

## MEKANISME ANTAGONIS LIMA ISOLAT *Bacillus subtilis* TERHADAP *Colletotrichum capsici* DAN *C. gloeosporioides* IN VITRO

*Antagonistic Mechanism of Five Isolates of Bacillus subtilis to Colletotrichum capsici and Colletotrichum gloeosporioides In Vitro*

Nur Kholida Wulansari<sup>1\*</sup>, Nur Prihatiningsih<sup>2</sup>, dan Heru Adi Djatmiko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Pasca Sarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2</sup>Staf Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman

Jl. dr. Soeparno Purwokerto 53123

\*Alamat Korespondensi: lisawulansari1989@gmail.com

### ABSTRAK

*Colletotrichum capsici* dan *C. gloeosporioides* adalah jamur patogen penting pada cabai merah yang dapat menurunkan produktivitas. Upaya untuk mengatasi permasalahan ini yaitu dengan pengendalian hayati menggunakan *Bacillus subtilis*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat lima isolat *B. subtilis* yaitu B46, B209, B211, B298, dan B315 terhadap patogen *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* asal tanaman cabai. Percobaan laboratorium dilakukan berdasarkan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 ulangan. Pengujian in vitro dilakukan menggunakan teknik *dual culture* pada medium PDA. Hasil penelitian menunjukkan efektifitas penghambatan *C. capsici* paling baik pada isolat B209 sebesar 34,25%. Efektifitas penghambatan *C. gloeosporioides* pada isolat B211 sebesar 28,89%. Efektifitas penghambatan berpengaruh pada bobot kering miselium dan morfologi hifa *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*. Morfologi hifa *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* mengalami lisis, menebal, dan membengkak.

Kata kunci: *C. capsici*, *C. gloeosporioides*, *B. subtilis*, antagonistik, daya hambat

### ABSTRACT

*Colletotrichum capsici* and *C. gloeosporioides* are an important pathogen on red chili pepper and caused productivity losses. Biological control using *B. subtilis* is an attempt to solve the problem. The objectives of this study is to determines the inhibition ability of five *B. subtilis* isolates, i.e. B46, B209, B211, B298, dan B315 against *C. capsici* and *C. gloeosporioides* pathogens from chili pepper. Laboratory experiments arranged in complete randomized design with five replication. Dual culture method used PDA medium on in vitro test. Result showed the best inhibition effectiveness of *C. capsici* on B209 isolates at 34.25%. The best inhibition effectiveness of *C. gloeosporioides* on B211 isolates at 28,89%. The inhibition effectiveness affects mycelium dry weight and hypha morphology of *C. capsici* and *C. gloeosporioides*. Hypha morphology of *C. capsici* and *C. gloeosporioides* is lysis, thickening, and swelling.

Key words: *C. capsici*, *C. gloeosporioides*, *B. subtilis*, antagonistic, inhibitor ability

### PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu tanaman sayuran yang penting di Indonesia. Produktivitas cabai mengalami peningkatan dari 8,35 ton/ha di tahun 2014 menjadi 8,65 ton/ha 2015 (Badan Pusat Statistik, 2016). Produktivitas cabai merah di Indonesia akan tetapi masih jauh dari potensinya yang dapat mencapai 12-20 ton/ha (Purwati dkk,

2010; Syukur dkk, 2010). Salah satu faktor utama yang menyebabkan rendahnya produktivitas cabai di Indonesia adalah gangguan hama dan penyakit (Semangun, 2000). Antraknosa merupakan penyakit yang dominan pada tanaman cabai yang menyebabkan rendahnya produktivitas cabai di Indonesia (Herwidayarti dkk., 2013; Hasyim et al., 2014; Nura dkk., 2015). Kehilangan hasil akibat penyakit

antraknosa dilaporkan dapat mencapai lebih dari 50% (Saxena *et al.* 2016; Palupi *dkk.*, 2015).

Antraknosa pada cabai disebabkan oleh genus *Colletotrichum*, diantaranya yaitu *C.capsici* dan *C. gloeosporioides* (Hasyim *et al.*, 2014). Pengendalian penyakit antraknosa yang dilakukan petani umumnya menggunakan fungisida kontak dan fungisida sistemik secara intensif. Namun penggunaan fungisida secara berlebihan tidak hanya menyebabkan peningkatan biaya produksi tetapi juga mengakibatkan resiko kesehatan petani dan konsumen serta merusak lingkungan (Farid dan Utari, 2010). Oleh karena itu penggunaan biopestisida dari mikroba antagonis mulai dikembangkan salah satunya dengan memanfaatkan bakteri *Bacillus* sp.

