



Cropsaver

Journal of Plant Protection

<https://jurnal.unpad.ac.id/cropsaver>

Telephone : +62 896-9609-4777

Inhibition Effects of Culture Filtrates and Volatile Compounds of Antagonistic Microbes Isolated from Vermicompos and Compost Teas on the Growth of *Alternaria solani* Sor. *in Vitro*

Noor Istifadah^{1*}, Adelia Septiandini², Sri Hartati¹ & Fitri Widiyanti¹

Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Padjadjaran University, Jatinangor, West Java, Indonesia, 45363

² Agrotechnology Study Program, Agriculture Faculty, Padjadjaran University, Jatinangor, West Java, Indonesia, 45363

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

Received December 03, 2022; revised December 21, 2022; accepted December 27, 2022

ABSTRACT

Alternaria solani Sor. is one of destructive pathogens in solanaceous plants including tomato. Bacteria and yeast isolated from water extract of organic matters are potential as biological control agents of plant pathogenic fungi. Mechanisms of antagonism of bacteria and yeast can be through antibiosis. This study was conducted to examine the abilities of culture filtrate and volatile compounds produced by antagonistic bacteria and yeast isolated from compost and vermicompost teas to inhibit the growth of *A. solani* in vitro. The experiments were arranged in randomized complete design with four replications. The culture filtrate experiment applied well diffusion method, while the volatile compound effect experiment used petri dish sandwich method. The results showed that the culture filtrates of four bacteria and three yeast isolates inhibited the growth of *A. solani* in vitro by 16.6-87.5%. The highest inhibition level was showed by KSB4 isolate (*Bacillus subtilis*), a bacterial isolate from cow manure compost tea. In the volatile compound effect experiment, the tested bacteria and yeast isolates inhibited the pathogen growth by 31.3-75.2%, with the highest inhibition was showed by KcB3, a bacterial isolate from vermicompost tea. The isolate that its culture filtrate and volatile compounds both showed high inhibition level (62.7% and 87.5%) on *A. solani* growth was KSB4 isolate (*B. subtilis*).

Keywords: Antibiosis, bacteria, *Bacillus subtilis*, organic matters, yeast

Efek Penghambatan Filtrat dan Senyawa Volatil Mikrob Antagonis Isolat Air Rendaman Kompos dan Kascing terhadap Pertumbuhan *Alternaria solani* Sor. *in Vitro*

ABSTRAK

Alternaria solani Sor. merupakan patogen penting pada berbagai tanaman Solanaceae termasuk tomat. Bakteri dan khamir yang diisolasi dari air rendaman bahan organik berpotensi sebagai agens pengendali biologi jamur patogen tumbuhan. Mekanisme antagonisme bakteri dan khamir dapat berupa antibiosis. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan filtrat dari biakan cair dan senyawa volatil yang dihasilkan oleh bakteri dan khamir isolat air rendaman kompos dan kascing untuk menghambat pertumbuhan *A. solani* secara *in vitro*. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat ulangan. Metoda pada pengujian efek filtrat adalah *well diffusion method*, sementara metoda pada pengujian efek senyawa volatil adalah *petri dish sandwich method*. Hasil percobaan menunjukkan bahwa filtrat biakan cair dari empat isolat bakteri dan tiga isolat khamir yang diuji, menghambat pertumbuhan *A. solani* *in vitro* sebesar 16,58-87,46%. Penghambatan tertinggi terdapat pada perlakuan dengan isolat KSB4 (*Bacillus subtilis*), bakteri yang diisolasi dari air rendaman kompos kotoran sapi. Pada pengujian efek senyawa volatil, isolat bakteri dan khamir yang diuji dapat menghambat pertumbuhan *A. solani* *in vitro* sebesar 31,28-75,23%. Penghambatan tertinggi terdapat perlakuan dengan isolat KcB3 (isolat bakteri dari air rendaman kascing). Isolat yang filtrat biakan cairnya serta senyawa volatilnya menunjukkan penghambatan yang tinggi (62,7% dan 87,5%) terhadap pertumbuhan *A. solani* adalah isolat KSB4 (*B. subtilis*).

Kata Kunci: Antibiosis, bahan organik, bakteri, *Bacillus subtilis*, khamir

PENDAHULUAN

Jamur *Alternaria solani* Sor. merupakan patogen penyebab penyakit pada berbagai tanaman dari famili Solanaceae. Pada tanaman tomat, jamur ini merupakan salah satu patogen utama yang dapat

menginfeksi daun, batang, tangkai, serta buah. Jamur *A. solani* dapat terbawa benih dan bertahan pada sisa-sisa tanaman dan juga gulma (Chaerani & Voorrips, 2006; Adhikari *et al.*, 2017). Infeksi *A. solani* pada

tanaman tomat dapat menyebabkan kerugian hingga mencapai 79% (Adhikari *et al.*, 2017)

Pengendalian jamur penyebab penyakit tanaman biasanya dilakukan dengan menggunakan fungisida. Namun demikian, penggunaan fungisida secara terus-menerus dapat menyebabkan munculnya resistensi pada patogen, polusi lingkungan dan juga akumulasi residu senyawa toksik pada produk pertanian (Mahmood, 2016). Guna mengurangi penggunaan fungisida, maka banyak dikembangkan teknik pengendalian secara ramah lingkungan yang di antaranya adalah pengendalian secara biologi.

