

**ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI ANTAGONIS TERHADAP
Rhizoctonia Solani DAN PENGHASIL IAA PADA LARVA *BLACK
SOLDIER FLY (Hermetia Illucens)***

Ni Wayan Anik Leana, Purwanto dan Prasmadji Sulistyanto

Universitas Jenderal Soedirman, Indonesia

E-mail: leana@unsoed.ac.id, purwanto0401@unsoed.ac.id dan
sprasmaji@yahoo.com

Diterima:

04 September
2021

Direvisi:

07 September
2021

Disetujui:

15 September
2021

Abstrak

Larva *Black Soldier Fly* (BSF) dikenal sebagai agen pendegradasi bahan organik. Kemampuan hidup di lingkungan yang kaya mikorba seperti limbah organik tentu menuntut sistem kekebalan tubuh yang kuat dari larva BSF. Larva BSF (*Hermetia illucens*) berpotensi sebagai sumber agensia hayati karena hidup di lingkungan yang kaya akan mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan seleksi bakteri dari larva BSF yang bersifat antagonis terhadap *Rhizoctonia solani* penyebab penyakit hawar pelepah daun padi secara *in vitro*. Bakteri yang menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *R. solani* selanjutnya diukur kemampuan menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) dengan menggunakan reagen *Salkowski* dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 530nm menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 36 isolat bakteri yang diisolasi dari larva BSF. Isolat J1, J8, J9, J23, J34, dan J35 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *R. solani*. Daya hambat tertinggi ditunjukkan oleh isolat J34 dengan daya hambat sebesar 89,59%, isolat J1, J35, J9, J8, dan J23 daya hambat masing-masing sebesar 87,27%; 86,28%; 59,83%; 56,20%; dan 11,24%. Uji bakteri penghasil hormon IAA menunjukkan isolat J8 memiliki kemampuan menghasilkan IAA tertinggi yaitu sebesar 77,06 ppm. Isolat lainnya menghasilkan IAA pada kisaran 1,75 hingga 2,40 ppm.

Kata kunci: *Black Soldier Fly*, antagonis, *Rhizoctonia solani*, hormon IAA

Abstract

The larvae of *Black Soldier fly* (BSF/*Hermetia illucens*) are known to be effective decomposing agents of organic materials. In adapting to microbe-rich environments, these larvae must develop a defensive capability against pathogenic microorganisms, which include microbial fungi. This circumstance promises the possibility for BSF larvae to be a source of biological control agents against pathogenic microbial fungi, such as *Rhizoctonia solani* that causes rice sheath blight. This study aimed to isolate bacteria that might have the potential to inhibit *Rhizoctonia solani* growth *in vitro*. The other parameter measured in this study was the production of *Indole Acetic Acid* (IAA) using the *Salkowski* reagent, with absorbance measured at $\lambda = 530$ nm. There were 36 bacterial isolates from the BSF larvae, and six (J1, J8, J9, J23, J34, and J35) showed inhibitory capacity

on *R. solani*. The highest inhibitory action was exhibited by J34 isolate at 89.59%, whereas isolates J1, J35, J9, J8, and J23 showed inhibitory capacities of 87.27%, 86.28%, 59,83%, 56.20%, and 11,24% respectively. Based on the IAA assays, J8 isolate produced the highest amount of IAA at 77.06 ppm, while the other isolates productions of IAA ranged from 1.75 to 2.40 ppm.