*Bacillus* sp. adalah bakteri antagonis terhadap beberapa patogen tular tanah dan tular udara (Prihatiningsih *dkk.*, 2014). *B. subtilis* merupakan salah satu spesies dari *Bacillus* sp. yang potensial sebagai agens pengendali hayati. *B. subtilis* diketahui memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati beberapa patogen tumbuhan (Slepecky and Henphill, 2006). Kemampuan bakteri *B. subtilis* sebagai agens hayati berkaitan dengan kemampuannya bersaing untuk mendapatkan nutrisi, menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti

antibiotik, siderofor dan enzim ekstraseluler (Soesanto, 2008). *B. subtilis* diketahui dapat mengendalikan patogen *Magnaporthe grisea* (Ali and Nadarajah, 2014), *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* (Wartono *dkk.*, 2015) dan *R. solanacearum* (Aini dan Abadi, 2004; Prihatiningsih *dkk.*, 2015).

Mekanisme pengendalian antagonis *B. subtilis* adalah dengan persaingan atau kompetisi, antibiosis, parasitisme dan lisis. Mekanisme penekanan dengan persaingan ditunjukkan pada pengujian dengan jamur patogen yang dibiakkan secara ganda dengan memperebutkan ruang, nutrisi, dan oksigen dengan melihat perkembangan patogen dan antagonis. Mekanisme penekanan dengan persaingan ditunjukkan pada pengujian dengan jamur patogen yang dibiakkan secara ganda dengan memperebutkan ruang, nutrisi, dan oksigen dengan melihat perkembangan patogen dan antagonis tersebut mana yang lebih cepat memenuhi cawan petri dengan diameter 90 mm. Apabila masing-masing antagonis mampu menghambat jamur maka bersifat fungistatik, dan apabila mematikan patogen maka bersifat fungisidal.

Penelitian yang dilakukan telah menghasilkan isolat baru *B. subtilis* yaitu B46, B209, B211, B298 dan B315 (Prihatiningsih dan Kustantinah, 2005). Isolat *B. subtilis* ini telah dicobakan untuk pengendalian penyakit layu bakteri di

kentang (Prihatiningsih dkk., 2015) dan tomat. Pada penelitian ini dilakukan pengujian *B. subtilis* isolat B46, B209, B211, B298 dan B315 untuk pengendalian penyakit antraknosa pada cabai. Permasalahan yang dihadapi adalah apakah lima isolat *B. subtilis* (B46, B209, B211, B298 dan B315) mempunyai mekanisme antagonis yang sama atau berbeda dalam menekan pertumbuhan patogen *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* *in-vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari mekanisme lima isolat *B. subtilis* untuk menekan pertumbuhan patogen *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* *in-vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Percobaan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman pada bulan Maret sampai September 2017. Antagonis yang digunakan dalam penelitian adalah *B. subtilis* yang berasal dari isolat murni terdiri dari lima isolat yaitu B46, B209, B211, B298 dan B315 (Koleksi Prihatiningsih). Jamur *Colletotrichum* sp diisolasi dari buah cabai merah besar bergejala antraknosa. Bahan kimia yang digunakan adalah medium biakan PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan NA (*Natrium Agar*). Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan lima ulangan. Faktor yang dicoba adalah

dua spesies *Colletotrichum* sp., yaitu *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* dan lima isolat *B. subtilis*, yaitu B46, B209, B211, B298 dan B315.

### Isolasi dan Perbanyakan *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*

Isolasi *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* dilakukan dengan menumbuhkan cabai yang bergejala antraknosa pada medium PDA (Paramita et al., 2014; Nurhayati, 2007). Cabai yang bergejala antraknosa dipotong 1 cm, disterilkan dengan alkohol dan dicuci bersih dengan air steril. Selanjutnya, cabai ditanam pada media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang. Setelah 7 hari, koloni yang tumbuh dimurnikan dan diamati (Rabha et al., 2014; Onofre and Antoniazzi, 2014). Isolat *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* murni diperbanyak pada medium PDA untuk uji antagonistik.

### Peremajaan isolat *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 dan B315

Isolat murni *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 dan B315 masing-masing diperbanyak pada media NA miring dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari. Semua pekerjaan dilakukan secara aseptis pada *Laminar Air Flow* (LAF).

### Uji Antagonisme *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 dan B315 terhadap *Colletotrichum* sp.

Pengujian antagonis *B. subtilis* terhadap patogen *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* dilakukan pada media PDA

dual culture (Muthukumar, 2013) menggunakan koloni *B. subtilis*B46 x *Colletotrichum* sp.,*B. subtilis*B209 x *Colletotrichum* sp.,*B. subtilis*B211 x *Colletotrichum* sp., *B. subtilis*B298 x *Colletotrichum* sp., dan *B. subtilis* B315 x *Colletotrichum* sp. Setiap isolat *B. subtilis* dari medium NA diambil 1 jarum ose di goreskan ke dalam medium PDA sepanjang 3 cm, diinkubasi pada suhu ruang selama 1 hari. Hari berikutnya jamur *Colletotrichum* sp. dipotong dengan diameter 5 mm diletakkan cawan petri dengan jarak 2,5 cm dari *B. subtilis* (Evans *et al.*, 2003; Khadim *et al.*, 2014), kemudian diinkubasi pada suhu kamar. Perlakuan tersebut diulang 5 kali. Variabel yang diamati adalah penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum* sp., bobot kering miselium dan studi morfologi miselium. Data penghambatan pertumbuhan dan bobot kering miselium dianalisis menggunakan uji ragam. Jika uji ragam berbeda nyata dilanjutkan dengan uji jarak ganda duncan pada taraf kesalahan 5%.

