PROSIDING SEMINAR NASIONAL SAINS DAN TERAPAN (SEMNAS-SINTA) IX Tahun 2026 **Volume 3, November 2026, hal. 50–56**

Karakterisasi Bakteri Pektinolitik Kentang Busuk dan Uji Antagonisme *Paenibacillus* sp. Secara *In Vitro*

Rowland Ervan Rusfandi Mangais*, Parluhutan Siahaan, Damai Tabita Soputan
Program Studi Biologi, Universitas Sam Ratulangi Manado, Indonesia

*Corresponding author: mangaisrowland12@unsrat.ac.id

ABSTRAK. Penyakit busuk lunak (*soft rot*) akibat infeksi bakteri pektinolitik famili Pectobacteriaceae merupakan kendala utama dalam produksi dan penyimpanan pascapanen umbi kentang (*Solanum tuberosum* L.). Ketergantungan pada bahan kimia sintetis berisiko merusak lingkungan dan memicu resistensi patogen, sehingga diperlukan alternatif biokontrol berbasis mikroorganisme antagonis seperti *Paenibacillus* sp. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi sifat fenotipik serta aktivitas pektinolitik bakteri penyebab busuk lunak asal Modoinding, serta mengevaluasi daya hambat *Paenibacillus* sp. secara *in vitro*. Metode isolasi dan karakterisasi meliputi uji morfologi, biokimia (TSIA dan MacConkey Agar), serta uji zona jernih pektin. Uji antagonisme dilakukan melalui metode cakram (*paper disc*) dan kultur ganda (*dual culture*) untuk mengukur persentase daya hambat relatif (*Percentage Inhibition of Radial Growth*/PIRG %). Hasil penelitian berhasil memurnikan dua isolat pektinolitik Gram-negatif berbentuk batang (SP1 dan SP2) yang memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas pada media TSIA. Uji cakram menunjukkan *Paenibacillus* sp. memiliki daya hambat kategori sedang terhadap SP1 (5,5 ± 1,0 mm) dan SP2 (6,0 ± 1,3 mm). Pada uji kultur ganda, *Paenibacillus* sp. secara signifikan menekan pertumbuhan patogen melalui sekresi metabolit antimikroba ekstraseluler serta kompetisi ruang dan nutrisi yang didukung motilitas tinggi (*swarming* dan *swimming*). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *Paenibacillus* sp. lokal berpotensi kuat sebagai agen pengendali hayati ramah lingkungan untuk menekan perkembangan patogen pembusuk lunak kentang pascapanen.

Kata Kunci: *Paenibacillus sp.; Bakteri pektinolitik; Busuk lunak; Solanum tuberosum; Pengendali hayati*

PENDAHULUAN

Tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura utama yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan peran strategis dalam mendukung ketahanan pangan nasional. Namun, produksi dan kualitas umbi kentang pascapanen sering mengalami penurunan signifikan akibat penyakit busuk lunak (*soft rot*). Penyakit ini menyebabkan kerusakan jaringan umbi secara cepat selama penyimpanan dan transportasi, sehingga menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar bagi para petani dan pelaku usaha pertanian (Charkowski, 2018).

Pembusukan lunak pada umbi kentang secara umum disebabkan oleh infeksi bakteri fitopatogen pektinolitik yang tergolong dalam famili Pectobacteriaceae, seperti genus *Pectobacterium* spp. dan *Dickeya* spp. (dahulu diklasifikasikan sebagai *Erwinia carotovora*). Bakteri-bakteri ini memiliki kemampuan spesifik dalam mensekresikan berbagai enzim hidrolitik ekstraseluler, terutama enzim pektinase (seperti pektat liase dan poligalakturonase), yang secara efektif mendegradasi pektin pada dinding sel dan lamela tengah jaringan tanaman. Degradasi pektin ini mengakibatkan maserasi jaringan tanaman, pelunakan umbi, dan pengeluaran cairan berbau khas (Toth *et al*., 2021).