Salah satu sumber agens pengendali biologi patogen tanaman adalah air rendaman bahan organik. Bahan organik yang banyak diteliti dan mengandung berbagai mikroba antagonis adalah kompos dan kascing (media bekas budidaya cacing tanah). Istifadah *et al.* (2020) mengisolasi bakteri dan khamir dari air rendaman kompos dan mendapatkan dua isolat bakteri dan tiga isolat khamir yang dapat menekan penyakit pada buah tomat sebesar 100% dan penyakit bercak coklat pada daun tomat sebesar 77,5-98,1%. Selain itu Istifadah *et al.* (2021) juga mendapatkan dua isolat bakteri dan satu isolat khamir dari air rendaman kascing yang dapat menekan penyakit bercak coklat pada daun tomat sebesar 73,7-83,5%. Namun demikian, mekanisme penghambatan penyakit tanaman oleh bakteri dan khamir antagonis isolat air rendaman bahan organik tersebut belum dikaji lebih lanjut.

Salah satu mekanisme penghambatan penyakit tanaman oleh mikroba antagonis adalah karena mikroba antagonis dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman. Metabolit sekunder dari mikroba merupakan senyawa kimia dengan berat molekul rendah (<2.5 KDa) yang fungsinya untuk pertahanan dalam kondisi tidak mendukung (Pathma *et al.*, 2011). Metabolit sekunder yang dikeluarkan mikroba antagonis dapat berupa antibiotik, toksin, enzim, poliketida, peptida, atau senyawa toksik lainnya (Buddhika & Abeyasinghe, 2020).

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba dapat terakumulasi di dalam ataupun di luar sel yang terdifusi ke dalam medium atau lingkungan tempat hidupnya. Pada medium biakan, metabolit sekunder biasanya diproduksi pada saat mikroba dalam fase stationer yaitu ketika laju pertumbuhannya sama dengan laju kematiannya sehingga populasinya relatif tidak bertambah karena nutrisi yang terbatas (Pinu & Villas-Boas, 2017; Horak *et al.*, 2019). Produksi metabolit sekunder dari mikroba biasanya dilakukan pada medium cair karena lebih mudah dipisahkan dari sel atau hifanya. Ekstraselular metabolit sekunder dari mikroba biasanya terdapat pada medium dari biakan cair yang telah terpisah dari sel mikrobnnya dengan cara sentrifugasi dan penyaringan atau filtrasi yang hasilnya sering disebut dengan filtrat (Pinu & Villas-Boas, 2017).

Filtrat biakan bakteri atau khamir dapat dimanfaatkan untuk pengendalian penyakit tumbuhan. Filtrat biakan cair bakteri dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman secara *in vitro* serta menekan penyakit tanaman (Khan *et al.*, 2018; Horak *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2015). Filtrat biakan cair khamir juga dapat dimanfaatkan untuk pengendalian penyakit tanaman (Millan *et al.*, 2022; El-Tarabily & Sivasithamparam, 2006). Penggunaan filtrat mikroba lebih menguntungkan karena efeknya tidak terpengaruh oleh penggunaan pestisida kimiawi. Filtrat mikroba bersifat kompatibel atau bahkan dapat dikombinasikan dengan penggunaan pestisida sintetik (Elkot & Derbalah, 2011; Ruparella *et al.*, 2022).

Penghambatan patogen oleh mikroba antagonis juga dapat terjadi karena adanya senyawa volatil yaitu senyawa dengan berat molekul rendah (<300 Da) dengan tekanan uap tinggi (mudah menguap) yang dihasilkan dari berbagai jalur biosintesis (Kanchiswamy *et al.*, 2015; Tilocca *et al.*, 2020). Pada dasarnya, senyawa volatil yang dihasilkan oleh mikroba dapat berupa senyawa anorganik maupun organik. Senyawa ini berperan penting dalam interaksi antar mikroba, antara mikroba dengan tanaman, dan adaptasinya dengan lingkungan (Audrain *et al.*, 2015). Senyawa volatil dari mikroba yang banyak terlibat dalam pengendalian biologi penyakit tanaman adalah senyawa organik volatil (Tilocca *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2022). Kemampuan bakteri antagonis untuk menghasilkan senyawa organik volatil yang dapat menghambat patogen tanaman telah dilaporkan (Zhao *et al.*, 2022; He *et al.*, 2020; Widiyanti *et al.*, 2020; Widiyanti *et al.*, 2019). Khamir antagonis juga banyak yang dapat menghasilkan senyawa organik volatil bersifat antifungi (Zhao *et al.*, 2022; Khunnamwong *et al.*, 2020; Contarino *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2011).