#### Penghambatan pertumbuhan *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*

Pertumbuhan patogen dicatat dan data diperoleh dari persentase penghambatan pertumbuhan jejeri dengan rumus (Hyun *et al.*, 2013):

$$PP = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

Keterangan:

PP = penghambatan pertumbuhan (%)

R1 = jari-jari koloni patogen yang berlawanan dengan arah antagonis.

R2 = jari-jari koloni patogen yang mengarah kearah antagonis.

#### Bobot kering miselium *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*

Bobot kering miselium jamur dihitung pada hari terakhir setelah cawan petri tanpa perlakuan dipenuhi oleh jamur (hari ke-7). Untuk mengukur bobot kering miselium jamur, setiap cawan petri ditambah dengan 10 ml HCl 1% dan dipanaskan dengan water bath, kemudian disaring dengan menggunakan kertas Whatman steril yang sebelumnya ditimbang bobotnya. Selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 2 hari dan ditimbang. Bobot kering miselium dapat dihitung dengan rumus:

$$BKM = BKK - BKP$$

Keterangan :

BKM = bobot kering miselium

BKK = bobot kering kontrol

BKP = bobot kering perlakuan

#### Studi Morfologi Miselium

Dilakukan dengan mengamati perkembangan miselium *Colletotrichum* sp yang berbatasan dengan *B. subtilis*. Pengamatan dilakukan pada hari setelah miselium *Colletotrichum* sp. bersinggungan dengan *B. subtilis*, dengan melihat penyebaran koloni, arah pertumbuhan koloni, perubahan ujung miselium yang menunjukkan pembengkakan bagian-bagian miselium (Martinius *et al.*, 2010).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Jamur *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* ditemukan berasosiasi dengan buah cabai besar yang menunjukkan gejala berupa bercak coklat kehitaman, melekuk ke dalam dan terdapat titik-tik hitam pada bercak. Titik-tik hitam ini merupakan kumpulan seta dan konidium yang akan menyebar dan menginfeksi buah dan tanaman cabai (batang dan daun) (Paramita *dkk.*, 2014; Sudirga, 2016; Kumar *et al.*, 2015).

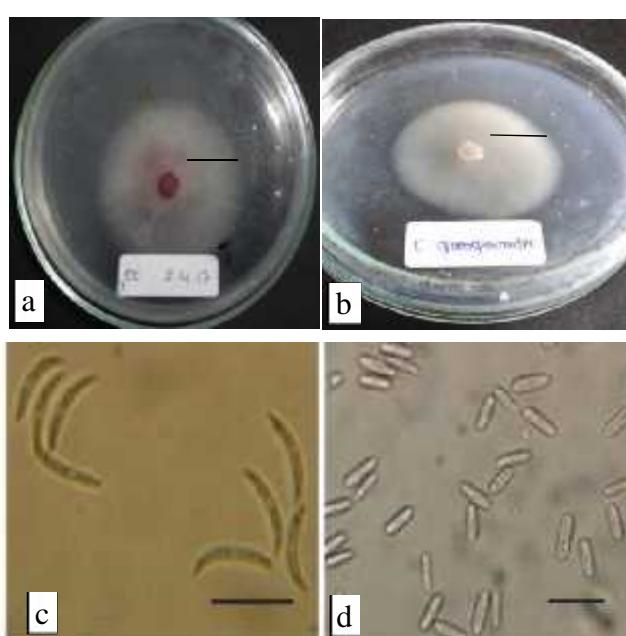
### Isolasi dan Perbanyakan *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*

Perkembangan koloni *C. capsici* pada medium PDA terlihat warna merah kelabu, konidium berukuran panjang 18-23  $\mu\text{m}$  lebar 3,5-4  $\mu\text{m}$ , berbentuk bulan sabit (Gambar 1 a-c). Koloni *C. gloeosporioides* berwarna putih sampai hitam kelabu,

konidium berukuran panjang 9-24  $\mu\text{m}$  lebar 3,5-4  $\mu\text{m}$ , berbentuk lurus dengan ujung bulat, hialin (Cano *et al.* 2014; Santos *et al.* 2013; Moe and Oh, 2016).

### Peremajaan isolat *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 dan B315

Hasil perbanyakan isolat *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 dan B315 yang ditumbuhkan pada medium miring YPGA dan NA dan diinkubasi 2x24 jam menunjukkan koloni yang beragam (Gambar 2). Warna koloni pada umumnya putih susu sampai kekuningan atau putih suram. Tepi koloni tidak rata, permukaan kasar, pada isolat B209, B211, B298 dan B315 tidak berlendir, sedangkan isolat B46 berlendir. Koloni berukuran besar dan tidak mengkilat (Rheinheimer, 1991; Khadim *et al.*, 2014).