Pengendalian penyakit busuk lunak hingga saat ini masih didominasi oleh penggunaan bahan kimia sintetis atau perlakuan fisik. Namun, penggunaan bakterisida kimia yang berlebihan berpotensi memicu resistensi patogen, mencemari lingkungan, serta meninggalkan residu berbahaya pada produk pangan. Oleh karena itu, pengembangan strategi pengendali hayati (*biocontrol*) berbasis mikroorganisme antagonis lokal menjadi alternatif inovatif yang ramah lingkungan dan berkelanjutan (Czajkowski *et al*., 2011). Genus *Paenibacillus* dikenal luas sebagai agen biokontrol potensial karena kemampuannya memproduksi berbagai metabolit sekunder antimikroba (seperti lipopeptida, polimiksin, dan fusarisidin) serta enzim hidrolitik yang mampu menekan pertumbuhan patogen tanaman (Grady *et al*., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi sifat fenotipik serta fisiologi bakteri pektinolitik asal umbi kentang busuk lokal, serta mengevaluasi efektivitas daya hambat *Paenibacillus* sp. secara *in vitro* melalui metode cakram (suspensi sel) dan metode *dual culture*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan formulasi biokontrol berbasis *Paenibacillus* sp. guna menanggulangi penyakit busuk lunak kentang pascapanen.

METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga Juni 2025 di Laboratorium Biologi Lanjut. Isolat bakteri pektinolitik diisolasi dari kentang busuk yang diperoleh dari wilayah Modoinding, sedangkan isolat bakteri antagonis *Paenibacillus* sp. diperoleh dari Balai Perlindungan dan Pengujian Mutu Tanaman Pangan dan Hortikultura daerah Sulawesi Utara.

Isolasi bakteri dilakukan dari bagian jaringan umbi kentang yang mengalami pembusukan lunak dengan metode pengenceran bertingkat dan penanaman pada media NA secara *spread plate*. Isolat murni yang diperoleh dikarakterisasi secara makroskopis (morfologi koloni) dan mikroskopis melalui pewarnaan Gram. Karakterisasi fisiologi dan biokimia dilakukan meliputi uji selektif pertumbuhan dan kemampuan fermentasi laktosa pada MacConkey Agar, serta profil fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa), pembentukan gas, dan produksi H_2S pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Yahyaoui *et al*., 2023; Al-Saied *et al*., 2025).

Aktivitas pektinolitik isolat diuji dengan menginokulasikan bakteri pada media agar spesifik berunsur pektin. Setelah masa inkubasi selama 24–48 jam pada suhu ruang, permukaan media ditetesi dengan larutan penjelas (reagen pektin). Pembentukan zona jernih (*clear zone*) di sekitar koloni bakteri dicatat sebagai indikator positif aktivitas enzimatik pektinase.

Uji antagonisme menggunakan metode cakram dilakukan untuk mengukur daya hambat suspensi sel aktif *Paenibacillus* sp. Isolat pektinolitik target (SP1 dan SP2) disebar secara merata pada media NA. Kertas cakram steril berdiameter 6 mm diletakkan di atas permukaan agar, kemudian ditetesi dengan 10 µL suspensi sel *Paenibacillus* sp. Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembanding. Pengujian dilakukan dengan tiga kali ulangan. Diameter zona hambat diukur setelah inkubasi selama 24 jam menggunakan penggaris. Diameter zona bening bersih dihitung dengan mengurangi diameter total dengan lebar kertas cakram (6 mm), kemudian dikategorikan berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971).

Uji interaksi langsung dilakukan dengan menumbuhkan isolat antagonis *Paenibacillus* sp. dan isolat patogen target (SP1 dan SP2) secara berhadapan pada media NA padat dengan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan secara berkala dari Hari ke-1 hingga Hari ke-4. Persentase daya hambat relatif (*Percentage Inhibition of Radial Growth* / PIRG) dihitung untuk masing-masing ulangan menggunakan rumus:

$$\text{PIRG (\%)} = \frac{(R1 - R2)}{R1} x\ 100\%$$

dimana R1 adalah jari-jari koloni patogen pada sisi yang menjauhi koloni antagonis (cm), dan R2 adalah jari-jari koloni patogen pada sisi yang mendekati koloni antagonis (cm). Nilai PIRG (%) dari ketiga ulangan selanjutnya dirata-ratakan dan dihitung nilai Standar Deviasinya (SD).