Paper ini membahas penelitian yang bertujuan mengevaluasi kemampuan filtrat dan juga senyawa volatil dari bakteri dan khamir isolat air rendaman kompos dan kascing dalam menghambat pertumbuhan *A. solani* secara *in vitro*. Informasi mengenai kemampuan filtrat biakan cair dan senyawa volatil mikroba dalam menghambat patogen selain dapat memberi gambaran lebih lanjut terkait mekanisme antibiosis, juga dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pemanfaatan filtrat biakan cair sebagai bahan pengendali patogen atau penyakit tanaman.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan uji patogenitas jamur *A. solani*

Biakan jamur *A. solani* diperoleh dari koleksi Laboratorium Fitopatologi, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Isolat jamur patogen diuji kembali patogenitasnya dengan menempelkan potongan biakan (diameter 0,8 cm) pada permukaan daun tanaman tomat yang telah dilukai. Potongan biakan direkatkan dengan selotipe dan plastik *wrapt*. Tanaman tomat yang telah diinokulasi daunnya, disungkup

dengan plastik selama 24 jam untuk menjaga agar kelembaban lingkungannya tinggi. Setelah lima hari, potongan biakan dan perekatnya dibuka. Biakan dikatakan virulen apabila menyebabkan adanya nekrosis dan klorosis pada jaringan yang diinokulasi.

Pengujian Filtrat Biakan Cair Mikrob Antagonis

Percobaan pengujian filtrat bakteri dan khamir antagonis menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan delapan perlakuan yaitu empat isolat bakteri, tiga isolat khamir, serta kontrol. Masing-masing perlakuan diulang empat kali. Filtrat bakteri dan khamir disiapkan dengan cara membiakkan mikrob dalam medium *half strength Potato Dextrose Broth*. Biakan cair diinkubasikan di atas *orbital shaker* (120 rpm) selama 10 hari untuk bakteri (Widiantini *et al.*, 2019). Waktu inkubasi untuk khamir adalah selama 16 hari (Al-Jassani *et al.*, 2016). Filtrat diperoleh dengan cara memisahkan medium cair dengan sel bakteri dan khamir melalui sentrifugasi pada 1000 rpm selama 30 menit sampai *pellet* terpisah dari *supernatant*. *Supernatant* kemudian disterilkan dengan menggunakan mikrofilter (ukuran pori 0,2 μm).

Pengujian keefektifan metabolit sekunder dilakukan dengan *well diffusion method*. Potongan biakan *A. solani* diletakkan di bagian tengah media *half strength PDA*. Pada jarak 3 cm di sebelah kanan dan kiri dari biakan patogen dibuat lubang (diameter 0,8 cm) dengan bor gabus kemudian filtrat dari biakan mikrob yang diuji (sebanyak 80 μl) dimasukkan ke dalam lubang tersebut (Islam *et al.*, 2018).

Jari-jari koloni patogen yang menuju ke arah lubang berisi filtrat diamati setiap hari sampai koloni jamur pada kontrol memenuhi permukaan medium. Pada pengamatan terakhir, lebar zona hambat yang terbentuk juga diukur dari batas pinggir koloni sampai ujung lubang. Aktivitas antibiosisnya dikelompokkan berdasarkan kriteria yang dikembangkan David & Stout (1971) dan digunakan oleh Ouchari *et al.* (2019) yaitu sangat kuat (zona hambat >20 mm), kuat (10-20 mm), medium (5-10 mm), dan tidak ada respon (tidak ada zona hambat). Selain itu, hifa yang ada pada batas zona hambat juga diambil untuk diamati secara mikroskopis adanya abnormalitas hifanya.

Pengujian efek Senyawa Volatil

Percobaan efek senyawa volatil dari mikrob antagonis terhadap patogen dilakukan dengan menggunakan metode *petri dish sandwich* (Kasfi *et al.*, 2018). Rancangan percobaan dan perlakuan yang dikaji seperti pada percobaan pengujian filtrat. Bakteri atau khamir yang diuji ditumbuhkan dengan cara menggosokkan suspensi mikrobnnya secara penuh pada permukaan media agar. Pada petri dish yang lain, potongan biakan jamur *A. solani* (diameter 0,8 cm) diletakkan di tengah media. Setelah 24 jam inkubasi, petri dish yang berisi biakan jamur patogen dan petri dish yang berisi isolat mikrob kemudian digabungkan menjadi satu dengan bantuan *selotape* dan plastik *wrap*. Petri dish yang berisi biakan patogen diletakkan

pada bagian atas, sedangkan petri dish yang berisi biakan bakteri diletakkan pada bagian bawah. Petri dish yang berisi biakan jamur patogen digabungkan dengan media tanpa mikrob antagonis digunakan sebagai kontrol.

Jari-jari koloni patogen diamati setiap hari sampai koloni jamur pada kontrol hampir memenuhi permukaan medium pada petri dish. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung *Area Under Colony Growth* (AUCGC) yang dimodifikasi dari rumus *Area Under Disease Progress Curve* (Istifadah *et al.*, 2006).

$$\text{AUCGC} = \sum_i^{n-1} \left[\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right] (t_{i+1} - t_i)$$

Notasi pada rumus yaitu Y_i : jari-jari koloni pada pengamatan i ; Y_{i+1} : jari-jari koloni pada pengamatan ke- $i+1$; t : waktu pengamatan.

Analisis Data

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghambatan Filtrat Bakteri dan Khamir Asal Air Rendaman Bahan Organik terhadap Pertumbuhan *A. solani* secara *in vitro*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa biakan jamur *A. solani* yang berada di antara lubang yang berisi filtrat dari biakan cair bakteri dan khamir isolat air rendaman kompos dan kascing pertumbuhannya terhambat dibandingkan dengan kontrol. Tingkat penghambatannya berbeda-beda tergantung dari isolat mikrobnnya. Dari delapan isolat yang diuji, hanya dua isolat yang filtrat biakan cairnya menunjukkan penghambatan lebih dari 50%. Isolat tersebut yaitu isolat bakteri dari air rendaman kompos KSB4 dan isolat khamir dari air rendaman kascing KDB11 (Tabel 1).