Gambar 1. Hasil pengamatan *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* (perbesaran 400x). a. *C. capsici* pada medium PDA umur 4 hari; b. *C. gloeosporioides* pada medium PDA umur 4 hari; c. konidia jamur *C. capsici*; d. konidia jamur *C. gloeosporioides* (Sumber: Santos *et al.*, 2013).



Gambar 2. Isolat *B. subtilis* yang ditumbuhkan pada medium miring YPGA.

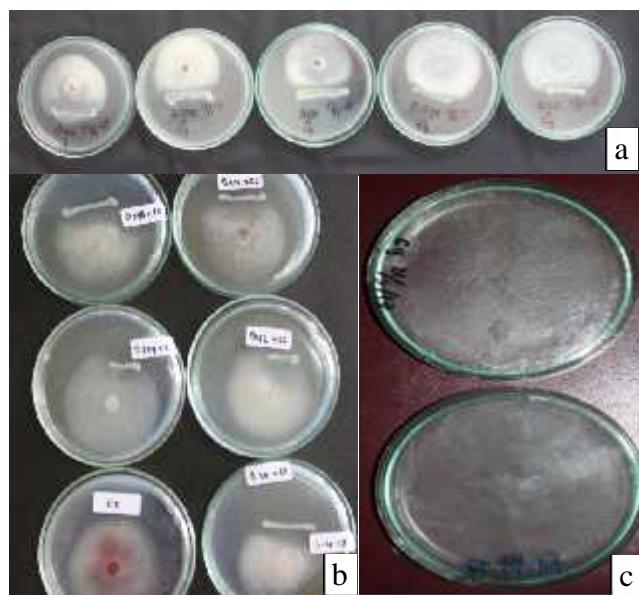
**Uji Antagonisme *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 dan B315 terhadap *Colletotrichum* sp.**

Uji antagonisme lima isolat *B. subtilis* dilakukan secara *in-vitro* masing-masing terhadap *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* dan kontrol tanpa isolat Bacillus. Penghambatan Isolat *Bacillus* B46, B209, B211, B298 dan B315 terhadap *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* dapat dilihat pada Gambar 3a dan 3b. Nampak adanya penghambatan pada pertumbuhan *C. gloeosporioides* dan *C. capsici* pada hari ke 5. Sedang kontrol tidak mengalami penghambatan, terlihat koloni memenuhi cawan petri (Gambar 3c).

Hasil analisis ragam menunjukkan interaksi antara *B. subtilis* dan *Colletotrichum* sp. berbeda nyata pada variabel daya hambat. Artinya daya hambat dipengaruhi oleh *B. subtilis* dan *Colletotrichum*. Hampir semua isolat *B. subtilis* memiliki potensi menghambat pertumbuhan *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* kecuali pada isolat B46 (Tabel 1). Penghambatan isolat *B. subtilis*

terhadap *C. capsici* terbaik diperoleh pada isolat B209 (34,25%) dan B298 (34,00%) yang berbeda dengan isolat B211 (23,65%) dan B315 (23,51%). Pada penghambatan terhadap *C. gloeosporioides*, semua isolat memiliki kemampuan yang sama kecuali pada isolat B46.

Tabel 1 menunjukkan isolat B209 dan B298 memiliki daya hambat yang berbeda terhadap *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*. Daya hambat isolat B209 dan B298 terhadap *C. capsici* lebih tinggi dibandingkan dengan daya hambatnya terhadap *C. gloeosporioides*. Hasil lain menunjukkan kemampuan daya hambat pada isolat B211 dan B315 terhadap *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* adalah sama. Namun demikian, isolat B209, B211, B298 dan B315 memiliki daya hambat terhadap *C. gloeosporioides* yang sama. Daya hambat isolat B209 dan B298 terhadap *C. gloeosporioides* lebih kecil dibandingkan dengan *C. capsici* karena perkembangan *C. gloeosporioides* lebih cepat dan lebih virulen (Phouliving, 2011).



Gambar 3. Uji *Dual Culture*. **A.** Isolat B46, B209, B211, B298 dan B315 dengan *C. gloeosporioides*, **B.** Isolat B46, B209, B211, B298 dan B315 dengan *C. capsici*, **C.** Kontrol *C. gloeosporioides* dan *C. capsici*.

Tabel 1. Daya hambat (%) lima isolat *B. subtilis* terhadap *Colletotrichum sphari* ke 5 setelah inokulasi

Isolat <i>B. subtilis</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	
	<i>C. capsici</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
Kontrol	0,00 c x	0,00 b x
B46	4,85 c x	4,75 b x
B209	34,25 a x	25,77 a y
B211	23,65 b x	28,89 a x
B298	34,00 a x	24,15 a y
B315	23,51 b x	24,03 a x

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti dengan huruf yang sama (a, b, dan c) tidak berbeda nyata pada taraf kesalahan 5%; angka dalam baris yang diikuti dengan huruf yang sama (x dan y) tidak berbeda nyata pada taraf kesalahan 5%.

Perbedaan efektifitas penghambatan ini karena masing-masing isolat memiliki kemampuan penghambatan yang beragam. Kemampuan penghambatan tersebut diantaranya produksi antibiotik dan produksi enzim. Hal tersebut terlihat dengan adanya zona bening pada medium.