Keywords: Black Soldier Fly, antagonist,
Rhizoctonia solani, IAA hormone

Pendahuluan

Larva *Black Soldier Fly* (BSF) mampu memanfaatkan sampah organik baik dari hewan, tumbuhan, kotoran hewan dan manusia sebagai makanannya. Larva BSF (*Hermitia illucens*) dapat meningkatkan nilai daur ulang sampah organik, bahkan lebih baik dibanding serangga lainnya yang pernah diteliti (Kim *et al.*, 2011). Kemampuan larva BSF tumbuh pada berbagai substrat organik menimbulkan pertanyaan menarik tentang peran yang dimainkan oleh mikroorganisme dalam saluran pencernaan larva BSF. Laporan pertama dari analisis komunitas bakteri pada larva BSF baru diterbitkan pada tahun 2011 yang bertujuan mengkarakterisasi mikroorganisme dalam usus larva BSF (De Smet *et al.*, 2018). Kebanyakan penelitian fokus pada dampak lingkungan dan pemberian diet pakan pada perkembangan BSF dan nilai nutrisinya. Peran mikroorganisme dalam saluran pencernaan larva BSF belum banyak diteliti, termasuk penelitian pemanfaatan bakteri dari larva BSF sebagai pengendali *pathogen* tanaman.

Larva BSF berpotensi sebagai sumber agensia hayati karena hidup di lingkungan yang kaya akan mikroba. Hal ini tentu menuntut sistem kekebalan tubuh yang kuat dari BSF (Alvarez *et al.*, 2019). Beberapa bakteri yang ditemukan dalam larva BSF seperti *Lactobacillus* spp., *Clostridium* sp., *Bacillus* spp., *Stenotrophomonas* sp., *Nocardia* spp., *Clavibacter* sp., *Proteus* spp., *Lysobacter*, *Pseudomonas* spp. dan lainnya (Zheng *et al.*, 2012). Kim *et al.*, (2011) menemukan adanya potensi lipase, amilase, dan protease dari ekstrak usus larva BSF. Sejalan dengan penelitian Supriyatna & Ukit (2016) yang menemukan adanya *B. subtilis* yang dapat memproduksi amilase pada usus larva BSF

Pemanfaatan bakteri dari larva BSF sebagai agensia hayati untuk mengendalikan jamur *Rhizoctonia solani* penyebab penyakit hawar pelepah daun padi belum pernah dilakukan. Penyakit penting tanaman padi ini menyerang ketika padi mulai membentuk anakan (30 hst) hingga menjelang panen (100 hst) dengan intensitas kerusakan mencapai 82,00%. Sumber inokulum tersedia di lahan pertanian sepanjang musim sehingga *pathogen* ini sulit dikendalikan. Terlebih *R. solani* memiliki inang yang luas seperti kacang-kacangan dan jagung, serta inang alternatif seperti rumput-rumputan (Hiddink *et al.*, 2005).

Pemanfaatan bakteri sebagai agensia hayati pengendali *pathogen* tanaman banyak dilakukan. Penelitian Rustam *et al.*, (2011) menunjukkan isolat bakteri antagonis TT47 mampu menghambat pertumbuhan *R. Solani*. Penghambatan ditunjukkan dalam menekan perkembangan gejala dan kejadian penyakit hawar pelepah pada tanaman padi baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian lainnya, menunjukkan *Pseudomonas aeruginosa* (Batola) efektif menghambat *R. solani* hingga 97,4% (Murray *et al.*, 2020).

Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan seleksi bakteri antagonis terhadap *R. solani* penyebab penyakit hawar pelepah daun padi secara *in vitro* pada media *Potato Dextrose*

Agar (PDA). Bakteri yang menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *R. solani* selanjutnya diukur kemampuan menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA). Kemampuan menghasilkan IAA berhubungan dengan kemampuan memacu pertumbuhan tanaman.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli 2020-Januari 2021 diawali dengan budidaya larva BSF yang diberi pakan jerami padi di *Experimental Farm* Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, isolasi dan seleksi bakteri di laboratorium Agronomi Universitas Jenderal Soedirman, uji gram di laboratorium Perlindungan Tanaman dan Laboratorium Riset Universitas Jendral Soedirman.

Isolasi bakteri diawali dengan menghaluskan saluran pencernaan larva BSF dan dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} . Bakteri ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi selama 24-48 jam. Setiap isolat bakteri yang tumbuh disubkultur ke media baru untuk mendapatkan kultur murni.