Penghambatan pertumbuhan biakan jamur *A. solani* yang ada di antara lubang yang berisi filtrat biakan cair bakteri dan khamir yang diuji, diduga karena adanya metabolit sekunder dalam filtrat biakan cair dari mikrob antagonis yang terdifusi ke dalam media sehingga menghambat pertumbuhan patogen. Pada area di sekitar lubang yang berisi filtrat tampak adanya zona hambat atau daerah yang tidak ditumbuhi patogen (Gambar 1B), sementara pada perlakuan kontrol tidak terbentuk zona bening atau zona hambat (Gambar 1A). Isolat yang menunjukkan zona hambat

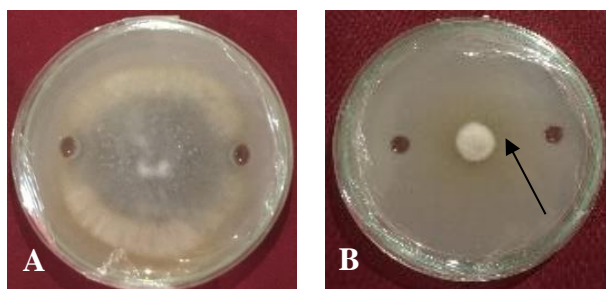
paling besar (23 mm) dan termasuk kategori kemampuan antibiosis yang sangat kuat yaitu isolat KSB4. Isolat khamir KDK11 dan KSK5 juga

menunjukkan kemampuan antibiosis yang kuat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang berisi filtrat kedua isolat tersebut adalah sebesar 17 mm (Tabel 2).

Tabel 1. Kemampuan filtrat bakteri dan khamir isolat air rendaman kompos dan kascing untuk menghambat pertumbuhan jamur *A. solani*

Kode Perlakuan	Asal isolat	Nilai AUCGC	Penghambatan (%)
Kontrol	-	16,08 f	-
Isolat bakteri KSB4	air rendaman kompos sapi	2,02 a	87,46
Isolat bakteri KDB3	air rendaman kompos domba	8,77 bcd	45,49
Isolat bakteri KcB2	air rendaman kascing	13,42 ef	16,58
Isolat bakteri KcB3	air rendaman kascing	10,05 cd	37,51
Isolat khamir KDK11	air rendaman kompos domba	5,48 b	65,91
Isolat khamir KSK5	air rendaman kompos Sapi	11,87 de	26,22
Isolat khamir KcK1	asal air rendaman kascing	8,25 bc	48,70

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata menurut uji lanjut Tukey HSD pada taraf nyata 5%. Nilai AUCGC dihitung berdasarkan data jari-jari koloni (cm) selama 10 hari pengamatan.



Gambar 1. Pengaruh filtrat bakteri terhadap pertumbuhan *A. solani* (10 hari setelah perlakuan): (A) Kontrol; (B) Isolat KSB4

Tabel 2. Zona hambat dan potensi antibiosis filtrat bakteri dan khamir isolat air rendaman kompos dan kascing

Isolat	Jenis Mikrob	Lebar Zona Hambat (mm)	Kategori aktivitas antibiosis*
Kontrol		-	-
Isolat KSB4	Bakteri	23	Sangat Kuat
Isolat KDB3	Bakteri	10	Sedang
Isolat KcB2	Bakteri	0	Tidak ada /sangat lemah
Isolat KcB3	Bakteri	7	Sedang
Isolat KDK11	Khamir	17	Kuat
Isolat KSK5	Khamir	17	Kuat
Isolat KcK1	Khamir	10	Sedang

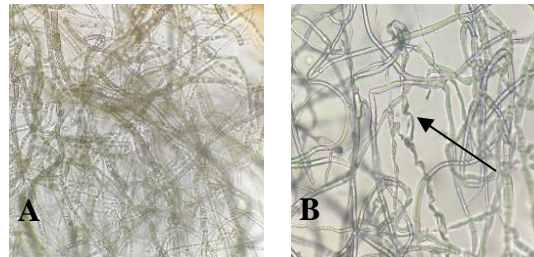
Keterangan: * kategori didasarkan pada kriteria David & Stout (1971) yang digunakan Ouchari *et al.* (2019)

Pada penelitian ini, isolat yang menunjukkan tingkat penghambatan dan zona hambat paling tinggi adalah isolat KSB4 yang setelah diidentifikasi (di Laboratorium Bioteknologi Lingkungan, Biodiversitas Bioteknologi Indonesia) secara molecular adalah spesies *Bacillus subtilis*. Ali *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa filtrat biakan cair *B. subtilis* dapat menghambat pertumbuhan *Alternaria* spp. Bakteri *B. subtilis* dikenal sebagai penghasil berbagai senyawa

yang bersifat antimikrob (Pathma *et al.*, 2011; Horak *et al.*, 2019). Metabolit sekunder dari bakteri genus *Bacillus* adalah dari kelompok bacteriocin, lantibiotics dan berbagai jenis antibiotik lain (Pathma *et al.*, 2020). Bakteri *B. subtilis* dapat menghasilkan senyawa yang mempunyai efek antimikrob dapat menghasilkan senyawa antifungal antara lain iturin, mikobasilin, surfaktin, dan fungstatin (Islam *et al.*, 2012).

