

## Efektivitas PGPR Formulasi Kompos Dalam Meningkatkan Ketahanan Tanaman Kedelai terhadap *Soybean Stunt Virus*

I KETUT SIADI<sup>\*)</sup>, KHAMDAN KHALIMI, I DEWA NYOMAN NYANA, DAN I GUSTI NGURAH RAKA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar

<sup>\*)</sup>E-mail: iketutsiadi@yahoo.com

### ABSTRACT

**Effectiveness of PGPR Compost Formulation in Improving Soybean Plant Resistance to *Soybean Stunt Virus*.** *Soybean stunt virus* (SSV) is one of important obstacles of soybean production in Indonesia. This virus causes the stunting on soybean plant and may cause the yield losses up to 71%. Eight isolates of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) were isolated and tested for their efficacy to control SSV on soybean. Those isolates are Paj, Pak2, Pa1, Pa3, Pa4, BT, and KT. Application of PGPR was done by soaking the seeds in PGPR solution prior to planting and application of PGPR in compost formulation. Virus concentration and disease incidence were determined using DAS-ELISA. Results of this study showed that application of PGPR in compost formulation suppressed disease incidence caused SSV. Disease incidence on treated plants ranged between 10% to 25%, while all of plant (100%) on un-treated plants were infected. Peroxidase activity on treated plants increased by 80.25% to 97.33% in comparison with un-treated plants. These results suggested that application of PGPR in compost formulation could increase the resistance of soybean against SSV. Hence, PGPR can be considered as one of measures to control SSV on soybean.

---

*Keywords: PGPR in compost formulation, Soybean stunt virus*

### PENDAHULUAN

Kedelai merupakan tanaman pangan terpenting ketiga setelah padi dan jagung. Komoditas ini kaya protein nabati yang diperlukan untuk meningkatkan gizi masyarakat, sehingga pemerintah mengharapkan dapat tercapai swasembada kedelai. Konsumsi kedelai oleh masyarakat Indonesia dipastikan akan terus meningkat setiap tahunnya mengingat beberapa pertimbangan seperti bertambahnya populasi

penduduk, peningkatan pendapatan per kapita, dan kesadaran masyarakat akan gizi makanan.

Produksi kedelai nasional setiap tahunnya terjadi peningkatan tetapi tetap tidak bisa menyusul laju permintaan kedelai dalam negeri. Salah satu penyebabnya adalah produktivitas pertanian yang rendah yaitu hanya 1,1 ton/ha (Suharjawanasuria, 2001). Rendahnya produktivitas pertanian kedelai bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu faktor tersebut adalah pengendalian

hama dan penyakit belum baik. Terdapat satu dari lima jenis penyakit utama yang penting pada tanaman kedelai yaitu penyakit kerdil kedelai yang disebabkan *Soybean stunt virus* (SSV). Penyakit kerdil kedelai merupakan penyakit yang dominan di Indonesia.

Pengendalian penyakit kerdil dalam budi daya kedelai dilakukan dengan pestisida untuk menekan populasi serangga vektornya bahkan dengan frekuensi dan dosis penyemprotan yang melebihi anjuran. Penggunaan pestisida secara liberal dapat mengurangi populasi serangga yang berguna dan dapat memberikan dampak negatif terhadap lingkungan. Adanya dampak negatif dari pestisida maka dibutuhkan teknologi alternatif untuk pengendalian patogen yang lebih aman. Teknologi yang memungkinkan untuk dikembangkan dan relatif aman adalah pemanfaatan PGPR formulasi kompos. PGPR formulasi kompos adalah kompos yang digunakan untuk media tumbuh dan pembawa mikroba *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). PGPR adalah bakteri pengkoloni akar yang memberikan efek menguntungkan terhadap pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen.