HASIL DAN PEMBAHASAN

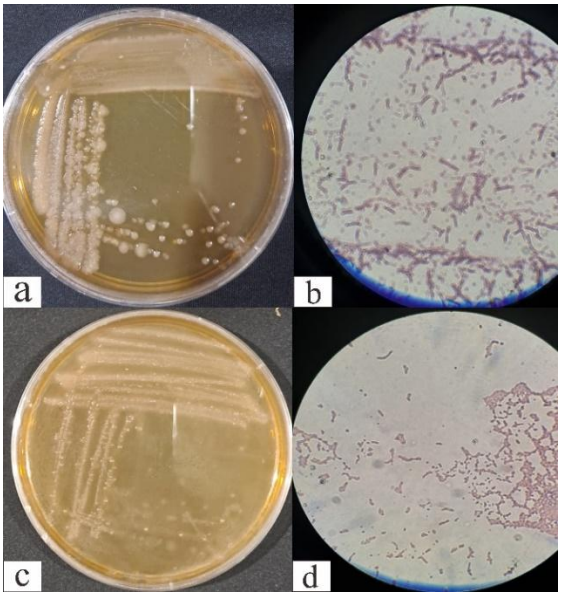
Karakterisasi Fenotipik dan Aktivitas Pektinolitik Isolat Bakteri Target

Isolasi dari jaringan umbi kentang (*Solanum tuberosum* L.) yang mengalami pembusukan lunak (*soft rot*) asal Modoinding berhasil memurnikan dua isolat bakteri target yang diberi kode Isolat 1 (SP1) dan Isolat 2 (SP2). Hasil karakterisasi makroskopis, mikroskopis, fisiologi/biokimia, serta pengujian aktivitas enzimatik pektinolitik kedua isolat dirangkum pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Morfologi, Fisiologi, dan Aktivitas Pektinolitik Isolat Bakteri Asal Umbi Kentang Busuk

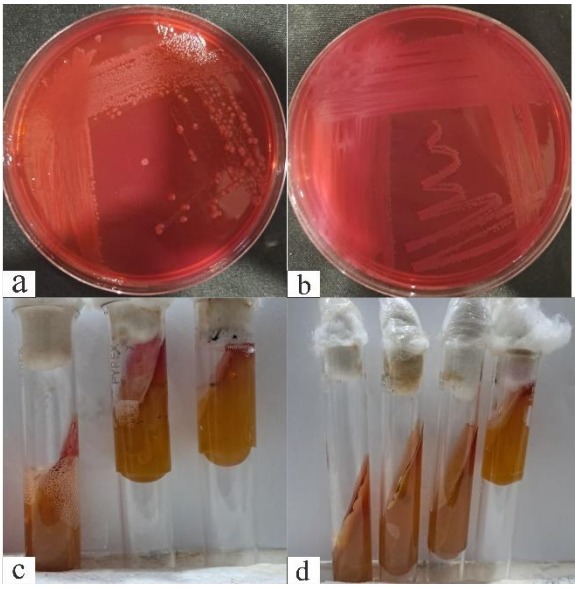
Parameter Pengujian	Isolat 1 (SP1)	Isolat 2 (SP2)
Morfologi Koloni (Media NA)	Putih krem, cembung, bulat bertepi licin	Putih krem pudar, bulat halus mengilat
Pewarnaan Gram	Gram Negatif (merah/pink)	Gram Negatif (merah/pink)
Bentuk Sel	Batang (bacillus)	Batang pendek / Kokobasil
Pertumbuhan MacConkey	Tumbuh positif (+)	Tumbuh positif (+)
Fermentasi Laktosa (MacConkey)	Positif (+) (koloni merah muda)	Positif (+) (koloni merah muda)
TSIA - Lereng (*Slant*)	Merah / Alkalis (K)	Merah / Alkalis (K)
TSIA - Dasar (*Butt*)	Kuning / Asam (A)	Kuning / Asam (A)
TSIA - Pembentukan Gas	Positif (+) (terbentuk buih/retakan)	Positif (+) (terbentuk buih/retakan)
TSIA - Produksi H_2S	Negatif (-)	Negatif (-)
Uji Aktivitas Pektinolitik	Positif (+) (terbentuk zona bening)	Positif (+) (terbentuk zona bening)