Slepecky and Hemphill (2006) dan Chowdhury *et al.* (2015) menyatakan bahwa *B. subtilis* mampu memproduksi 68 jenis antibiotik dan *B. brevis* memproduksi 23 jenis antibiotik. Prihatiningsih *dkk.* (2015) menyatakan bahwa B315 menghasilkan antibiotik pada uji *in-vitro*

Tabel 2. Bobot kering miselium (g) *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* pada perlakuan isolat *B. subtilis*

Isolat <i>B. subtilis</i>	<i>Colletotrichum</i> sp	
	<i>C. capsici</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
Kontrol	0,124 a x	0,145 a x
B46	0,100 ab x	0,126 a x
B209	0,084 bc x	0,074 b x
B211	0,094 b x	0,097 b x
B298	0,056 c x	0,075 b x
B315	0,092 b x	0,035 c y

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti dengan huruf yang sama (a, b, dan c) tidak berbeda nyata pada taraf kesalahan 5%; angka dalam baris yang diikuti dengan huruf yang sama (x dan y) tidak berbeda nyata pada taraf kesalahan 5%.

dengan *Ralstonia solanacearum*. Mekanisme penghambatan yang lain yaitu persaingan atau kompetisi, antibiosis, parasitisme dan lisis (Prashar *et al.* 2013; Rungjindamai, 2016).

Analisis ragam menunjukkan bobot kering miselium dipengaruhi oleh interaksi antara *B. subtilis* dan *Colletotrichum* sp. Kemampuan masing-masing isolat *B. subtilis* dalam menghambat pertumbuhan patogen *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* *in-vitro* ditunjukkan pada Tabel 2 kaitannya dengan bobot kering miselium. Bobot kering miselium *C. capsici* menurun pada semua perlakuan isolat *B. subtilis* kecuali pada isolat B46. B298 merupakan isolat yang mampu menekan pertumbuhan *C. capsici* yang terbaik dan tidak berbeda nyata dengan B209. Akan tetapi, bobot

miselium *C. capsici* pada perlakuan isolat B209, B315, B211 dan B46 adalah sama.

Isolat B209, B211, B298 dan B315 mampu menekan pertumbuhan *C. gloeosporioides*. Hal ini ditunjukkan dengan bobot kering miselium *C. gloeosporioides* pada perlakuan isolat tersebut yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Namun demikian bobot kering *C. gloeosporioides* pada kontrol sama dengan pada isolat B46. Artinya isolat B46 tidak efektif menekan pertumbuhan miselium *C. gloeosporioides*.

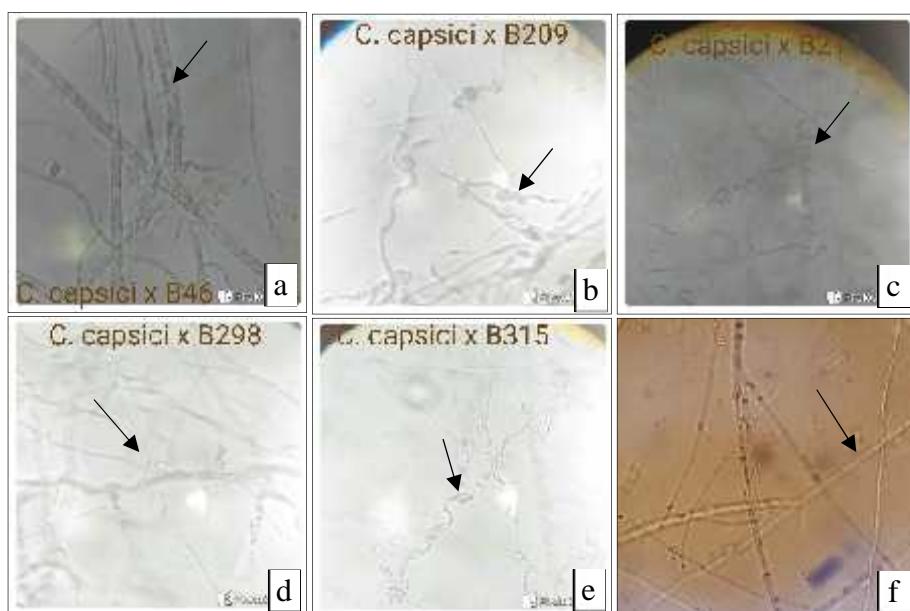
Hasil penelitian menunjukkan pada semua perlakuan bobot kering miselium *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* adalah sama kecuali pada isolat B315. Bobot kering miselium *C. capsici* pada perlakuan isolat B315 lebih besar dibandingkan bobot kering miselium *C. gloeosporioides*.

Artinya isolat B315 lebih efektif terhadap *C. gloeosporioides* pada pengujian *in vitro*.