## BAHAN DAN METODE

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) PaJ, PaK2, Pa1, Pa3, Pa4, BT, dan KT (isolat koleksi Laboratorium Biopestisida) dibiakkan dengan cara mengambil masing-masing 1 ml suspensi

starter dan dimasukkan ke dalam dua erlenmeyer berbeda berisi media NPK (terdiri atas 5 g NPK (15:15:15) dan 10 g gula dalam 1 liter air) sebanyak 200 ml. Biakan digojok terus menerus selama 24 jam (Nurhadiansyah 2008). Masing-masing biakan dihitung kepadatan populasinya dengan cara mengambil 1 ml dan dilakukan pengenceran berseri, kemudian disebar dalam cawan petri berisi media King's B (20 g protease pepton, 1,5 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1,5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 15 ml gliserol, 15 g agar dalam 1000 ml air). Cawan petri diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar, sehingga diperoleh kepadatan populasi minimal 10<sup>8</sup> cfu/ml. Biakan ini digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

Perlakuan PGPR pada kompos dilakukan dengan cara menambahkan suspensi campuran PGPR dengan kerapatan  $\pm 10^8$  cfu/ml sebanyak 10 ml/kg kompos yang sudah disterilisasi, selanjutnya diinkubasi selama 30 hari.

Benih kedelai ditanam pada polibag yang telah diisi dengan tanah dan pupuk kandang masing-masing dengan perbandingan 2:1. Pada perlakuan PGPR formulasi kompos, media tanam ditambahkan PGPR formulasi kompos sebanyak 200 gram sedangkan pada kontrol, media tanam ditambahkan 200 gram kompos tanpa PGPR. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 10 kali.

Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok, dengan perlakuan sebagai berikut:

- A) Perlakuan 200 gram kompos dan diinokulasi dengan SSV (perlakuan KT).
- B) Perlakuan 200 gram kompos tanpa diinokulasi dengan SSV (perlakuan KK).
- C) Perlakuan 200 gram PGPR formulasi kompos (KP).
- D) Perlakuan perendaman biji dengan suspensi PGPR dan diinokulasi dengan SSV (BK).
- E) Perlakuan kombinasi antara perendaman biji dengan suspensi PGPR dan 200 gram PGPR formulasi kompos (BP) tanpa diinokulasi dengan SSV.

Tanaman kedelai yang terinfeksi oleh SSV digerus dalam mortal dan pistil steril. Larutan bufer fosfat 0,05 M pH 7,0 ditambahkan dengan perbandingan 1 gram daun per 0.5 ml larutan bufer fosfat (1 : 5 b/v). Cairan perasan inokulum ini segera diinokulasikan ke tanaman uji. Setiap tanaman diinokulasi pada 2 helai daun termuda yang telah membuka penuh. Sebelum diinokulasi, jaringan permukaan daun dilukai dengan karborundum 600 mesh pada bagian atas daun, kemudian cairan perasan inokulum dioleskan dengan *cotton bud* pada permukaan daun yang dilakukan searah tulang daun tanpa digosok berlawanan arah. Setelah pengolesan inokulum, dilakukan pembilasan sisa-sisa karborundum yang masih melekat pada permukaan daun tanaman uji dengan akuades (air steril). Pengamatan dilakukan setiap hari selama 90 HSI. Pengamatan meliputi gejala dan variasi gejala yang timbul, masa inkubasi dan persentase kejadian penyakit.

Pengukuran aktivitas peroksidase dilakukan 10 hari setelah inokulasi SSV pada tanaman kedelai. Cara yang digunakan adalah prosedur Cohen Cit yang dikemukakan oleh Simons & Ross (1970) dan telah dimodifikasi: Daun kedelai dihancurkan dengan mortar dan ditambah 0,01 M buffer fosfat pH 6,0 dengan perbandingan 1 : 4.