Hasil pengamatan secara mikroskopis pada hifa yang berbatasan dengan zona hambat yang ada di sekitar lubang berisi filtrat yang diuji menunjukkan bahwa filtrat bakteri dan khamir dapat menimbulkan abnormalitas pada hifa *A. solani*. Perubahan pada hifa

yang ditemukan antara lain adanya hifa yang mengerut dan mengeriting (Gambar 2). Selain itu, ditemukan juga hifa yang sitoplasmanya teragregasi atau yang dalamnya tampak kosong.



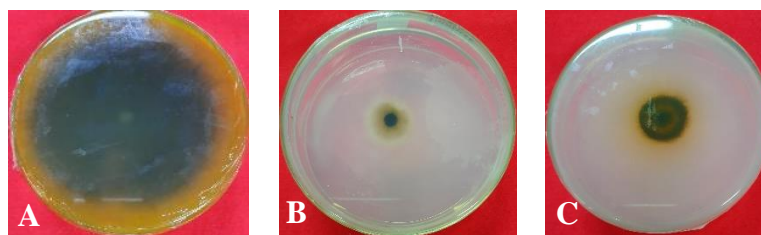
Gambar 2. Pengaruh filtrat biakan bakteri terhadap hifa *A. solani*: (A) Kontrol; (B) Hifa mengerut

Abnormalitas hifa akibat perlakuan dengan filtrat bakteri juga ditemukan pada penelitian-penelitian lainnya. Abuduaini *et al.* (2021) melaporkan bahwa metabolit sekunder dari *B. subtilis* menyebabkan abnormalitas pada hifa *Verticillium dahlia* seperti mengerut, mengeriting, terjadinya agregasi isi sel. Filtrat biakan *B. subtilis* juga dilaporkan dapat menyebabkan perubahan bentuk dan pembengkakan tidak normal pada sel *Fusarium oxysporum* (Khan *et al.*, 2018). Senyawa antifungi yang banyak dihasilkan oleh *B. subtilis* adalah lipopeptida seperti surfactin, iturin dan fengycins. Lipopeptida yang mempunyai efek penghambatan kuat terhadap pertumbuhan berbagai jamur patogen adalah fengycins. Senyawa ini juga dapat menyebabkan abnormalitas pada hifa *A. solani* antara lain hifa

membengkak dengan permukaan yang berkerut dan protoplasma yang membentuk gumpalan (Zhang *et al.*, 2022).

Kemampuan Senyawa Volatil Bakteri dan Khamir Asal Air Rendaman Bahan Organik untuk Menghambat Pertumbuhan *A. solani*

Pada metode *petridish sandwich*, koloni jamur *A. solani* yang berada di atas biakan bakteri dan khamir yang diuji ternyata menunjukkan pertumbuhan yang terhambat dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3). Penghambatan pertumbuhan patogen ini diduga disebabkan oleh karena mikroba antagonis yang diuji mengeluarkan senyawa volatil yang bersifat antifungi, mengingat tidak ada interaksi secara langsung antara biakan jamur patogen dengan biakan mikroba antagonis.



Gambar 3. Efek senyawa volatil isolat bakteri isolat air rendaman kascing dan kompos terhadap pertumbuhan jamur *A. solani*: (A) Kontrol; (B) Isolat bakteri KcB3; (C) Isolat bakteri KSB4

Tingkat penghambatan pertumbuhan jamur *A. solani* pada pengujian efek senyawa volatil bervariasi tergantung isolatnya. Di antara isolat yang diuji, terdapat tiga isolat bakteri yang menunjukkan penghambatan 60,47%-75,23% dibandingkan dengan kontrol. Penghambatan pertumbuhan paling tinggi (75,23%) ditunjukkan oleh isolat KcB3 yaitu isolat bakteri yang berasal dari air rendaman kascing (Tabel 3).

Kemampuan bakteri dalam menghasilkan senyawa volatil telah banyak dilaporkan. Kai *et al.* (2009) menyatakan bahwa berbagai jenis bakteri di antaranya dari genus *Bacillus*, *Burkholderia*,

Pseudomonas, *Serratia* dapat menghasilkan senyawa volatil yang bersifat antifungi. Zang *et al.* (2020) melaporkan bahwa bakteri dari genus *B. subtilis* menghasilkan senyawa volatil yang dapat menghambat pertumbuhan *A. solani* penyebab penyakit bercak kering pada daun kentang. Senyawa volatil tersebut di antaranya berupa acetophenone, 2-nonanone, m-tolunitrile, 2-ethylhexanol, 2-heptanone, benzylacetone, 6-methyl-2-heptanone, benzothiazole, and 5-methyl-2-hexanone.