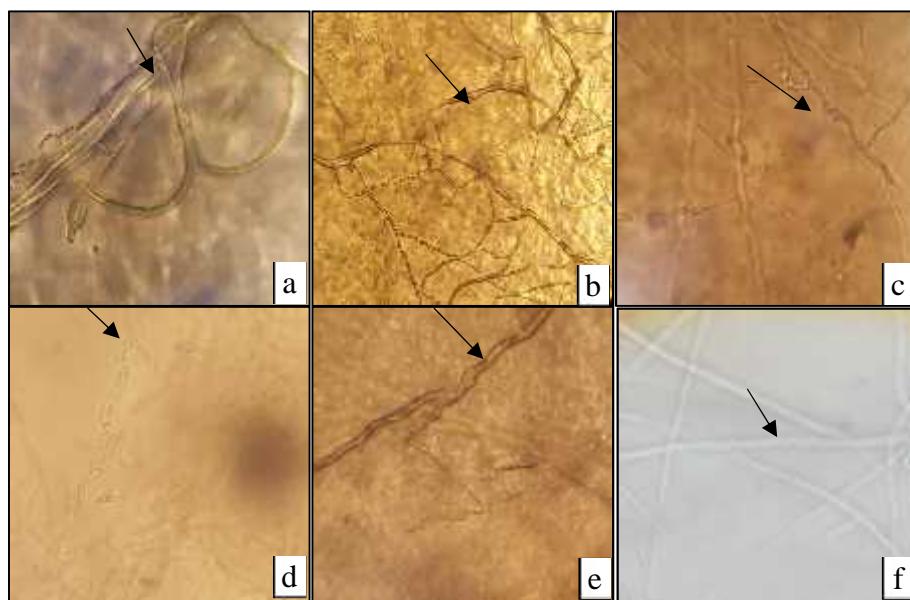
Perbedaan kemampuan isolat-isolat *B. subtilis* di dalam menghambat pertumbuhan dan bobot kering misellium jamur patogen diduga disebabkan oleh keragaman yang tinggi antar isolat *B. subtilis*, sesuai dengan pendapat Bais *et al.* (2004). Strain *B. subtilis* memiliki kemampuan menghambat patogen yang beragam karena memiliki antibiotik yang berbeda, seperti surfaktin, bacilysin, subtilin, subtilosin, fengisin. *B. subtilis* juga menghasilkan enzim kitinase yang dapat menghambat dan mendegradasi kitin pada dinding sel jamur sehingga jamur mengalami lisis (Rahayuniati dan Mugiaستuti, 2012). Kemampuan isolat *B. subtilis* dalam mendegradasi dinding sel *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.

Gambar 4. menunjukkan morfologi hifa *C. capsici* mengalami kerusakan berupa penebalan dan pembengkakan hifa akibat perlakuan isolat *B. subtilis*, berbeda dengan kondisi normal atau kontrol. Pada kontrol, hifa nampak lurus dan bercabang tanpa kerusakan. Pembengkakan hifa diperoleh pada *C. capsici* yang ditumbuhkan pada perlakuan isolat B209, B211, B298 dan B315. Pada perlakuan isolat B46, *C. capsici* hanya mengalami penebalan hifa.

*C. gloeosporioides* mengalami kerusakan berupa penebalan, dan lisis. Pada kondisi normal atau kontrol, hifa *C. gloeosporioides* nampak lurus dan bercabang tanpa kerusakan (Gambar 5). Hifa *C. gloeosporioides* pada perlakuan isolat B46 dan B209 mengalami penebalan. Isolat B315 menyebabkan hifa *C. gloeosporioides* menebal dan membengkak.



Gambar 4. Morfologi hifa *C. capsici* pada perlakuan isolat *B. subtilis*. (a) Menebal, (b-c-e) Membengkak, (d) lisis dan f. Normal.



Gambar 5. Morfologi hifa *C. gloeosporioides* pada perlakuan isolat *B. subtilis*. **a.** Isolat B46, **b.** Isolat B209, **c.** Isolat B211, **d.** Isolat B298, **e.** Isolat B315 dan **f.** Kontrol (tanpa isolat *B. subtilis*). (**a,b,c,e**) Menebal, (**d**) Lisis, (**f**) Normal.

Isolat B315 menyebabkan hifa *C. gloeosporioides* menebal dan membengkak. Hifa *C. gloeosporioides* mengalami lisis pada perlakuan isolat B211 dan B298.

Miselium mengalami penghambatan pertumbuhan karena kerusakan yang disebabkan adanya mekanisme isolat *B. subtilis*. *B. subtilis* diketahui menghasilkan metabolit sekunder seperti pyrrolnitrin, penazine and cepabactin yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan morfologi misellium (Rahman *et al.*, 2007; Cartwright *et al.*, 1995). *B. subtilis* menghasilkan antibiotik yang dapat menembus sel patogen dan menghambat aktivitas patogen yang menyebabkan kerusakan sel dan hifa (Moreira *et al.*, 2014). *B. subtilis* juga memproduksi dan mensekresikan siderofor dan hidrogen sianida yang beracun bagi patogen (Wang *et al.*, 2009; Ali and Nadarajah, 2014).