Hasil hancuran disaring dan disentrifugasi selama 30 menit 5000 rpm pada 4°C. Supernatan digunakan sebagai sediaan enzim. Sebelum pengamatan aktivitas enzim, dibuat dahulu larutan pirogalol, (10 ml pirogalol 0,5 M ditambah dengan 12,5 ml buffer fosfat 0,066 M pH 6,0 selanjutnya diencerkan dengan air sampai volume menjadi 100 ml). Sebanyak 0,2 ml sediaan enzim yang telah diencerkan ditambahkan pada pereaksi yang terdiri dari 5 ml larutan pirogalol 0,5 M dan 0,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% di dalam kuvet. Campuran tersebut dihomogenkan selama 5 hingga 10 detik dan diamati dengan spektrofotometer panjang gelombang ( $\lambda$ ) 420 nm. Nilai absorbansi diamati setiap 30 detik selama 180 detik. Kadar Protein total dihitung dengan reagen Bradford menggunakan *bovine serum albumin* (BSA; Sigma Aldrich USA) sebagai standar, melalui persamaan regresi. Sebagian lain sediaan enzim diukur nilai absorbansinya menggunakan larutan cooper alkaline dan pereaksi Folin Ciocalteu fenol, dengan spektrofotometer  $\lambda$  500 nm. Penghitungan unit aktivitas enzim (UAE) yang dinyatakan dengan perubahan nilai absorbansi (Unit menit<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein), dilakukan sebagai berikut :

- Nilai absorbansi yang diperoleh dikurangi dengan blanko.

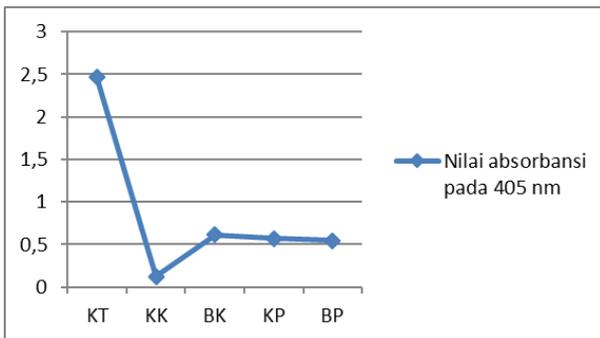
- Rata-rata atau *slope* nilai absorban (b) dari satu pengamatan dicari dengan menggunakan persamaan regresi ( $Y = a + bx$ )
  - $$UAE = \frac{\Delta OD \text{ sediaan enzim}}{\text{Volume uji}} \times \frac{\text{Berat total daun uji}}{\text{Kadar protein total}}$$
- $\Delta OD$ : *optical-density* (nilai absorban) rata-rata/*slope*

Tanaman kedelai yang telah diinokulasi dengan SSV, dideteksi dengan DAS-ELISA sesuai petunjuk dari (Agdia, USA). Tahapan uji tersebut adalah *coating*, sumuran plat mikrotiter diisi dengan 100  $\mu$ l antiserum SSV yang telah disuspensikan ke dalam bufer *coating*. Inkubasi plat mikrotiter pada suhu 37 °C selama 2 – 4 jam. Setelah proses inkubasi selesai plat mikrotiter dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali. Selanjutnya sumuran plat mikrotiter diisi dengan 100  $\mu$ l sap tanaman yang terinfeksi virus, kemudian diinkubasi selama semalam pada suhu 4 °C. Selanjutnya plat mikrotiter dicuci dengan PBST sebanyak 5 kali. Sumuran yang telah dicuci ditambah konjugat anti-virus sebanyak 100  $\mu$ l/ sumuran kemudian diinkubasi lagi pada suhu 37 °C selama 4 jam. Selanjutnya plat mikrotiter dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali. Akhirnya plat mikrotiter yang telah dicuci ditambahkan substrat (10 mg *p-nitrophenyl phosphate* dalam 10 ml bufer substrat) sebanyak 100  $\mu$ l/sumuran dan diinkubasi selama 30- 60 menit pada suhu ruang. Jika terjadi perubahan warna, menunjukkan bahwa sampel tersebut positif terinfeksi SSV. Untuk mengkuantifikasi hasil digunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm.