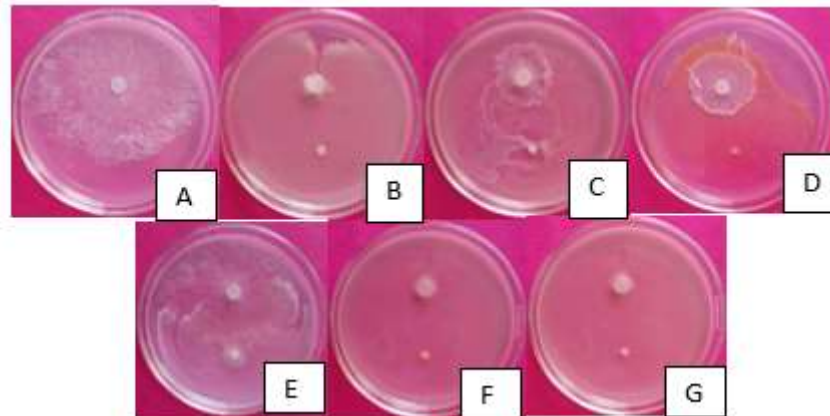
Seleksi bakteri yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *R. solani* dilakukan dengan uji antagonis menggunakan metode (Fokkema, 1973) yaitu meletakkan inokulum jamur dengan goresan bakteri pada jarak 3 cm pada medium PDA. Pengamatan zona hambat bakteri terhadap jamur dilakukan setelah inkubasi selama empat hari. Persentase penghambatan dihitung dengan mengukur jari-jari pertumbuhan koloni jamur ke arah tepi cawan (R1) dan jari-jari pertumbuhan koloni jamur ke arah bakteri (R2) (Istiqomah, 2017). Persentase Penghambatan dihitung menggunakan rumus = $(R1 - R2) \times R1^{-1} \times 100\%$.

Uji kemampuan menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) diawali dengan membuat larutan standar IAA konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/L yang dilarutkan dengan metanol. Larutan IAA dari masing-masing konsentrasi tersebut ditambahkan reagen Salkowski (150 mL H_2SO_4 , 250 mL akuades dan 7,5 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$) dengan perbandingan 1:3 dan diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap. Absorbansi setiap larutan selanjutnya diukur pada panjang gelombang 530 nm dengan spektrofotometer. Kurva standar dan persamaan IAA diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi dari setiap konsentrasi pada kurva regresi.

Uji kemampuan menghasilkan IAA dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada 10 mL medium NB+ L-Triptofan 2% dan diinkubasi selama 24 jam. Larutan kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 4.500 rpm. Selanjutnya reagen Salkowski ditambahkan pada supernatan dan diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Konsentrasi IAA yang dihasilkan isolat diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi dalam persamaan IAA.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi bakteri dari saluran pencernaan larva BSF mendapatkan 36 isolat bakteri. Uji antagonis menghasilkan sebanyak enam isolat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *R. solani*. Keenam isolat tersebut adalah isolat J1, J8, J9, J23, J34 dan J35. Daya hambat ditunjukkan dengan terhambatnya pertumbuhan jamur *R. solani* di sekitar bakteri (Gambar 1).

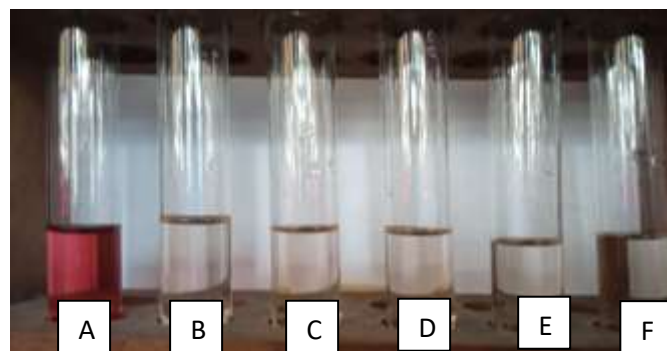


Gambar 1. Daya Hambat Bakteri Saluran Pencernaan BSF terhadap *R. solani*: A (Kontrol), B (J1), C (J8), D (J9), E (J23), F (J34), G (J35)

