

Efektivitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik Terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Kentang

Effectiveness of Bacterial Isolates from Several Rhizospheres and Organic Materials against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* on Potato

Tutik Kuswinanti*, Baharuddin, Sri Sukmawati
Universitas Hasanuddin, Makasar 90245

ABSTRAK

Rizosfer merupakan daerah yang ideal untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba antagonis. Nutrisi yang disekresikan tanaman ke dalam rizosfer banyak dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan selanjutnya mempengaruhi kelimpahan dan keragaman mikroba di daerah tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri dari rizosfer tanaman dan dari bahan organik di Tana Toraja, dan menguji potensi bakteri tersebut sebagai agens hayati penyakit layu kentang. Sampel tanah diambil dari rizosfer tanaman padi, bambu, kentang, dan terung belanda; serta dari bahan organik kerbau belang dan babi. Uji antagonisme isolasi, *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* dilakukan untuk mengetahui kemampuan daya hambat masing-masing isolat bakteri dengan metode biakan ganda serta tahapan identifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari total 74 isolat bakteri, terdapat berturut-turut 10 dan 4 isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* dan *F. oxysporum* secara *in vitro*.

Kata kunci: antagonis, penghambatan, penyakit layu

ABSTRACT

Rhizosphere is an ideal area for growth and development of microbial antagonists, because it is a nutrition rich area. Nutrients that secreted in the rhizosphere are influenced by many environmental factors which in turn effect the diversity and abundance of microbial community. Based on these facts, the research were aimed to isolate bacteria from the rhizosphere and organic materials in Tana Toraja, and determine their role as biological control agents for potato wilt disease. Antagonistic test was conducted in order to determine the ability of each bacterial isolate to inhibit the growth of *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. The results showed that from totally 74 bacterial isolates, only 10 and 4 bacterial isolates were able to inhibit the growth of *R. solanacearum* and *F. oxysporum* in vitro, respectively.

Key words: antagonist, inhibition, potato wilt

*Alamat korespondensi penulis: Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin
Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245
Tel: 0411-587100, Faks: 0411-587100, Surel: koeswinanti@yahoo.com

PENDAHULUAN

Rendahnya produktivitas kentang di Indonesia disebabkan oleh teknik budi daya yang belum optimal, kurangnya ketersediaan bibit yang bermutu dan bersertifikat, serta serangan organisme pengganggu tanaman. Salah satu penyakit pada kentang adalah penyakit layu yang disebabkan bakteri *Ralstonia solanacearum* dan cendawan *Fusarium oxysporum*. Infeksi patogen ini dilaporkan dapat menyebabkan kerugian besar pada berbagai sentra produksi dan ancaman pada daerah target pengembangan di Indonesia.

Beberapa mikrob yang menyelimuti perakaran tanaman sehat diketahui sebagai pelindung dari serangan patogen layu. Pada perakaran tanaman sehat, bakteri antagonis *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Streptomyces* sp. dilaporkan dapat mengendalikan *R. solanacearum* pada kentang (Nurbaya *et al.* 2011).

Kabupaten Tana Toraja memiliki potensi menjadi daerah pengembangan hortikultura, termasuk kentang. Eksplorasi keragaman bakteri rizosfer sangat diperlukan untuk mengetahui potensi ketersediaan agens hayati terhadap penyakit layu kentang. Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas beberapa isolat rizobakteri dan bahan organik untuk menekan penyakit layu kentang.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Perbanyakan *Fusarium oxysporum* dan *Ralstonia solanacearum*

Isolat *Fusarium* diperoleh dari koleksi Laboratorium Bioteknologi, Universitas Hasanuddin yang telah diuji sebelumnya, sedangkan bakteri *R. solanacearum* diisolasi dari jaringan batang tanaman kentang yang memperlihatkan gejala layu. Jaringan diambil 1 cm lalu dipotong-potong hingga berukuran 5 mm × 5 mm lalu digerus pada mortar hingga halus dan ditambahkan 1 mL akuades steril. Suspensi bakteri yang ada pada mortar diambil sebanyak 0.5 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4.5 mL

MgSO₄·7H₂O. Dari larutan tersebut kemudian diencerkan hingga mencapai pengenceran 10⁻⁶. Sebanyak 0.1 mL suspensi bakteri dari masing-masing tingkat pengenceran dipindahkan ke dalam cawan yang berisi medium spesifik untuk *R. solanacearum*, yaitu *tetrazolium chloride agar* (TTC) yang mengandung 10 g pepton, 5 g glukosa, 15 g agar, 1000 mL akuades, 8 g *nutrient broth*, dan 2,3,5- *triphenyltetrazoliumchlorid* (TTC) 1%. Suspensi disebar merata pada seluruh permukaan medium dengan menggunakan spatula. Setelah 3-5 hari dilakukan pengamatan dan seleksi koloni bakteri yang khas kemudian ditumbuhkan kembali pada medium TTC yang baru.