Senyawa volatil yang dihasilkan oleh mikroba terutama bakteri antagonis yang diuji memengaruhi morfologi miselia *A. solani*. Pada pengamatan secara

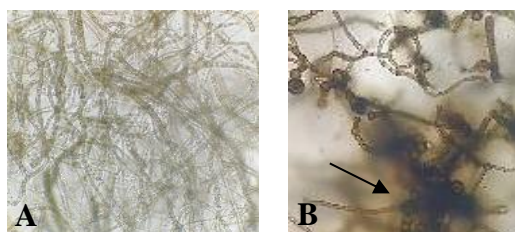
mikroskopis, terjadi abnormalitas pada hifa *A. solani* antara lain terjadinya penebalan dan perubahan warna pada hifa menjadi coklat tua atau melanisasi hifa (Gambar 4). Selain itu ada pula hifa yang mengerut serta hifa yang dalamnya berongga-rongga atau kosong tidak berisi. Senyawa volatil dari *B. subtilis* telah dilaporkan dapat menimbulkan abnormalitas pada hifa seperti agregasi isi sel, terbentuknya banyak rongga, dan perubahan bentuk hifa pada *Alternaria alternata*

(Chaurasia *et al.*, 2005) dan *Alternaria solani* (Zhang *et al.*, 2020). Widianti *et al* (2020) juga melaporkan bahwa efek dari senyawa volatil yang dihasilkan oleh bakteri menyebabkan terjadinya abnormalitas pada hifa jamur patogen seperti hifa menggulung, mengeriting dan membengkak. Zhao *et al.* (2022) menyatakan bahwa senyawa organik dari mikroba dapat merusak dinding sel dan membran sel sehingga menyebabkan perubahan pada morfologi hifa.

Tabel 3. Penghambatan pertumbuhan jamur *A. solani* pada pengujian efek senyawa volatil dari bakteri dan khamir antagonis

Perlakuan	Jenis Mikrob	Nilai AUCGC	Penghambatan (%)
Kontrol		28,67 c	-
Isolat KSB4	Bakteri	10,70 ab	62,67
Isolat KDB3	Bakteri	17,93 b	37,44
Isolat KcB2	Bakteri	11,33 ab	60,47
Isolat KcB3	Bakteri	7,10 a	75,23
Isolat KDK11	Khamir	17,40 b	39,30
Isolat KSK5	Khamir	18,77 b	34,53
Isolat KcK1	Khamir	17,73 b	38,14

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata menurut uji lanjut Tukey HSD pada taraf nyata 5%.



Gambar 4. Pengaruh senyawa volatil terhadap pada hifa *A. solani*: (A) Kontrol; (B) Melanisasi hifa

Berdasarkan hasil pengujian, filtrat biakan cair dan diduga senyawa volatil dari bakteri dan khamir isolat air rendaman kompos dan kascing diketahui bahwa isolat yang dapat menunjukkan penghambatan pertumbuhan yang tinggi terhadap *A. solani* adalah isolat KSB4 (*B. subtilis*). Hal ini mengonfirmasi hasil penelitian Istifadah dkk. (2020) yang menunjukkan bahwa pada metoda *dual culture*, isolat bakteri KSB4 menunjukkan adanya zona hambat dan dapat menghambat pertumbuhan patogen *A. solani* sebesar 84,9%.

Penelitian ini masih tahap awal dari kajian mekanisme penghambatan *A. solani* oleh bakteri dan khamir isolat air rendaman bahan organik. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam filtrat serta senyawa volatil yang dihasilkan bakteri dan khamir tersebut masih perlu dikaji dan diidentifikasi. Namun demikian, hasil penelitian ini dapat menjadi pertimbangan dalam pengembangan isolat KSB4 (*B. subtilis*). Selain digunakan dalam bentuk biakan atau sel bakterinya, isolat tersebut dapat pula dimanfaatkan filtrat biakan cairnya. Kemampuan filtratnya untuk menghambat *A. solani* berpotensi untuk dikaji lebih lanjut

penggunaannya dalam pengendalian penyakit bercak coklat. Penggunaan filtrat biakan cair untuk menekan penyakit tular udara merupakan cara pengendalian yang lebih fleksibel karena dapat diintegrasikan dengan berbagai cara pengendalian lain termasuk pengendalian menggunakan pestisida sintetik (Elkot & Derbalah, 2011; Ruparelia *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa kemampuan filtrat biakan cair dari isolat bakteri dan khamir yang berasal dari air rendaman kompos dan kascing dalam menghambat pertumbuhan *A. solani in vitro* bervariasi yaitu antara 16,58-87,46%. Penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat bakteri KSB4 (*B. subtilis*) yang merupakan isolat bakteri yang diisolasi dari air rendaman kompos kotoran sapi. Pada pengujian efek senyawa volatil, isolat bakteri dan khamir yang diuji dapat yang menghambat pertumbuhan *A. solani in vitro* sebesar 31,28-75,23%. Penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat KcB3 yaitu isolat bakteri dari air rendaman kascing.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang didiskusikan pada paper ini merupakan salah satu bagian dari rangkaian penelitian dengan skema “Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT)” yang didanai oleh DRPM-DIKTI.