Isolat J34 memiliki daya hambat terbesar terhadap *R. solani* yaitu sebesar 89,59%. Isolat J1, J35, J9, J8, dan J23 dengan daya hambat masing-masing sebesar 87,27%; 86,28%; 59,83%; 56,20%; dan 11,24%. Persentase daya hambat bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan larva BSF terhadap *R. solani* disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Persentase Daya Hambat terhadap *R. solani*

No	Nama Isolat	Persentase hambatan terhadap <i>R. solani</i>
1	J1	87,27 %
2	J8	56,20 %
3	J9	59,83 %
4	J23	11,24 %
5	J34	89,59 %
6	J35	86,28 %



Gambar 2. Perubahan Warna setelah diberi reagen Salkowski: A (isolat J8), B (isolat J1), C (J9) D (isolat J23), E (isolat J34), F (isolat J35).

Isolat J1, J8, J9, J23, J34 dan J35 yang menunjukkan daya hambat terhadap *R. solani* selanjutnya diuji kemampuan menghasilkan IAA. Hasil menunjukkan keenam isolat menghasilkan perubahan warna menjadi merah muda setelah diberi reagen Salkowski. Warna paling pekat ditunjukkan oleh isolat J8 (Gambar 2).

Isolat yang mampu menghasilkan IAA akan berwarna merah muda karena adanya senyawa kompleks $[\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IA})_4]$ akibat reaksi antara IAA dengan Fe. Semakin tinggi konsentrasi IAA yang dihasilkan bakteri maka warna merah muda yang semakin pekat. Hasil analisis absorbansi isolat J1, J8, J9, J23, J34 dan J35 dengan kurva standar IAA menunjukkan semua isolat mampu menghasilkan hormon IAA berkisar antara 1,747-77,06 ppm (Tabel 2). Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa isolat J8 memiliki kemampuan menghasilkan IAA tertinggi yaitu sebesar 77,06 ppm. Isolat lainnya menghasilkan IAA sebesar 1,75 hingga 2,40 ppm.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Bakteri Penghasil IAA

No	Nama Isolat	Nilai IAA (ppm)
1	J1	2,40
2	J8	77,06
3	J9	2,20
4	J23	2,37
5	J34	1,75
6	J35	2,04

Kemampuan bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan larva BSF untuk menghambat pertumbuhan *R. solani* serta menghasilkan hormon IAA berpotensi digunakan sebagai agensia hayati serta memacu pertumbuhan padi. Pemanfaatan agensia hayati pengendali *pathogen* serta memiliki kemampuan pemacu pertumbuhan tanaman sudah banyak dimanfaatkan. *Bacillus subtilis* dan *B. amyloliquefaciens* mampu mengendalikan *Ralstonia solanacearum* baik di rumah kaca maupun di lapangan (Wei *et al.*, 2017). Krebs *et al.*, (1998) menyatakan *B. subtilis* mampu sebagai antijamur, antibakteri, pemacu pertumbuhan tanaman dan penginduksi ketahanan sistemik (Prihatiningsih *et al.*, 2017). Genus bakteri yang sama, yaitu *Bacillus* spp. juga ditemukan pada larva BSF (Yu *et al.*, 2011).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan larva BSF memiliki potensi menghambat pertumbuhan *R. solani* penyebab penyakit hawar pelepah daun padi. Isolat J34 memiliki daya hambat terbesar terhadap *R. solani* yaitu sebesar 89,59%. Isolat J1, J35, J9, J8, dan J23 dengan daya hambat masing-masing sebesar 87,27%; 86,28%; 59,83%; 56,20%; dan 11,24%. Tak hanya berpotensi sebagai agensia hayati, bakteri dari saluran pencernaan larva BSF juga berpotensi sebagai penghasil hormon IAA yang bisa memacu pertumbuhan tanaman. Pengukuran IAA secara kuantitatif dengan spektrofotometer menunjukkan Isolat J8 memiliki kemampuan menghasilkan IAA tertinggi yaitu sebesar 77,06 ppm. Isolat lainnya menghasilkan IAA berkisar 1,75 hingga 2,40 ppm.