## KESIMPULAN

Lima isolat *B. subtilis* mampu menghambat pertumbuhan *C. capsici* dan *C. gloeosporioides*. Isolat B209 memiliki efektifitas penghambatan terbaik pada *C. capsici*, sedangkan pada *C. gloeosporioides* isolat yang memiliki penghambatan terbaik yaitu B315. Perlakuan isolat *B. subtilis* menyebabkan morfologi hifa *C. capsici* dan *C. gloeosporioides* mengalami lisis, menebal, dan membengkak.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diucapkan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Aini, L. Q. dan A. L. Abadi. 2004. Keragaman bakteri endofit dalam

- jaringan akar tanaman pisang serta potensi antagonistiknya terhadap bakteri patogen penyebab penyakit layu pada tanaman pisang. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 16(2): 113-124.
- Ali, H. and K. Nadarajah. 2014. Evaluating the efficacy of *Trichoderma* spp and *Bacillus subtilis* as biocontrol agents against *Magnaporthe grisea* in rice. *Australian Journal of Crop Science*, 8(9): 1324-1335.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi cabai besar menurut provinsi, 2010-2016. Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura.
- Bais, H.P., R. Fall, and J. M. Vivanco. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of arabiopsis Roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, 134: 307-319.
- Cartwright, D.K, W. S. Chilton dan D.M. Benson. 1995. Pyrrolnitrin and phenazine production by *Pseudomonas cepacia*, strain 5.5B, a biological agent of *Rhizoctonia solani*. *Applied Microbiology Biotechnology*, 43(2): 211-216.
- Cano, J., J. Guarro, and J. Gene. 2014. Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest. *Jurnal of Clinical Microbiol*, 42(6): 2450-2454.
- Chowdhury, P.S., A. Hartmann, X. W. Gao and R. Borrius. 2015. Biocontrol mecanism by root-asoosiated *Bacillusamyloliquefaciens* FZ-B42. *Frontiers in Microbiology*, 6(780): 1-11.
- Evans, H.C., K.A. Holmes, and S.E. Thomas. 2003. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest Tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agens of cocoa disease. *Mycologycal progress*, 2: 149-160.
- Farid, N., dan D. S. Utari. 2010. Genetika sifat ketahanan cabai merah terhadap virus ChiVMV. *Jurnal Agrin*, 14(2): 148 – 158.
- Hasyim, A., W. Setiawati and R. Sutarya. 2014. Screening for resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in chili pepper (*Capsicum annuum L.*) in Kediri, East Java. *AAB Bioflux*, 6(2): 104 – 118.
- Herwidayarti, K. H., S. Ratih dan D. R. J. Sembodo. 2013. Keparahan penyakit antraknosa pada cabai (*Capsicum annuum L.*) dan berbagai jenis gulma. *Jurnal Agrotek Tropika*, 1(1): 102-106.
- Hyun, S.J., N.C. Paul, J.X. Deng, Y.S. Kim, B.S. Yun dan S.H. Yu. 2013. Biocontrol activity of *bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. *Mycrobiology*, 41(4): 243-242.
- Khadim, M., P.A. Mihardjo dan A. Majid. 2014. Efektivitas beberapa isolat *Bacillus* spp. untuk mengendalikan patogen jamur *Rhizoctonia solani* pada tanaman kedelai. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 10(10): 1-10.
- Kumar, S., V. Kumar and V. Singh. 2015. Interaction of *Colletotrichum capsici* in chilli variety. *Life Sciences Leaflet*: 41 – 48.
- Martinius, Y. Liswarni, dan Y. Miska. 2010. Uji konsentrasi rebusan daun serai wangi *Andropogon nardus* L. (Gramineae) terhadap pertumbuhan jamur *Colletrotichum gloeosporioides* Penz. penyebab penyakit antraknosa pada pepaya secara in vitro. *Manggaro*, 11(2): 57-64.
- Moe, M. O., and S. K. Oh. 2016. Chilli antracnose (*Colletotrichum* spp.) disease and its management approach.

