteria terhadap *Ganoderma boninense*

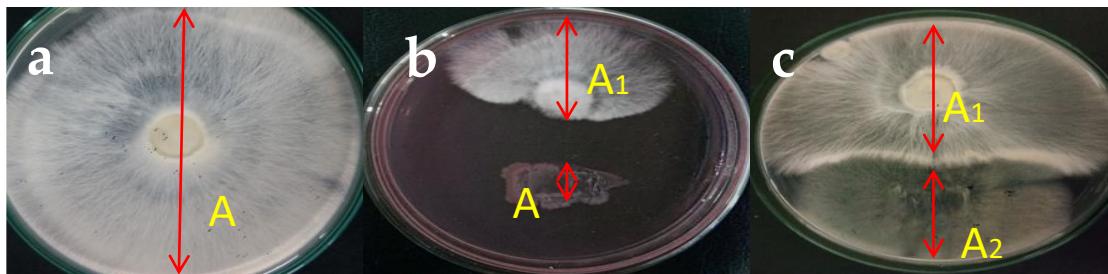
Aktivitas Actinobacteria menghambat *G. boninense* sebagai patogen tanaman jamur diujicobakan menggunakan metode *dual culture*. Ditemukan bahwa sebanyak 62% (23 isolat) memiliki kemampuan untuk menghambat *G. boninense*, sedangkan 38% (6 isolat) tidak memiliki kemampuan daya hambat (Gambar 1). Aktivitas penghambatan aktinobakteri bervariasi antara 0-81,58%. Ditemukan potensi 33% (3) isolat dari hutan hujan, 20% (2) isolat dari perkebunan kelapa sawit dan 14% (1) dari perkebunan kopi. Isolat potensial yang diisolasi yang memiliki nilai persentase daya hambat sebesar diatas 50%.



Gambar 1. Jumlah Actinobacteria dari berbagai sumber habitat.

Interaksi antara mikroba dan patogen tanaman dapat berupa antibiosis, kompetisi, dan hiperparasit. Pada penelitian ini didominasi oleh antibiosis dan kompetisi (Gambar 2).

Mekanisme antibiotik ditandai dengan zona bening antara isolat dan jamur patogen. Zona bening disebabkan oleh aktivitas senyawa antibiotik yang disekresikan oleh aktinobakteri seperti enzim (Amaria et al., 2015).



Gambar 2. Aktivitas Antifungi Actinobacteria setelah 5 hari perlakuan.

(a). *G.boninense* sebagai kontrol (b) interaksi HS06 secara Antibiosis (c) Interaksi KT14 kompetisi. Keterangan (panah biru menunjukkan pertumbuhan *G.boninense* (A_1) menunjukkan pertumbuhan radial jamur patogen *G. boninense*, A_2 menunjukkan pertumbuhan radial *Actinobacteria*)

Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa aktivitas antibiotik menyebabkan malformasi hifa seperti pengecilan hifa, lisis, bengkok atau bengkak (Gambar 3). Sedangkan pada mekanisme kompetisi tidak menunjukkan zona bening tetapi menunjukkan pertumbuhan aktinobakteri yang lebih cepat daripada patogen jamur dan menutupi patogen jamur (Gambar 2c). Hal ini membuktikan bahwa actinobacteria memiliki kemampuan untuk menyerap nutrisi lebih cepat dari jamur patogen. Pengamatan mikroskopis menggambarkan invasi hifa aktinobakteri ke arah hifa jamur patogen dan menyebabkan malformasi hifa seperti hifa yang lebih tipis atau hifa aktinobakteri yang melilit patogen jamur (Gambar 3c).

Ouchari et al., (2019) menyatakan bahwa sebagian besar aktivitas antagonis yang ditunjukkan oleh isolat aktif terkait dengan produksi antibiotik. Mekanisme ini dikenal dengan antibiosis, dengan memproduksi senyawa antibiotik, atau metabolit seperti enzim, yang dalam banyak kasus dilaporkan oleh Heydari et al., (2010) mampu menekan pertumbuhan patogen baik secara in vitro maupun in situ. Dengan demikian, penelitian ini dapat digunakan sebagai langkah awal eksplorasi alternatif actinobacteria dalam mengendalikan jamur patogen khususnya *G. Boninense*.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan 29 isolat Actinobacteria dari Harapan Rainforest, perkebunan kelapa sawit, dan perkebunan kopi di kawasan lahan gambut. Persentase hambatan pertumbuhan (PGI) isolat tersebut bervariasi antara 0-81,58% dengan mekanisme penghambatannya adalah antibiosis dan kompetisi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Prof. Rolf Daniel, peneliti utama kelompok B02 CRC 990 Effort Universitas Jambi. Penelitian ini didukung oleh ABS Fund 2018, CRC 990 Effort.