Pengamatan morfologi koloni pada media Nutrient Agar (NA) menunjukkan Isolat 1 membentuk koloni berwarna putih krem, cembung, dan bulat bertepi licin, sedangkan Isolat 2 membentuk koloni putih krem pudar yang bulat halus mengilat (**Gambar 1a, 1c**). Pengujian pewarnaan Gram mengonfirmasi bahwa kedua isolat tergolong bakteri Gram-negatif berbentuk batang hingga kokobasil (**Gambar 1b, 1d**).



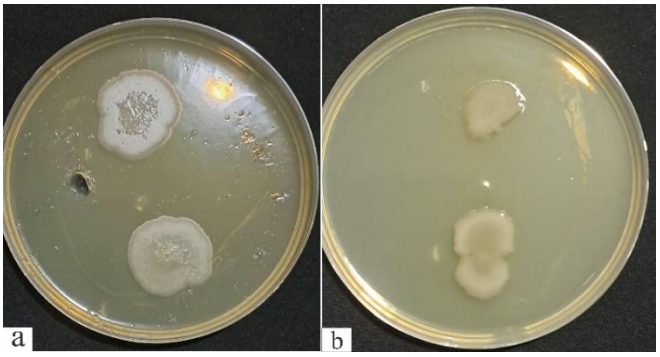
Gambar 1. Karakteristik morfologi koloni pada media NA dan mikroskopis pewarnaan Gram (a-b Isolat 1; c-d. Isolat 2) asal kentang busuk.

Secara fisiologis, kedua isolat mampu tumbuh dengan baik pada media selektif MacConkey Agar dan memfermentasikan laktosa, yang ditandai dengan perubahan warna koloni menjadi merah muda (**Gambar 2a, 2b**). Pada uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA), kedua isolat menghasilkan reaksi Slant Alkalis (K) / Butt Asam (A) yang disertai pembentukan gas positif tanpa adanya endapan hitam H_2S (**Gambar 2c, 2d**). Profil biokimia ini sesuai dengan karakteristik bakteri fitopatogen famili Pectobacteriaceae, seperti genus *Pectobacterium* spp. dan *Dickeya* spp. (Charkowski, 2018; Toth *et al*., 2021).



Gambar 2. Profil fisiologi dan biokimia isolat pada media MacConkey Agar (a. Pertumbuhan Isolat 1 pada MacConkey Agar; b. Pertumbuhan Isolat 2 pada MacConkey Agar) dan media TSIA (c. Reaksi perubahan warna dan gas Isolat 1 pada media TSIA; d. Reaksi perubahan warna dan gas Isolat 2 pada media TSIA).

Uji aktivitas pektinolitik menunjukkan bahwa Isolat 1 dan Isolat 2 mampu membentuk zona bening (*clear zone*) yang jelas di sekeliling koloni pada media spesifik berunsur pektin setelah ditetesi reagen penjelas (**Gambar 3**). Keberadaan zona bening ini membuktikan bahwa kedua isolat mengekspresikan enzim pektinase ekstraseluler (seperti pektat liase dan poligalakturonase) yang mendegradasi pektin pada dinding sel serta lamela tengah jaringan umbi. Sebagaimana dijelaskan oleh Al-Saied *et al*. (2025), pektinase merupakan enzim pemecah dinding sel tanaman yang menjadi determinan utama virulensi dan penyebab maserasi jaringan umbi kentang.



Gambar 3. Pembentukan zona bening sebagai indikator positif aktivitas enzim pektinase pada Isolat 1 (a) dan Isolat 2 (b).