- Korean Journal of Agricultural Science, 43(2): 153 – 162.
- Moreira, R.R., C. Nunes, and L. Larissa. 2004. *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* as inhibitors of the *Colletotrichum acutatum* group and potential to control *Glomerella* leaf spot. *Biological Control*, 72: 30-37.
- Muthukumar, A. and A. Venkatesh. 2013. Exploitation of fungal and endophytic bacteria for the management of leaf blight of ribbon plant. *J. Plant. Pathol. Microb*, 4(10): 2-5.
- Nura, M. Syukur, N. Khumaida dan Widodo. 2015. Radiosensitivitas dan heritabilitas ketahanan terhadap penyakit antraknosa pada tiga populasi cabai yang diinduksi iradiasi sinar gamma. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 43(3): 201 – 206.
- Nurhayati. 2007. Pertumbuhan *Colletotrichum capsici* penyebab antraknosa buah cabai pada berbagai media yang mengandung extrak tanaman. *Jurnal Rafflesia*, 9(1): 1411-2434.
- Onofre, S.B. and D. Antoniazzi. 2014. Behavior of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz & Sacc.), which causes bitter rot in apples after harvesting. *Advances in Microbiology*, 4: 202 – 206.
- Palupi, H., I. Yulianah dan Respatijarti. 2015. Uji ketahanan 14 galur cabai besar (*Capsicum annuum* L.) terhadap penyakit antraknosa (*Colletotrichum* spp) dan layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*). *Jurnal Produksi Tanaman*, 3(8): 640–648.
- Paramita, N. R., C. Sumardiyono, dan Sudarmadi. 2014. Pengendalian kimia dan ketahanan *Colletotrichum* spp. terhadap fungisida simoksanil pada cabai merah. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 18(1): 41-46.
- Phouliving. 2011. *Colletotrichum*, naming, control, resistance, biocontrol of weeds and current challenges. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 1(1): 53-73.
- Prashar, P., N. Kapoor, and S. Sachdeva. 2013. Isolation and characterization of *Bacillus* sp with *In-vitro* antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* from rhizosphere of tomato. *Journal Agricultural Science and Technology*, (15):1501-1512.
- Prihatiningsih, N., dan Kustantinah. 2005. Uji penerapan lima isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer kentang terhadap *Ralstonia solanacearum*, pertumbuhan dan hasil tanaman tomat. *Jurnal Agrin*, 9(1): 121 – 129.
- Prihatiningsih, N., T. Arwiyanto, B. Hadisutrisno dan J. Widada. 2014. Seleksi mutan antibiosis *Bacillus subtilis* B315 untuk pengendalian *Ralstonia solanacearum* Pr7. *Jurnal Agrin*, 18(1): 67 – 79.
- Prihatiningsih. 2015. Mekanisme antibiosis *Bacillus subtilis* B315 untuk mengendalikan penyakit layu bakteri kentang. *Jurnal HPT Tropika*, 15(1): 64-71.
- Purwati, E., B. Jaya dan A.S. Duriat. 2000. Penampilan beberapa varietas cabai dan uji resistensi terhadap penyakit virus kerupuk. *Jurnal Hortikultura*, 10:88-94.
- Rabha, A. J., Gauri, D. S., Vijay. V., Ashok, N., and Hemant, K. G. 2014. In Vitro Evaluation of Antagonism of Endophytic *Colletotrichum gloeosporioides* Against Potent Fungal Pathogens of *Camellia sinensis*. *Indian J Microbiol*. 54(3):302–309.
- Rahayuniati, R.F. dan E. Mugiaستuti. 2012. Keefektifan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* mengendalikan *Fusarium oxysporum*

- f.sp. lycopersici* dan *Meloidogyne sp.* penyebab penyakit layu pada tomat secara *in vitro*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 12(1): 65 – 70.
- Rahman, M.A, J. Kadir, T.M.M Mahmud, R. A. Rahman dan M.M Begum. 2007. Screening of Antagonistic Bacteria for Biocontrol Activitie o Colletotrichum gloeosporioides in Papaya. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6 (1): 12-20.
- Rheinheimer, G. 1991. *Aquatic Microbiology*. John Wiley & Sons, Incorporated. Murray Media, German.
- Rungjindamai, N. 2016. Isolation and evaluation of biocontrol agent in controllinng antracnose disease of mango in Thailand. *Journal of Plant Protection Research*, 56(3): 306 – 311.
- Santos, G. R., Hugo J. T. J., Danila A. C.d. S., Gleiber., Quintão. F., and Nelson S.M. J. 2013. Etiology and pathogenicity of two different isolates of *Colletotrichum* spp. obtained from physic nut seeds. *Journal of Seed Science*, 35 (2):139-146.
- Saxena, A., R. Raghuvanshi, V. K. Gupta, and H. B. Singh. 2016. *Chilli Anthracnose: The Epidemiology and Management*. Frontiers in Microbiology.
- Semangun, H. 2000. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Ed ke-4. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. 850 hal.
- Slepecky, R.A., and H.R. Henphill. 2006. *The Genus Bacillus-Nonmedical*. Di dalam: Balows A, Trupper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, editor. *The Prokaryotes*. Ed. ke-2. Springer-Verlag, New York. p. 1663-1696.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Raja Grafindo Persada, Jakarta. 574 hal.
- Sudirga, K. 2016. Isolasi dan identifikasi jamur *Colletotrichum* spp. isolat PCS penyebab penyakit antraknosa pada buah cabai besar (*Capsicum annum* L.) di Bali. *Jurnal Metamorfosa*, 3(1): 23-30.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, R. Yunianti, dan D. A Kusumah. 2010. Evaluasi daya hasil cabai hibrida dan daya adaptasinya di empat lokasi dalam dua tahun. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 38(1): 43-51.
- Wang, H., Wen, K., Zhao, Wang, X., Li, A., and Hong, H. 2009. The inhibitory activity of endophytic *Bacillus* sp. strain CHM1 against plant pathogenic fungi and its plant growth-promoting effect. *Crop Protection*, 28(8): 634-639.
- Wartono, Giyanto dan K. H. Mutaqin. 2015. Efektivitas formulasi spora *Bacillus subtilis* B12 sebagai agen pengendali hayati penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 34(1): 21 – 28.