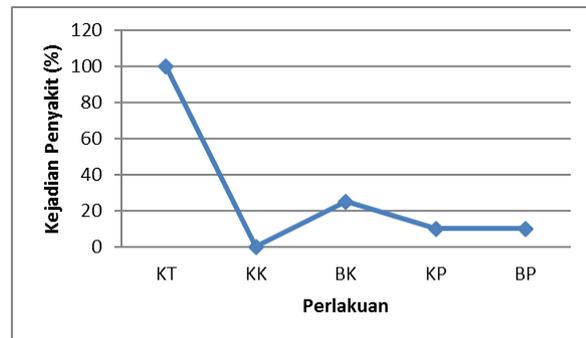
## HASIL DAN PEMBAHASAN

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) PaJ, PaK1, Pa1, Pa3, Pa4, BT, dan KT yang masing-masing dibiakkan pada media NPK, diinkubasikan dengan cara digojok selama 48 jam pada suhu ruangan. Hasil biakan diukur kepadatannya dengan cara ditumbuhkan/disebar pada media King's B dalam cawan petri. Setelah diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruangan, koloni yang tumbuh menunjukkan kepadatan bakteri yang dinyatakan dalam *colony forming unit*/mililiter (cfu/ml). Kepadatan yang diperoleh pada biakan *P. aeruginosa* PaJ, PaK1, Pa1, Pa3, Pa4, BT, dan KT masing-masing adalah  $9 \times 10^8$  cfu/ml dan  $4 \times 10^8$  cfu/ml, memenuhi kepadatan minimal ( $10^8$  cfu/ml) dan dapat digunakan sebagai inokulum pada perlakuan selanjutnya.

Secara umum dapat dicatat bahwa konsentrasi SSV pada tanaman kedelai yang tidak diberi perlakuan PGPR formulasi kompos sangat tinggi, sedangkan pada tanaman kedelai yang diberi perlakuan PGPR formulasi kompos konsentrasi SSV sangat rendah berdasarkan uji DAS- ELISA (Gambar 1). Tingginya akumulasi virus dan kejadian penyakit pada tanaman tanpa perlakuan PGPR formulasi kompos dan diinokulasi SSV menyebabkan pertumbuhannya terhambat dan menampakkan gejala belang atau mosaik.



Gambar 1. Nilai konsentrasi virus berdasarkan uji DAS-ELISA

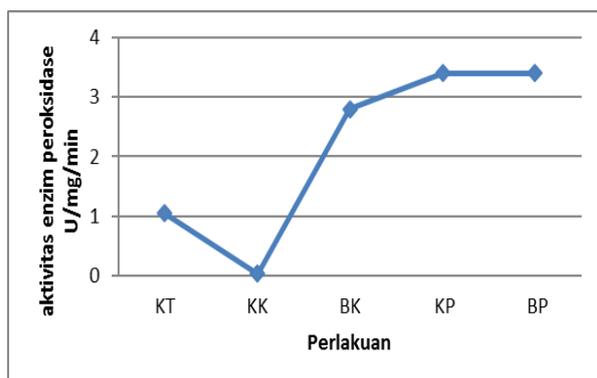


Gambar 2. Kejadian penyakit berdasarkan uji DAS-ELISA

Infeksi SSV pada tanaman yang diberi perlakuan PGPR formulasi kompos menyebabkan kejadian penyakit 10% dan 25% sedangkan pada perlakuan kontrol 100% (Gambar 2). Namun demikian tanaman yang terinfeksi tersebut mampu mempertahankan karakter pertumbuhan. Oleh karena itu dapat dilaporkan bahwa isolat PGPR yang diformulasikan dalam bentuk kompos dapat menekan kejadian penyakit yang disebabkan oleh SSV. Tingginya akumulasi virus dan kejadian penyakit pada tanaman tanpa perlakuan PGPR formulasi kompos dan diinokulasi SSV menyebabkan tanaman menjadi kerdil dan menampilkan gejala belang disertai malformasi daun sedangkan pada tanaman dengan perlakuan PGPR formulasi kompos menunjukkan rendahnya konsentrasi virus di dalam tanaman.