Hasil Uji Antagonisme *Paenibacillus* sp. Metode Cakram

Pengujian daya hambat suspensi sel *Paenibacillus* sp. terhadap isolat pektinolitik target (SP1 dan SP2) menggunakan metode cakram (*paper disc*) menghasilkan pembentukan zona bening bersih di sekitar kertas cakram setelah inkubasi 24 jam (Gambar 5a). Rerata diameter zona hambat dan pengkategorian daya hambatnya tercantum pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Antagonisme *Paenibacillus* sp. Metode Cakram *(Paper Disc*) (24 Jam)

Nama Isolat Target	Perlakuan	Rata-rata Zona Bening (mm) ± SD*	Kategori Daya Hambat (Davis & Stout, 1971)
	Kontrol (-)	0,0 ± 0,0	Tidak Ada
SP1 (Isolat 1)	Kontrol (+)	26,3 ± 2,3	Sangat Kuat
	Paenibacillus sp.	5,5 ± 1,0	Sedang
	Kontrol (-)	0,0 ± 0,0	Tidak Ada
SP2 (Isolat 2)	Kontrol (+)	25,8 ± 3,1	Sangat Kuat
	Paenibacillus sp.	6,0 ± 1,3	Sedang

Keterangan: Rata-rata zona bening dihitung dari 3 kali ulangan setelah dikurangi diameter kertas cakram steril sebesar 6 mm (0,6 cm).

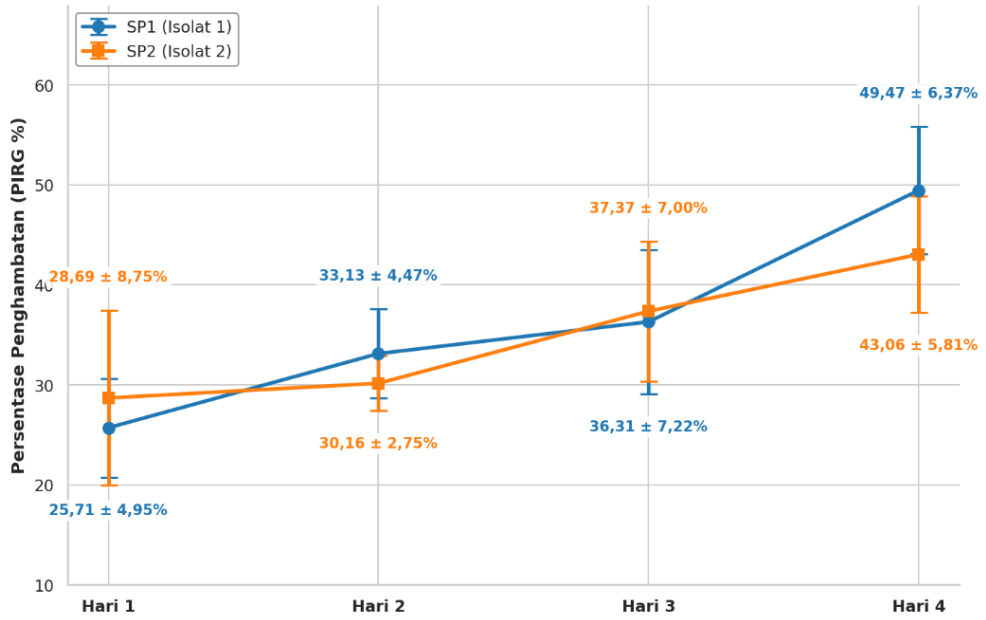
Berdasarkan kriteria Davis & Stout (1971), zona hambat yang dihasilkan oleh *Paenibacillus* sp. terhadap SP1 (5,5 ± 1,0 mm) dan SP2 (6,0 ± 1,3 mm) tergolong dalam kategori Sedang (diameter zona jernih 5–10 mm). Pembentukan zona bening pada metode cakram ini mengindikasikan adanya sekresi metabolit sekunder antimikroba ekstraseluler terlarut oleh *Paenibacillus* sp. yang berdifusi ke dalam media agar.

