

**AKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF ANTICENDAWAN DARI
Ralstonia pickettii TT47 TERHADAP *Rhizoctonia solani*
PENYEBAB PENYAKIT HAWAR PELEPAH PADI**

Rustam

Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Riau
Jl. Kaharuddin Nasution No. 341 Pekanbaru, Email: bptp_riau@yahoo.com.au

ABSTRACT

R. pickettii TT47 (isolate TT47) were selected isolate having the potency of strong inhibition to the growth of *R. solani* *in vitro* and suppress the development of rice sheath blight disease *in vivo*. The antifungal activity test of the filtrate from fermentation broth of the isolate showed that the growth of *R. solani* reduced significantly. Presumably the culture broth of the isolate contains antifungal bioactive compounds. Antifungal activity in the culture broth of the isolate was significantly correlated with the cell growth of the isolate. Antifungal bioactive compounds were successfully extracted using butanol or hexane solution for TT47 isolate. MIC of TT47-hexane extract was 0,1 mg/l, and the extract was not phytotoxic against the rice seed. Stability of the active metabolites in filtrate broth cultured isolate was relatively stable on pH range from acidic to basic (pH 4, 7, and 10) but was sensitive to temperature.

Keywords: Bioactive compound, *Ralstonia pickettii*, the rice sheath blight.

ABSTRAK

Isolat *R. pickettii* TT47 (TT47) merupakan isolat terpilih yang memiliki potensi penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan *R. solani* di tingkat *in vitro* dan menghambat perkembangan penyakit hawar pelepah padi di tingkat *in vivo*. Hasil pengujian aktivitas anticendawan dari filtrat biakan isolat tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan *R. solani* dapat dihambat secara signifikan. Dengan demikian di dalam biakan cair kedua isolat tersebut terkandung senyawa bioaktif anticendawan. Penekanan pertumbuhan *R. solani* oleh filtrat biakan isolat tersebut berkorelasi positif dengan pertumbuhan selnya. Senyawa bioaktif anticendawan dalam biakan cair isolat TT47 dapat diekstraksi menggunakan pelarut heksan atau butanol. Nilai MIC ekstrak heksan TT47 sebesar 0,1 mg/l serta ekstrak tersebut tidak bersifat fitotoksik terhadap benih padi. Stabilitas senyawa bioaktif anticendawan dalam filtrat biakan isolat relatif stabil pada kondisi asam (pH 4), netral (pH 7), dan basa (pH 10), tetapi menurun seiring dengan semakin tingginya perlakuan suhu yang diberikan.

Kata kunci: Senyawa bioaktif, *Ralstonia pickettii*, penyakit hawar pelepah padi.

PENDAHULUAN

Rhizoctonia solani Kühn merupakan salah satu cendawan penyebab penyakit pada tanaman padi. Patogen ini biasanya menginfeksi pada bagian pangkal batang atau pelepah tanaman yang menyebabkan bercak-bercak tidak beraturan berukuran besar. Penggunaan bahan kimia sintetik, khususnya fungisida untuk mengendalikan penyakit tanaman merupakan salah satu cara pengendalian yang relatif mudah dan efektif. Fungisida sintetik cukup banyak tersedia dan sering digunakan untuk pengendalian penyakit hawar pelepah padi. Namun demikian, upaya peningkatan keefektifan dan keamanan fungisida dalam penggunaannya perlu terus ditingkatkan, misalnya usaha untuk mendapatkan fungisida produk alami dengan residu relatif mudah terurai dan kurang berdampak negatif terhadap lingkungan.

Pengendalian hayati penyakit tanaman merupakan teknologi pengendalian penyakit yang ramah lingkungan. Dalam pengendalian hayati sesungguhnya tidak ditujukan untuk memusnahkan patogen tetapi mengupayakan populasi patogen berada pada tingkat yang tidak merugikan. Pengendalian hayati dapat dilakukan dengan cara menggunakan biakan mikroorganisme antagonis (agens hayati) atau senyawa antimikrob dalam metabolit sekundernya (Han *et al.* 2005). Namun demikian, penggunaan biakan mikroorganisme dalam bentuk sel hidup sering memberikan hasil pengendalian penyakit yang kurang konsisten (Mew *et al.* 2004) dibandingkan dengan penggunaan senyawa anticendawan yang dihasilkan mikroorganisme tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas senyawa bioaktif anticendawan dari isolat *R. pickettii* TT47 terhadap *R. solani* penyebab penyakit hawar pelepah padi.

BAHAN DAN METODE

Hubungan Pertumbuhan Sel dan Aktivitas Anticendawan

Sebanyak 1 ml biakan isolat bakteri TT47 dalam medium LB ditambahkan ke dalam tabung erlenmeyer 1 L yang berisi 200 ml medium LB steril. Sediaan diinkubasi dan selama inkubasi, 1 ml contoh diambil secara berkala untuk diukur nilai OD₆₀₀ dan ditentukan aktivitas anticendawannya terhadap *R. solani*.