DAFTAR PUSTAKA

- Abuduaini X, Aili A, Lin R, Song G, Huang Y, Chen, Z. Zhao H., Luo Q, & Zhao H. 2021. The Lethal Effect of *Bacillus subtilis* Z15 Secondary Metabolites on *Verticillium dahlia*. Nat. Prod. Commun. 16(1). <https://doi.org/10.1177/1934578X20986728>
- Adhikari P, Oh Y, & Panthee DR. 2017. Current Status of Early Blight Resistance in Tomato: an Update. Int. J. Mol. Sci. 18(10) :1-22, <https://doi.org/10.3390/ijms18102019>
- Al-Jassani MJ, Mohammed GJ, & Hameed IH. 2016. Secondary Metabolites Analysis of *Saccharomyces cerevisiae* and Evaluation of Antibacterial Activity. Int. J. Pharm. Clin. Res. 8(5): 304-315, <http://impactfactor.org/PDF/IJPCR/8/IJPCR,Vol8,Issue5,Article5.pdf>
- Ali, GS, El-Sayed ASA, Patel JS, Green KB, Al M, Brennan M, & Norman, D. 2015. Ex Vivo Application of Secreted Metabolites Produced by Soil-Inhabiting *Bacillus* spp. Efficiently Controls Foliar Diseases Caused by *Alternaria* spp. Appl. Environ. Microbiol. 82(2): 478–490, <https://doi.org/10.1128/AEM.02662-15>
- Audrain B, Farag MA, Ryu C-M, Ghigo J-M. 2015. Role of Bacterial Volatile Compounds in Bacterial Biology. FEMS Microbiol Rev. 39(2): 222-233, <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu013>
- Buddhika UVA & Abeysinghe S. 2020. Secondary Metabolites from Microbes for Plant Disease management. Pp. 331–342 in Singh KP, Jahagirdar S, Sarma BK (eds) Emerging Trends in Plant Pathology. Springer, Singapore. doi.org/10.1007/978-981-15-6275-4_15
- Chaerani R, & Voorrips RE. 2006. Tomato Early Blight (*Alternaria solani*): the Pathogen, Genetics, and Breeding for Resistance. J. Gen. Plant Pathol. 72: 335–347, <https://link.springer.com/article/10.1007/s10327-006-0299-3>
- Chaurasia B, Pandey A, Palni LMS, Trivedi P, Kumar B, & Colvin N. 2005. Diffusible and Volatile Compounds Produced by an Antagonistic *Bacillus subtilis* Strain Cause Structural Deformations in Pathogenic Fungi In Vitro. Microbiol. Res. 160(1): 75–81, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.09.013>
- Contarino R, Brighina S, Fallico B, Cirvilleri G, Parafati L, and Restuccia C. 2019. Volatile Organic Compounds (VOCs) Produced by Biocontrol Yeasts. Food Microbiol. 82:70–74.
- Elkot GAE & Deralbah ASH. 2011. Use of Cultural Filtrates of Certain Microbial Isolates for Powdery Mildew Control in Squash. J. Plant Prot. 51(3): 252-260. doi:10.2478/v10045-011-0042-8.
- Horak I, Engelbrecht G, Jansen van Rensburg, PJ & Claassens S. 2019. Microbial Metabolomics: Essential Definitions and The Importance of Cultivation Conditions for Utilizing *Bacillus* species as Bionematicide. J. Appl. Microbiol. 127: 326-343, <https://doi.org/10.1111/jam.14218>
- Huang R, Li GJ, Zhang J, Yang L, Che HJ, Jiang DH, & Huang, HC. 2011. Control of Postharvest *Botrytis* Fruit Rot of Strawberry by Volatile Organic Compounds of *Candida intermedia*. Phytopathology 101(7): 859-869, <https://doi.org/10.1094/PHTO-09-10-0255>
- Islam MA, Nain, Z, Alam MK, Banu MA, & Islam MR. 2018. In Vitro Study of Biocontrol Potential of Rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. Egypt J Biol Pest Control. 28, 90. doi.org/ 10.1186/s41938-018-0097-1
- Islam MR, Jeong YT, Lee YS, & Song CH. 2012. Isolation and Identification of Antifungal Compounds from *Bacillus subtilis* C9 Inhibiting The Growth of Plant Pathogenic Fungi. Mycobiology. 40(1): 59-66, <https://doi.org/10.5941/MYCO.2012.40.1.059>
- Istifadah N, Salaebeba JA, & McGee P. 2006. Isolates of Endophytic *Chaetomium* spp. Inhibit The Fungal Pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* In Vitro. Canad. J. Bot. 84: 1148-1155, <https://doi.org/10.1139/b06-083>
- Istifadah N, Novilaressa PG, Widiyanti F, & Hartati, S. 2020. Keefektifan Bakteri dan Khamir Asal Air Rendaman Kompos dalam Menekan Perkembangan Penyakit Bercak Coklat (*Alternaria solani* Sorr.) pada Tomat. Jurnal Agrikultura. 31(1): 52-60, <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v31i1.26876>
- Istifadah N, Putri RA, & Hartati, S. 2021. The Abilities of Bacteria and Yeast Isolated from Vermicompost Water Extract to Inhibit *Alternaria solani* In Vitro and Early Blight Disease on Tomato. Cropsaver : Journal of Plant Protection. 4(2): 73-79, <https://doi.org/10.24198/cropsaver.v4i2.37374>
- Kai M, Hausteim M, Molina F, Petri A, Scholz B, & Piechulla B. 2009. Bacterial Volatiles and Their Action Potential. Appl. Microbiol. Biotechnol. 81(6) : 1001–1012, 10.1007/s00253-008-1760-3
- Kanchiswamy CN, Malnoy M, & Maffei ME. 2015. Chemical Diversity of Microbial Volatiles and Their Potential for Plant Growth and Productivity. Front. Plant Sci. 6: 151-151, 10.3389/fpls.2015.00151
- Kasfi K, Taheri P, Jafarpour, B & Tarighi, S. 2018. Identification of Epiphytic Yeasts and Bacteria with Potential for Biocontrol of Grey Mold Disease on Table Grapes Caused by *Botrytis*