Hal ini membuktikan bahwa tanaman yang diberi perlakuan PGPR yang diformulasikan dalam bentuk kompos mampu menghambat translokasi dan replikasi virus, sehingga pertumbuhan tanaman tidak terganggu. Dengan demikian perlakuan PGPR formulasi kompos adalah alternatif pengendalian tanaman karena PGPR dapat diaplikasikan ke biji atau dicampur ke dalam tanah untuk pembibitan atau saat pindah tanam.

Selain meningkatkan pertumbuhan tanaman PGPR formulasi kompos yang digunakan didalam penelitian ini mampu menginduksi ketahanan tanaman, sehingga tanaman mampu mereduksi atau menekan kejadian penyakit dan munculnya gejala ketika ada infeksi virus. Hasil analisis aktivitas peroksidase 10 hari setelah inokulasi pada perlakuan PGPR formulasi kompos meningkatkan peroksidase dari 0,035 sampai 3,4 U/mg/min (Gambar 3).



Gambar 3. Analisis aktivitas peroksidase

Hasil analisis enzim peroksidase menunjukkan bahwa konsentrasi enzim peroksidase lebih tinggi pada tanaman yang diberi perlakuan PGPR. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Murphy (2000) bahwa tanaman tomat yang diberi agen penginduksi menunjukkan peningkatan enzim peroksidase dibandingkan dengan tanaman tanpa agen penginduksi. Studi ini membuktikan bahwa PGPR dapat menjadi alternatif pengendalian yang mampu melindungi tanaman secara sistemik terhadap infeksi virus. Van Loon *et al.* (1998) menyimpulkan bahwa keuntungan utama penggunaan PGPR adalah induksi ketahanan sistemik dapat dilakukan hanya sekali aplikasi, mekanisme ketahanan alami akan bekerja untuk periode yang lama meskipun populasi bakteri penginduksi makin lama semakin menurun. Kishore *et al.* (2005) melaporkan bahwa peningkatan aktivitas peroksidase 1,5 kali dan 1,5 – 2 kali pada 7 hari setelah induksi dan 12-72 jam setelah inokulasi.

Tanaman yang diberi perlakuan PGPR memiliki keadaan metabolisme yang lebih baik sehingga adanya inokulasi SSV tidak menyebabkan tanaman berada dalam

keadaan stres. Sebaliknya tanaman yang tidak diberi perlakuan PGPR menjadi sangat tercekam pada saat diinokulasi virus sehingga tanaman meresponnya secara cepat dengan memobilisasi metabolit sekunder seperti asam salisilat untuk melawan infeksi virus. Agrios (2005) melaporkan bahwa tanaman yang mengalami cekaman baik faktor abiotik dan biotik akan menampakkan respon peningkatan aktivitas peroksidase. Klopffer *et al.* (1992) mendefinisikan bahwa induksi ketahanan penyakit sebagai proses pengaktifan pertahanan tanaman secara fisik dan kimia yang diaktivasi oleh agens biotik dan abiotik. Oleh karena itu, perlakuan PGPR menjanjikan untuk diaplikasi sebagai strategi alternatif untuk mengendalikan penyakit virus pada tanaman kedelai. *P.aeruginosa* (PGPR) mampu menginduksi aktivitas enzim peroksidase pada tanaman kedelai.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tanaman yang diberi perlakuan dengan PGPR memiliki aktivitas peroksidase lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Simons dan Ross (1970) menyatakan bahwa tingginya aktivitas peroksidase biasanya berasosiasi dengan lambatnya proses infeksi dan berhubungan dengan lignifikasi serta pembentukan hidrogen peroksida yang menghambat patogen secara langsung atau pembentukan radikal bebas yang memiliki efek anti mikroba. Enzim peroksidase merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses ketahanan tanaman terhadap patogen (Brimocombe *et al.*, 2001). Peroksidase, lipoksigenase dan phenylalanin amonia lyase berhubungan dengan serangkaian ISR yang diatur oleh jasmonat dan ethylene dan diaktifkan oleh