Aktivitas anticendawan

Penentuan aktivitas anticendawan filtrat biakan dilakukan dengan metode peracunan medium.

Preparasi Senyawa Bioaktif Anticendawan dengan Teknik *Freeze Dryer*

Mula-mula biakan isolat bakteri dalam 500 ml medium LB yang telah diinkubasi selama 84 jam dipasteurisasi. Setelah sediaan dipasteurisasi, diuji aktivitas anticendawannya menggunakan metode peracunan medium

Uji stabilitas senyawa bioaktif terhadap pH dan Suhu.

Filtrat biakan *freeze dry* dilarutkan dalam air steril hingga didapatkan konsentrasi filtrat biakan 0,5%. Sediaan disentrifugasi (7840 g, selama 5 menit) dan diambil supernatannya.

Ekstraksi Senyawa Bioaktif Anticendawan dengan Pelarut Organik

Isolat bakteri dibiakan dalam labu Erlenmeyer 2 L yang berisi 0,5 L medium LB. Setelah itu, ekstraksi senyawa bioaktif anticendawan dari biakan isolat bakteri dilakukan dengan menggunakan 4 macam pelarut, yaitu butanol, etil asetat, heksan, dan kloroform, dengan perbandingan pelarut dan biakan isolat bakteri adalah 1:1 (v/v).

Uji aktivitas anticendawan

Ekstrak tiap pelarut disuspensikan dalam aseton pada konsentrasi 5%. Kemudian diuji aktivitas anticendawannya terhadap cendawan *R. solani* menggunakan metode PDD (*plate diffusion discs*).

Minimum inhibitory concentration (MIC). Penentuan MIC dilakukan dengan metode PDD.

Uji Fitoksisitas Ekstrak Heksan *R. pickettii* TT47

Metode pengujian dilakukan dengan cara menguji benih padi yang direndam (*seed treatment*) dengan ekstrak isolat bakteri antagonis pada konsentrasi 0,5% selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan Pertumbuhan Sel dan Aktivitas Anticendawan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan sel bakteri berkorelasi positif dengan aktivitas anticendawannya. Pertumbuhan sel isolat TT47 meningkat secara terus menerus hingga mencapai pertumbuhan tertinggi pada 48 jam waktu inkubasi, kemudian menurun hingga waktu akhir inkubasi. Begitu juga dengan aktivitas anticendawan filtratnya terhadap *R. solani* adalah cenderung meningkat tajam hingga 24 jam waktu inkubasi kemudian peningkatannya relatif melandai hingga 72 jam waktu inkubasi sebelum akhirnya menunjukkan sedikit penurunan pada waktu akhir inkubasi. Peningkatan aktivitas anticendawan tersebut ditunjukkan dalam bentuk terhambatnya pertumbuhan *R. solani* dibandingkan kontrol. Selain itu, secara visual, miselium yang tumbuh lebih tipis, makin longgar atau semakin kurang kompak seiring dengan makin lamanya waktu inkubasi filtrat biakan yang digunakan.

Aktivitas Senyawa Bioaktif Anticendawan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat filtrat dari biakan isolat bakteri yang dipasteurisasi pada suhu 60°C selama 30 menit ternyata tetap stabil menghambat pertumbuhan cendawan *R. solani*.

Tabel . Daya hambat senyawa bioaktif anticendawan dari filtrat biakan isolat bakteri TT47 setelah pasteurisasi

Perlakuan/ Isolat bakteri	Hambatan (%)	Deskripsi pertumbuhan koloni <i>R. solani</i>
<i>R. pickettii</i> TT47	100	Miselium tumbuh sangat sedikit dan sangat tipis
Kontrol	-	Hifa tumbuh baik

Stabilitas Senyawa Bioaktif Anticendawan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa bioaktif anticendawan dari isolat TT47 pada beberapa tingkat pH menunjukkan hambatan pertumbuhan *R. solani* relatif sama, dengan persentase hambatan 42-46%. Hasil pengamatan secara visual juga terlihat bahwa miselium *R. solani* memiliki ketebalan yang relatif sama pada masing-masing tingkat pH senyawa metabolit

anticendawan. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas senyawa bioaktif anticendawan dari isolat TT47 adalah relatif stabil pada kondisi pH asam, netral, atau basa.

Pada penelitian ini terlihat bahwa senyawa bioaktif anticendawan dari isolat TT47 pada beberapa tingkat suhu menunjukkan hambatan pertumbuhan *R. solani* berbeda. Hambatan pertumbuhan tersebut semakin menurun seiring dengan semakin tingginya perlakuan suhu yang diberikan. Hasil analisis statistik terhadap nilai hambatan pertumbuhan *R. solani* pada masing-masing isolat menunjukkan bahwa tiap perlakuan suhu berbeda nyata sesamanya. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas senyawa bioaktif anticendawan dari isolat TT47 sangat dipengaruhi oleh suhu.