Uji patogenesitas dilakukan melalui uji hipersensitivitas pada daun tembakau. Isolat yang telah murni selanjutnya dipindahkan ke media *nutrient growth agar* (3.3 g pepton, 2.7 g *nutrient broth*, 2 g ekstrak khamir, gliserol 2.5% (v/v) dan 15 g agar-agar L⁻¹) sebagai medium perbanyakan.

Bakteri Antagonis

Sampel untuk penelitian ini diperoleh dari rizosfer tanaman kentang, bambu, padi, terung belanda serta bahan organik kerbau belang dan babi di Desa Minanga, Kecamatan Mengkendek, Kabupaten Tana Toraja, Provinsi Sulawesi Selatan.

Sebanyak 1 g sampel rizosfer tanaman dan bahan organik disuspensikan dalam 10 mL air steril, lalu dibuat pengenceran hingga 6 kali. Pada pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵ dan 10⁻⁶, diambil sebanyak 1 mL dan ditumbuhkan pada medium King's B. Setelah murni, isolat diperbanyak pada medium agar-agar nutrien.

Uji Kemampuan Daya Hambat Bakteri Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Isolat murni bakteri dari rizosfer dan bahan organik diinokulasikan pada botol berisi medium cair nutrien (8 g *nutrient broth* L⁻¹), lalu digoyang dengan kecepatan 120 rpm selama 3 hari. Setelah itu, sebanyak 1 mL medium cair dimasukkan ke tabung ependorf dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 100 rpm. Supernatan selanjutnya

disaring menggunakan filter 0.02 μM dan dimasukkan ke tabung endorff berisi larutan kloroform. Selanjutnya dilakukan pengenceran isolat murni bakteri patogen dan diratakan pada medium NGA. Kertas saring steril berukuran 0.5 cm dicelupkan ke dalam larutan kloroform yang mengandung supernatan bakteri antagonis, dikeringanginkan, lalu diletakkan pada bagian tengah medium yang telah berisi bakteri patogen. Pada perlakuan kontrol, potongan kertas saring dicelupkan dalam pelarut kloroform. Kemampuan antagonisme isolat-isolat bakteri terhadap *R. solanacearum* diukur berdasarkan diameter zona penghambatan disekeliling kertas saring.

Uji Kemampuan Daya Hambat Bakteri Antagonis terhadap *Fusarium oxysporum*

Uji kemampuan bakteri menghambat *F. oxysporum* dilakukan dengan metode kultur ganda Fokkema (1973). Persentase penghambatan (P) dihitung dengan rumus:

$$P = R_0 - \frac{R_1 + R_2}{2} \times 100\%, \text{ dengan}$$

R_0 , jari-jari pertumbuhan patogen pada perlakuan kontrol (cm); R_1 dan R_2 , jari-jari pertumbuhan patogen pada perlakuan (cm).

Penelitian ini disusun dalam acak lengkap dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada setiap perlakuan. Analisis sidik ragam dilakukan, jika di antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata dengan uji Duncan pada taraf 5%.

HASIL

Isolat Bakteri dan Uji Antagonisme Terhadap *R. solanacearum*

Dari rhizosfer tanaman kentang, padi, bambu dan terung belanda, serta dua jenis bahan organik berhasil diisolasi sebanyak 74 isolat bakteri, yang terdiri atas 31 isolat dari rhizosfer pertanaman dan 43 isolat dari bahan organik (Tabel 1).

Dari total 74 isolat bakteri yang diperoleh, 10 isolat bakteri memiliki potensi sebagai agens antagonis karena mampu membentuk zona hambat terbesar (Tabel 2). Isolat-isolat tersebut terdiri atas 1 isolat asal rhizosfer,

bambu dan 9 isolat asal bahan organik kerbau belang (Tabel 2).