mikroorganisme saprofit termasuk rhizobacteria (Van Loon *et al.*, 1998). ISR oleh isolat rhizobacteria bersifat tidak spesifik (Van Loon *et al.*, 1998). Sifat tidak spesifik tersebut merupakan suatu keuntungan dari ISR jika dibandingkan dengan pengendalian biologi klasik, dimana antagonis yang terpilih biasanya aktif terhadap satu atau beberapa patogen (Wei *et al.*, 1991). Beberapa perubahan yang terjadi pada akar tanaman yang mengalami ISR adalah (1) penguatan epidermis dan korteks dinding sel dan terbentuknya penghalang di sekeliling tempat infeksi yang berupa kalus, lignin dan senyawa fenol, (2) peningkatan jumlah beberapa enzim seperti kitinase, peroksidase, polyphenol oxidase dan phenylalanine ammonia lyase, (3) meningkatkan pembentukan fitoaleksin, dan (4) meningkatkan ekspresi gen-gen yang berkaitan dengan kondisi stres.

Peroksidase penting dalam pembentukan papila terutama dalam proses lignifikasi papila. Papila adalah lapisan pada jaringan sel yang terdiri dari berbagai macam bahan yang terkumpul di antara membran plasma dan dinding sel. Organ ini terbentuk sebagai respon ketahanan inang terhadap gangguan pada permukaan sel seperti misalnya penetrasi oleh patogen dan kerusakan mekanis (Huang, 2001). Peroksidase berfungsi dalam ketahanan melalui produksi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida secara langsung dapat bersifat toksik terhadap mikroorganisme dan dapat juga berperan dalam memperkuat dinding sel dengan pembentukan prekursor lignin melalui aktivitas enzim peroksidase.

## SIMPULAN

Hasil PGPR formulasi kompos dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit kerdil, yang ditunjukkan dengan penurunan kejadian penyakit dan peningkatan aktivitas peroksidase tanaman. Persentase kejadian penyakit kerdil pada tanaman yang diberi perlakuan PGPR formulasi kompos berkisar antara 10% sampai 25%, sedangkan pada tanaman kontrol terinfeksi penyakit kerdil 100% berdasarkan uji DAS-ELISA. Perlakuan PGPR formulasi kompos meningkatkan aktivitas peroksidase sebesar 80,25% – 97,33% dibandingkan dengan kontrol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press.
- Brimocombe MJ, De Leij FA, Lynch JM. 2001. The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. Di dalam: Pinton R, Varanini and Nannipieri, editor. The rhizosphere: biochemistry and organic substance at the soil plant interface New York, Basel. Marcel Dekker, Inc. 95-140.
- Huang JS. 2001. Plant pathogenesis and resistance. Netherlands Kluwer Academic Publishers.
- Kloepper JW, Wei G, Tuzun S. 1992. Rhizosphere population dynamics and internal colonization of Cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria which induce systemic resistance to *Colletotricum orbiculare*, Di dalam: James EC, Papavizas GC, and Cook RJ, editors. Biological control of plant diseases. Progress and challenge for the future. Life Sciences 230: 185-191.
- Murphy JF, Zehnder GW, Schuster DJ, Sikora EJ, Polston JE, Kloepper JW. 2000. Plant growth promoting

**I KETUT SIADI. *et al.* Efektivitas PGPR Formulasi Kompos Dalam Meningkatkan Ketahanan...**

rhizobacterial mediated protection in tomato against Tomato mottle virus. *Plant Disease* 84: 779-784.

Suharjawanasuria. 2001. Produksi kedelai nasional belum mencukupi. *Agribusiness Online - Indonesian Agribusiness on the Net*. 21 Oktober 2001.

Van Loon LC, Bakker PA, Pieterse CMJ. 1998. Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens. *Biological control of fungal and bacterial plant pathogens* 21: 103-110.

Wei G, Kloepper JW, Tuzun S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotricum orbiculare* by select strain of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508-1512.