Bakteri dari genus *Paenibacillus* dikenal memiliki kluster gen non-ribosomal yang mampu mensintesis berbagai senyawa lipopeptida antimikroba seperti fusarisidin, polimiksin, dan pelgipeptin (Grady *et al*., 2016; Mohammad *et al*., 2024). Penelitian Le *et al*. (2020) membuktikan bahwa kelompok lipopeptida pelgipeptin (PGP) dari *Paenibacillus* spp. memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas yang bekerja dengan cara merusak integritas dan mempermeabilisasi membran sel bakteri patogen. Hasil uji *in vitro* ini sejalan dengan temuan Dadaşoğlu *et al*. (2020), di mana penggunaan bakteri antagonis mampu menekan perkembangan *Pectobacterium carotovorum* secara signifikan pada media tanam.

Dinamika Interaksi Langsung Metode Dual Culture (PIRG %)

Pengamatan interaksi langsung secara berhadapan (*dual culture*) antara *Paenibacillus* sp. dan isolat patogen target pada media NA padat selama Hari ke-1 hingga Hari ke-4 menunjukkan dinamika persentase daya hambat relatif (**Gambar 4**). Mekanisme penghambatan pada uji kultur ganda ini tidak hanya bergantung pada senyawa difusibel antimikroba, melainkan juga dipengaruhi oleh kompetisi ruang dan nutrisi serta kecepatan kolonisasi (motility) dari agen antagonis. Genus *Paenibacillus* memiliki kemampuan motilitas yang sangat baik (*swarming* dan *swimming*) serta daya adaptasi yang tinggi, sehingga mampu mengolonisasi permukaan media dengan cepat.

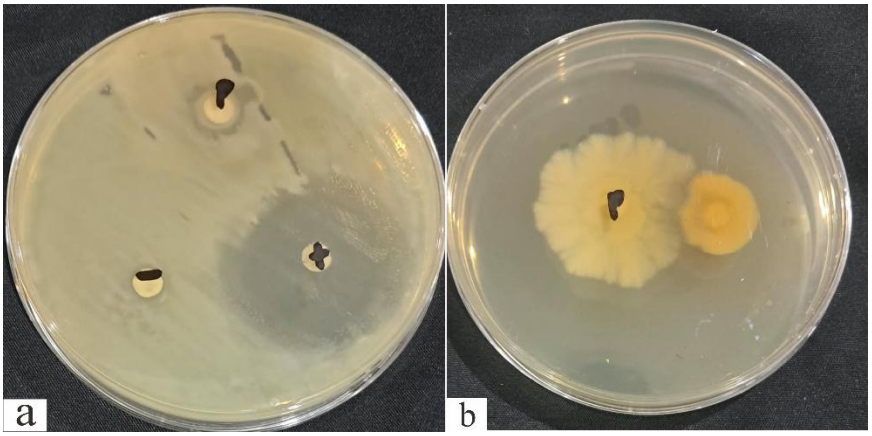
Kolonisasi cepat oleh *Paenibacillus* sp. secara fisik membatasi ruang gerak dan pasokan nutrisi bagi isolat patogen pektinolitik (SP1 dan SP2) (**Gambar 5**). Sebagaimana dikemukakan oleh Yahyaoui *et al*. (2023), kapasitas motilitas (*swimming* dan *swarming*) yang tinggi merupakan faktor krusial bagi bakteri antagonis untuk menguasai relung ekologi (*ecological niche*) dan menekan kolonisasi bakteri pemusnah jaringan tanaman.



Gambar 4. Dinamika persentase daya hambat relatif (PIRG %) *Paenibacillus* sp. terhadap bakteri Pektinolitik Isolat 1 dan Isolat 2 (Hari 1–4).

Hasil pengujian *in vitro* melalui metode cakram dan *dual culture* membuktikan bahwa *Paenibacillus* sp. lokal memiliki potensi besar sebagai agen pengendali hayati *(biocontrol agent*) ramah lingkungan untuk menanggulangi penyakit busuk lunak kentang pascapanen. Penggunaan biokontrol ini menjadi solusi alternatif strategis untuk mengurangi ketergantungan pada bakterisida kimia sintetis yang berpotensi memicu resistensi patogen dan dampak negatif lingkungan (Czajkowski *et al*., 2011).