Uji Kemampuan Daya Hambat Bakteri Antagonis Terhadap *Fusarium oxysporum*

Pengujian kemampuan daya hambat isolat-isolat bakteri terhadap *F. oxysporum* menunjukkan terdapat 4 isolat (BT5, KT9, KB11 dan KB25) yang memiliki kemampuan daya hambat tertinggi. Persentase daya hambat tertinggi (80.68%) diperoleh dari perlakuan dengan isolat BT5, diikuti berturut-turut oleh KB11 (71.59%), KT9 (67.41%) dan KB25 (65.91%) (Gambar 1).

PEMBAHASAN

Pengendalian hayati patogen menggunakan mikroorganisme yang berasosiasi dengan rizosfer dan bahan organik merupakan pendekatan yang efisien dan ramah lingkungan (Bargabus *et al.* 2003). Bahan organik bermanfaat sebagai nutrisi tanaman, dan mengandung sejumlah besar mikrob termasuk bakteri, cendawan dan kapang. Mikroba ini memecah residu organik menjadi senyawa yang lebih sederhana selama proses pengomposan. Peningkatan nutrisi ini meningkatkan jangkauan dan jumlah mikrob tanah, termasuk yang berpotensi sebagai agensia hayati terhadap patogen tanaman (Holguín-Castaño dan Mora-Delgado

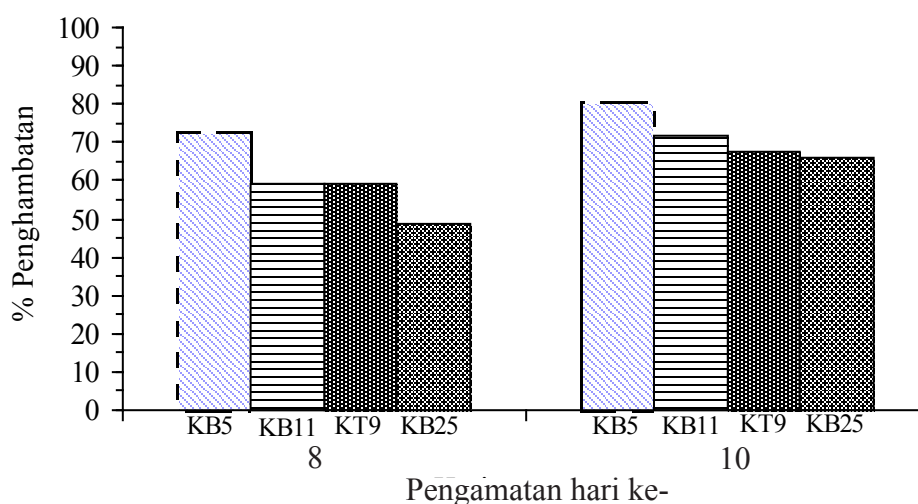
Tabel 1 Hasil isolasi bakteri dari empat rhizosfer pertanaman dan dua jenis bahan organik

Sumber isolat bakteri	Jumlah isolat
Rizosfer kentang (KT)	12
Rizosfer padi (PT)	8
Rizosfer bambu (BT)	6
Rizosfer terung belanda (TB)	5
Bahan organik babi (BB)	8
Bahan organik Kerbau belang (KB)	35

Tabel 2 Daya hambat isolat bakteri terhadap pertumbuhan *Rolstania solanacearum* secara *in-vitro*

Sumber isolat bakteri	Jumlah isolat pada masing-masing kategori daya hambat*				
	-	+	++	+++	++++
Rizosfer kentang (KT)	0	8	4	0	-
Rizosfer padi (PT)	0	2	4	2	0
Rizosfer bambu (BT)	-	3	1	1	1
Rizosfer terung belanda (TB)	1	4	-	-	-
Bahan organik babi (BB)	0	7	-	1	-
Bahan organik kerbau belang (KB)	0	19	4	3	9

Kemampuan daya hambat isolat bakteri dikelompokkan berdasarkan diameter zona hambat -, 0 (tidak ada penghambatan); -, 0; A, tidak ada penghambatan; B, 0.1–1 cm; C, > 1.0–2 cm; D, > 2.0–3 cm; E, > 3.0 cm.



Gambar 1 Persentase penghambatan *Fusarium oxysporum* oleh 4 bakteri antagonis potensial (KB5, KB11, KT9 dan KB25) berdasarkan pengamatan pada hari ke-8 dan ke-10.