- cinerea*. Span. J. Agric. Res. 16(1), e1002, <https://doi.org/10.5424/sjar/2018161-11378>
- Khan N, Martínez-Hidalgo P, Ice TA, Maymon M, Humm EA, Nejat N, Sanders ER, Kaplan D, & Hirsch AM. 2018. Antifungal Activity of *Bacillus* species Against *Fusarium* and Analysis of The Potential Mechanisms Used in Biocontrol. *Front. Microbiol.* 9:2363, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>
- Khunnamwong P, Lertwattanasakul N, Jindamorakot S, Suwannarach N, Matsui K & Limtong S. 2020. Evaluation of Antagonistic Activity and Mechanisms of Endophytic Yeasts Against Pathogenic Fungi Causing Economic Crop Diseases. *Folia Microbiol (Praha)*. 65(3): 573-590, [10.1007/s12223-019-00764-6](https://doi.org/10.1007/s12223-019-00764-6)
- Li Z, Guo B, Wan Ke, Cong M, Huang H, & Yongyi G. 2015. Effects of Bacteria-free Filtrate from *Bacillus megaterium* Strain L2 on The Mycelium Growth and Spore Germination of *Alternaria alternata*. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 29(6): 1062-1068, <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1068135>
- Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, & Hakeem KR. 2016. Effects of Pesticides on Environment. Pp. 254-269 in Hakeem KR, Akhtar MS, Abdullah SNA (Eds.) *Plant, Soil and Microbes*. Volume 1: Implications in Crop Science. Springer International. Switzerland.
- Millan AF-S, Gamir J, Farran I, Larraya L, Veramendi J. 2022. Identification of New Antifungal Metabolites Produced by The Yeast *Metschnikowia pulcherrima* Involved in The Biocontrol of Postharvest Plant Pathogenic Fungi. *Postharvest Biol. Technol.* 192, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111995>
- 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 Biototoxicity Against *Artemia salina*. *Journal Chile Chem.* 48(2) <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072003000200002>
- Ouchari L, Boukeskase A, Bouizgarne B, & Ouhdouch Y. 2019. Antimicrobial Potential of Actinomycetes Isolated from The Unexplored Hot Merzouga Desert and Their Taxonomic Diversity. *Bioly Open.* 8(2): bio035410, <https://doi.org/10.1242/bio.035410>
- Pathma J & Sakthivel N. 2013. Molecular and Functional Characterization of Bacteria Isolated from Straw and Goat Manure Based Vermicompost. *Appl. Soil Ecol.* 70: 33-47, <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.03.011>
- Pinu FR & Villas-Boas SG. 2017. Extracellular Microbial Metabolomics: The State of The Art. *Metabolites.* 7(3): 43, <https://doi.org/10.3390/metabo7030043>
- Ruparelia J, Rabari A, Mitra D, Panneerselvam P, Das-mohapatra PK, Jha CK. 2022. Efficient Applications of Bacterial Secondary Metabolites for Management of Biotic Stress in Plants. *Plant Stress,* 6: 100125 <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100125>
- Tilocca B, Cao A, & Migheli Q. 2020. Scent of a Killer: Microbial Volatilome and It's Role in The Biological Control of Plant Pathogens. *Front. Microbiol.* 11(41): 1-13, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00041>
- Widiantini F, Qadrayani, Mia R, Hartati S, & Yulia E. 2019. Antifungal Potency of Secondary Metabolites Produced by Endophytic Bacteria Against Pathogenic Fungi *Pyricularia oryzae* Cav. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia.* 23(2): 185-189, <https://doi.org/10.22146/jpti.48392>
- Widiantini, F, Yulia E, & Kurniawan A. 2020. Penghambatan Pertumbuhan *Rhizoctonia oryzae* dan *Cercospora oryzae* oleh Senyawa Volatil yang Dihasilkan Bakteri Endofit Padi. *Jurnal Agrikultura.* 31 (1): 61-67, <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v31i1.27323>
- Zhao X, Zhou J, Tian R, & Liu, Y. 2022. Microbial Volatile Organic Compounds: Antifungal Mechanisms, Applications, and Challenges. *Front. Microbiol.* 13: 922450, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.922450>
- Zhang D, Yu S, Yang Y, Zhang J, Zhao D, Pan Y, Fan S, Yang Z, & Zhu, J. 2020. Antifungal Effects of Volatiles Produced by *Bacillus subtilis* Against *Alternaria solani* in Potato. *Front. Microbiol.* 11: 1196, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01196>
- Zhang D, Qiang R, Zhou Z, Pan Y, Yu S, Yuan W, Cheng J, Wang J, Zhao D, Zhu J & Yang Z. 2022. Biocontrol and Action Mechanism of *Bacillus subtilis* Lipopeptides Fengycins Against *Alternaria solani* in Potato as Assessed by a Transcriptome Analysis. *Front. Microbiol.* 13: 861113, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.861113>