DAFTAR PUSTAKA

- Anandan, R., Dharumadurai, D., Manogaran, G. 2016. An Introduction to Actinobacteria, in D. Dhanasekaran, Y. Jiang (eds.), *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. London: IntechOpen,
- Amaria, W., Rita, H., Samsudin. 2015. "Evaluation of Antagonistic Fungi as Inhibitor of *Rigidoporus microporus* cause of White Root Disease in Rubber Plants". *J. TIDP* 2 (1):51-60.
- Araujo, R., Gupta V. V.S.R., Reith, F., Bissett, A., Mele, P., Christopher M.M. Franco.2020. Biogeography and emerging significance of Actinobacteria in Australia and Northern Antarctica soils. *Soil Biology and Biochemistry* 146:1-9.
- Budi, M. B. S., Giyanto, Tondok, E T., 2022. Isolation of actinomycetes from peatland to suppress the growth of *Ganoderma boninense* the causal agent of basal stem rot disease in oil palm. *Biodiversitas* 23 (11): 5914-5922.
- Bhatti, A.A., Haq, S. & Bhat, R.A., 2017. Microbial Pathogenesis Actinomycetes Benefaction Role in Soil and Plant Health. *Microbial Pathogenesis* 111:458–467.
- Costa, F.G., Zucchi, T.D. & De Melo, I.S., 2013. Biological Control of Phytopathogenic Fungi by Endophytic Actinomycetes Isolated from Maize (*Zea mays L.*). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 56(6):948–955.
- Dinas Perindustrian dan Perdagangan, 2017. *Buku Data Base Potensi Komoditi Industri Agro*, Jambi: Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Jambi.
- Febrianti, F., Sasongkowati, R., & Anggraini, A. D. 2021. Potensi Metabolit Sekunder Antifungi Aktinomiseta yang Diisolasi dari Tanah Mangrove Wonorejo Surabaya terhadap *Trichophyton rubrum*. *Jurnal Analis Kesehatan Sains*, 10(1),21–24.
- George, M. et al., 2012. Distribution and Bioactive Potential of Soil Cctinomycetes from Different Ecological Habitats. *African Journal of Microbiology Research* 6(10):2265–2271.
- Ghorbani-Nasrabadi, R. et al., 2013. Distribution of Actinomycetes in Different Soil Ecosystems and Effect of Media Composition on Extracellular Phosphatase Activity. *Journal of soil science and plant nutrition* 13:223–236.
- Heydari, Asghar, and Mohammad Pessarakli. 2010. A Review on Biological Control of Fungal Pathogens Using Microbial Antagonists. *Journal of Biological Sciences* 10 (4):273–90.

- Jazuli, N. A., Kamu, A., Chong, K. P., Gabda, D., Hassan, A., Seman, I. A., Ho, C. M. 2022. A Review of Factors Affecting Ganoderma Basal Stem Rot Disease Progress in Oil Palm, 11. 2462:1-14.
- Jose, P. A and Bhavanath, J. 2016. New Dimension of Research on Actinomyecetes: Quest for Next Generation Antibiotics. *Frontiers in Microbiology* 7:1-5.
- Ouchari, L, Boukeskasse, A., Bouizgarne,B and Ouhdouch, Y. 2019. Antimicrobial Potential of Actinomycetes Isolated from The Unexplored Hot Merzouga Desert and Their Taxonomic Diversity. *The Company of Biologists* 8:1-7
- Saadoun I, Ananbeh H, Ababneh Q, Jaradat Z. 2017. Comparative Distribution of Soil *Streptomyces* Flora in Different Jordanian Habitats and Their Enzymatic and Antibiotic Activities. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 8(2): 1285-1297.
- Sarma, V., & Salwan, R. 2018. Biocontrol Potential and Applications of Actinobacteria in Agriculture. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*: 93–108.
- Schneider, D., M. Engelhaupt, K. Allen, S. Kurniawan, V. Krashevska, M. Heinemann, H. Nacke, et al. 2015. “Impact of Lowland Rainforest Transformation on Diversity and Composition of Soil Prokaryotic Communities in Sumatra (Indonesia).” *Frontier Microbiology* 6: 1–12.
- Sujarit, K., Pathom-aree, W., Mori, M., Dobashi, K., Shiomi, K., Lumyong, S., 2020. *Streptomyces palmae* CMU-AB204 T, an Antifungal Producing-Actinomycete, As a Potential Biocontrol Agent to Protect Palm Oil Producing Trees from Basal Stem Rot Disease Fungus, *Ganoderma boninense*. *Biological Control* 148:1-12.
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, G. S, Sa, T., Singh, B. K. 2020. Plant–Microbiome Interactions: from Community Assembly to Plant Health. *Nature Reviews Microbiology*. 18 (11): 607- 621.
- Yit Kheng Goh, Y. K., Zoqratt, M. Z. H. Md., Goh, Y. K, A, Q., Ting, A. S. Y. 2020. Determining Soil Microbial Communities and Their Influence on Ganoderma Disease Incidences in Oil Palm (*Elaeis guineensis*) via High-Throughput Sequencing. *Biology*. 9 (424): 1-21.
- Zanane, C., Latrache, H.M. Elfazizi, K., Zahir, H., Ell., M. 2018, Isolation of Actinomycetes from Different Soils of Beni Amir Morocco. *Journal of Material and Environmental Sciences* 9 (10): 2994-3000.
- Zivkovic, Svetlana, Z. Ivanovic, S. Stojanovic, V. Gavrilovic, Jelica Balaz, and Tatjana Popovic. 2010. Screening of Antagonistic Activity of Microorganisms against *Colletotrichum Acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Sciences* 62 (3):611–23.