2009). Tahapan pengembangan agens hayati meliputi isolasi, skrining *in vitro*, uji kemampuan antagonisme, skrining *in vivo*, dan pengembangan formulasi (Ahmed *et al.* 2007).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri lebih banyak diperoleh dari bahan organik dibandingkan dengan dari rizosfer. Hal ini diduga akibat pengaruh struktur tanah, kesuburan tanah, kelembaban tanah dan ketersediaan nutrisi. Tanah yang sehat bukan hanya subur dan banyak mengandung bahan yang menunjang kesehatan tanaman, tetapi juga mampu menyediakan lingkungan yang cocok bagi mikrob tanah, sehingga tanaman

dapat terlindungi dari patogen tanah (Nion dan Toyota 2008).

Dari total 74 isolat bakteri yang diuji hanya 10 yang memperlihatkan daya hambat terhadap *R. solanacearum* dan *F. oxysporum*, dan hambat terdapat 4 isolat yang memiliki daya hambat terbaik. Samia *et al.* (2013) melakukan skrining terhadap 111 galur bakteri yang berasal dari tanaman kentang dan gandum. Hanya 14 isolat bakteri dari tanaman kentang yang bersifat antagonis terhadap *Phytophthora infestans*, *F. oxysporum f. sp. albedinis* and *F. solani var. coeruleum* dengan persentase penghambatan mencapai 92.30%. Tehrani dan Ramezani (2003) melaporkan

bahwa kelompok rizobakteri yang merupakan mikrob antagonis adalah yang memiliki daya hambat diatas 51 persen terhadap patogen tular tanah seperti *F. oxysporum* Schlecht. Mikroba antagonis dapat berfungsi sebagai agens pengendali patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, parasitisme atau ketahanan yang terinduksi. Hingga saat ini kelompok bakteri yang paling banyak dimanfaatkan sebagai agens pengendali hayati adalah *Pseudomonas berfluoresen* (Weller *et al.* 2002) dan beberapa strain dari *Bacillus* (Choudhary dan Johri 2009).

Penggunaan agens antagonis untuk meningkatkan hasil panen dan melindungi tanaman dari serangan organisme pengganggu tanaman merupakan pendekatan menjanjikan dalam sistem pertanian moderen. Penelitian terhadap isolat-isolat agens antagonis ini perlu dilakukan lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme antagonistiknya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari tesis yang dibiayai oleh proyek Insentif Ristek TA 2012, Nomor Kontrak 06/M/Kp/I/2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed IH, Labuschagne N, Korsten L. 2007. Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and crown rot of sorghum in Ethiopia. *Biol Control*. 40(1): 97–106. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.07.017>.
- Bargabus RL, Zidack NK, Sherwood JE, Jacobsen BJ. 2003. Oxidative burst elicited by *Bacillus mycoides* isolate, Bac J, a biological control agent, occurs independently of hypersensitive cell death in sugar beet. *Mol Plant–Micro Interact*. 16:1145–1153. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.12.1145>.
- Choudhary DK, Johri BN. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiol Res*. 64(5):493–513. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007>.
- Fokkema NJ. 1973. The role of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. *Physiological Plant Pathology*. 3:195–205. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0048-4059\(73\)90082-9](http://dx.doi.org/10.1016/0048-4059(73)90082-9).
- Holguin-Castaño VA, Mora-Delgado J. 2009. Dinámica microbiana en vermicompostas comerciales con y sin inoculación del hongo *Trichoderma* spp. *Revista Luna Azul*. 29:18–24.
- Nion YA, Toyota K. 2008. Suppression of bacteria wilt and fusarium wilt by a *Burkholderia nodosa* strain isolated from Kalimantan soils, Indonesia. *Microbes Environ*. 23(2):134–141. DOI: <http://dx.doi.org/10.1264/jsm.23.134>.
- Nurbaya, Zulfikar A, Kuswinanti T, Baharuddin dan Lologau BA. 2011. Kemampuan Mikroba Antagonis dalam Mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada Sistem Budi daya Aeroponik Tanaman Kentang. *J Fitomedika*. 7(3):155–158.
- Samia MA, Nora H, Nadia S, Abdelhadi G and Mohamed MZ. 2013. Isolation and selection of indigenous bacterial strains with suppression properties from the Rhizospheres of potato and wheat. *Annual Review & Research in Biology*. 3(4):405–415.
- Tehrani AS and Ramazani M. 2003. Biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of onion wilt by antagonistic bacteria. *Comm Agr Appl Biol Sci*. 68(4):543–547.
- Weller DM, Raaijmakers JM, McSpadden GB, Thomashow LS. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol*. 40:309–348. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>.