Aktivitas Senyawa Bioaktif Anticendawan

Hasil pengujian aktivitas anticendawan masing-masing ekstrak terhadap *R. solani* menunjukkan bahwa isolat TT47 yang diekstraksi dengan pelarut butanol dan heksan ternyata mampu menekan pertumbuhan miselium *R. solani*. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak butanol dan heksan yang diperoleh mengandung senyawa anticendawan. Meskipun senyawa anticendawan dari biakan isolat TT47 dapat diekstraksi dengan pelarut butanol dan heksan namun tingkat aktivitas anticendawan ekstrak kasar (*crude extract*) kedua pelarut berbeda. Aktivitas anticendawan ekstrak heksan lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas anticendawan ekstrak butanol. Selain itu ekstraksi menggunakan pelarut heksan lebih mudah dilakukan, khususnya pada saat evaporasi karena pelarut heksan memiliki titik didih lebih rendah dibandingkan dengan titik didih butanol sehingga pelarut heksan lebih mudah diuapkan.

Sampai saat ini bakteri *R. picketti* lebih banyak dilaporkan perannya sebagai bioremediasi dan pendegradasi sejumlah senyawa toksik (Ryan *et al.* 2007; Elango *et al.* 2006) dan belum ada dilaporkan sebagai agens antagonis yang memiliki aktivitas anticendawan terhadap *R. solani* sehingga pelarut yang cocok untuk mengekstraksi senyawa anticendawannya juga belum dilaporkan.

Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

MIC adalah konsentrasi terendah suatu agens antimikrob yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme setelah diinkubasi selama 24 jam. Semakin rendah nilai MIC suatu agens antimikrob mengindikasikan semakin baik agens antimikrob tersebut. MIC merupakan pengukuran paling mendasar dari aktivitas suatu antimikrob terhadap suatu organisme (Turnidge *et al.* 2003).

Uji Fitotoksitas Ekstrak Heksan *R. pickettii* TT47

Perlakuan ekstrak heksan *R. picketti* TT47 pada benih padi memberikan daya kecambah tidak berbeda nyata dengan kontrol. Ekstrak tersebut juga tidak menyebabkan panjang akar dan panjang batang benih padi menjadi berkurang, justru ekstrak heksan dengan nyata meningkatkan panjang batang dibandingkan kontrol. Hal ini berarti bahwa ekstrak isolat bakteri tersebut tidak bersifat fitotoksik terhadap benih padi melainkan bersifat meningkatkan pertumbuhan benih padi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktivitas anticendawan dari filtrat biakan *R. pickettii* TT47 adalah berkorelasi positif dengan pertumbuhan selnya. Senyawa bioaktif anticendawan dalam biakan cair isolat TT47 dapat diekstraksi menggunakan pelarut heksan atau butanol. Ekstrak heksan isolat TT47 tidak bersifat fitotoksik terhadap benih padi. Senyawa bioaktif anticendawan yang aktif dalam filtrat biakan isolat TT47 relatif stabil pada kondisi asam, netral, dan basa tetapi cenderung menurun seiring dengan semakin tingginya perlakuan suhu yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Elango VK, Liggenstoffer AS, Fathepure BZ. 2006. Biodegradation of vinyl chloride and cis-dichloroethene by a *Ralstonia* sp. strain TRW-1. *Appl Microbiol Biotechnol* 72: 1270-1277.
- Lee FN, Rush MC. 1983. Rice sheath blight. A major rice disease. *Plant Disease* 67: 829-832.
- Liu CH, Chen X, Liu TT, Lian B, Yucheng Go, Caer V, Xue YR, Wang BT. 2007. Study of the antifungal activity of *Acinetobacter baumannii* of its antifungal components. *Appl Microbiol Biotechnol* 76: 459-466.
- Mew TW, Cottyn B, Pamplona R, Barrios H, Xiangmin L, Zhiyi C, Fan L, Nilpanit N, Arunyanart P, Kim PV, Du PV. 2004. Applying rice seed-associated antagonistic bacteria to manage rice sheath blight in developing countries. *Plant Disease* 88: 557-564.
- Mohapatra BR, Bapuji M, Sree A. 2002. Antifungal efficacy of bacteria isolated from marine sedentary organisms. *Folia Microbiol* 47 (1): 51-55.
- Ou SH. 1985. *Rice disease*. Edisi ke-2. Kew, Surrey: Commonwealth Mycological Institute.
- Ryan MP, Pembroke JT, Adley CC. 2007. *Ralstonia pickettii* in environmental biotechnology: potential and applications. *J Appl Microbiol* 103:754-764.
- Turnidge JD, Ferraro MJ, Jorgensen JH. 2003. Susceptibility Test Methods: General Considerations. Di dalam: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology*. Ed-8. Washington: American Society of Clinical Microbiology.