Bibliografi

- Alvarez, D., Wilkinson, K. A., Treilhou, M., Téné, N., Castillo, D., & Sauvain, M. (2019). Prospecting Peptides Isolated From Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) With Antimicrobial Activity Against *Helicobacter pylori* (Campylobacterales):

- Helicobacteraceae). *Journal of Insect Science (Online)*, 19(6).
<https://doi.org/10.1093/jisesa/iez120>
- De Smet, J., Wynants, E., Cos, P., & Van Campenhout, L. (2018). Microbial Community Dynamics during Rearing of Black. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(9), 1–17.
- Fokkema, N. J. (1973). The rôle of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. *Physiological Plant Pathology*, 3(2), 195–205. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(73\)90082-9](https://doi.org/10.1016/0048-4059(73)90082-9)
- Hiddink, G. A., Termorshuizen, A. J., Raaijmakers, J. M., & Van Bruggen, A. H. C. (2005). Effect of mixed and single crops on disease suppressiveness of soils. *Phytopathology*, 95(11), 1325–1332. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1325>
- Istiqomah, N. (2017). *Potensi Antagonis Mikroba Dari Akar Jagung (Zea mays L.) Terhadap Fusarium sp. Penyebab Penyakit Layu Fusarium*. Universitas Brawijaya.
- Kim, W., Bae, S., Park, K., Lee, S., Choi, Y., Han, S., & Koh, Y. (2011). Biochemical characterization of digestive enzymes in the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14(1), 11–14. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2010.11.003>
- Krebs, B., Höding, B., Kübart, S., Workie, M. A., Junge, H., Schmiedeknecht, G., Grosch, R., Bochow, H., & Hevesi, M. (1998). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. I. Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz*, 105(2), 181–197.
- Murray, C. J. L., Aravkin, A. Y., Zheng, P., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abbasi-Kangevari, M., Abd-Allah, F., Abdelalim, A., Abdollahi, M., & Abdollahpour, I. (2020). Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 396(10258), 1223–1249.
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H. A., & Lestari, P. (2017). Aktivitas Siderofor *Bacillus Subtilis* Sebagai Pemacu Pertumbuhan Dan Pengendali Patogen Tanaman Terung. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 17(2), 170. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.217170-178>
- Rustam, R., Giyanto, G., Wiyono, S., Santosa, D., & Susanto, S. (2011). Seleksi Dan Identifikasi Bakteri Antagonis Sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Hawar Pelepah Padi. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 30(3), 164–171. <https://doi.org/10.21082/jpntp.v30n3.2011.p>
- Supriyatna, A., & Ukit, U. (2016). Screening and Isolation of Cellulolytic Bacteria from

- Gut of Black Soldier Flays Larvae (*Hermetia illucens*) Feeding with Rice Straw. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 8(3), 314. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v8i3.6762>
- Wei, Y., Li, J., Shi, D., Liu, G., Zhao, Y., & Shimaoka, T. (2017). Environmental challenges impeding the composting of biodegradable municipal solid waste: A critical review. *Resources, Conservation and Recycling*, 122, 51–65. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.01.024>
- Yanti, Y., Habazar, T., Resti, Z., & Suhailita, D. (2013). Penapisan isolat rizobakteri dari perakaran tanaman kedelai yang sehat untuk pengendalian penyakit pustul bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*). *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 13(1), 24–34.
- Yu, G., Cheng, P., Chen, Y., Li, Y., Yang, Z., Chen, Y., & Tomberlin, J. K. (2011). Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Environmental Entomology*, 40(1), 30–35. <https://doi.org/10.1603/EN10126>
- Zheng, L., Li, Q., Zhang, J., & Yu, Z. (2012). Double the biodiesel yield: Rearing black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production. *Renewable Energy*, 41, 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.10.004>



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).