Selain menghasilkan senyawa antimikroba dan memenangkan kompetisi ruang, *Paenibacillus* spp. juga dilaporkan dapat berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* / PGPR) dan menginduksi ketahanan sistemik tanaman (ISR) terhadap infeksi patogen (Le *et al*., 2020; Mohammad *et al*., 2024). Dengan demikian, *Paenibacillus* sp. sangat prospektif untuk dikembangkan lebih lanjut dalam bentuk formulasi hayati guna melindungi umbi kentang selama masa penyimpanan dan transportasi.



Gambar 5. Hasil uji daya hambat *Paenibacillus* sp. terhadap isolat pektinolitik target melalui metode cakram (a) dan metode *dual culture* (b).

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil memurnikan dua isolat bakteri pektinolitik Gram-negatif (SP1 dan SP2) pemecah dinding sel dari umbi kentang busuk asal Modoinding. Uji *in vitro* membuktikan bahwa *Paenibacillus* sp. lokal efektif menghambat kedua patogen target melalui metode cakram (zona hambat 5,5–6,0 mm, kategori sedang) dan kultur ganda (SP1: 49,47%; SP2: 43,06%) pada hari keempat pengamatan. Aktivitas antagonisme ini bekerja melalui mekanisme ganda: sekresi metabolit antimikroba ekstraseluler serta kompetisi ruang dan nutrisi berbasis motilitas (*swarming* dan *swimming*). Dengan demikian, *Paenibacillus* sp. lokal berpotensi kuat dikembangkan sebagai agen pengendali hayati ramah lingkungan untuk menekan penyakit busuk lunak kentang pascapanen.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Saied, O. S., Gaber, M. A., & El-Meneisy, A. (2025). Effect of some environmental factors on potato bacterial soft rot. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 14(4), 440–445. https://doi.org/10.36632/mejar/2025.14.4.29

Charkowski, A. O. (2018). The changing face of bacterial soft-rot diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 56, 269–288. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045906

Dadaşoğlu, F., Maldonado Joy, J. F., Özyurt, G., & Kotan, R. (2020). In vitro effect of bacterial biocontrol organisms against *Pectobacterium carotovorum* on potato. *Journal of Agricultural Production*, 1(1), 8–11. https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/2442642

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971

Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., & Yuan, Z. C. (2016). Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: A review. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 203. https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7

Le, K. D., Kim, J., Yu, N. H., Kim, B., Lee, C. W., & Kim, J.-C. (2020). Biological control of tomato bacterial wilt, kimchi cabbage soft rot, and red pepper bacterial leaf spot using *Paenibacillus elgii* JCK-5075. *Frontiers in Plant Science*, 11, 775. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00775

Czajkowski, R., Pérombelon, M. C. M., van Veen, J. A., & van der Wolf, J. M. (2011). Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: A review. *Plant Pathology*, 60(6), 999–1013. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02470.x

Mohammad, M., Afiza Badaluddin, N., & Arief Asri, E. (2024). Biological functions of *Paenibacillus* spp. for agriculture applications. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 30(5), 930–947. https://www.agrojournal.org/30/05-25.pdf

Toth, I. K., Barny, M. A., Brurberg, M. B., & van der Wolf, J. M. (2021). Soft rot Pectobacteriaceae: Biology and disease management. In plant diseases caused by *Dickeya* and *Pectobacterium* species (pp. 1–35). *Springer.* https://doi.org/10.1007/978-3-030-61459-1_1

Yahyaoui, A., Oueslati, M., Motyka-Pomagruk, A., Kaczynska, N., Sledz, W., Tarhouni, B., Hajlaoui, M. R., Lojkowska, E., & Sadfi-Zouaoui, N. (2023). Characterisation of pectinolytic *Bacillus pumilus* and *Paenibacillus amyloliticus* strains, new pathogens of potato in Tunisia. *Agriculture*, 13(6), 1275. https://doi.org/10.3390/agriculture13061275