



**PEMANFAATAN *Bacillus* sp. DAN *Pseudomonas fluorescens* UNTUK
MENGENDALIKAN PENYAKIT LAYU TOMAT AKIBAT SINERGI *R. solanacearum*
DAN *Meloidogyne* sp.**

Endang Mugiastuti, Ruth Feti Rahayuniati dan Prasmaji Sulistyanto
Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman

em_astuti@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Bacillus* sp. dan *P. fluorescens* dalam mengendalikan penyakit layu akibat sinergi *M. incoqnita* dan *R. solanacearum* pada tanaman tomat di rumah kaca. *Pseudomonas fluorescens* P8 merupakan bakteri antagonis yang terbaik untuk mengendalikan penyakit layu tomat dengan menekan masa inkubasi 95,39%, intensitas penyakit 69,95%, dan tingkat kerusakan akar karena nematode, serta untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan bobot segar tanaman 52,80 %, bobot akar tanaman 47,48%, dan jumlah buah 58,86%.

Kata Kunci : *Bacillus* sp, *P. fluorescens*, *R. solanacearum*, *Meloidogyne* sp, tomat

ABSTRACT

This study aims of this research was to know the ability of *Bacillus* sp and *P fluorescens* in suppressing of the wilt disease intensity that was caused by the synergisms of *R. solanacearum* and *M. incoqnita* on tomato that plant in green house. *P. fluorescens* P8 is the best antagonistic bacterial to control tomato wilt disease with inhibited incubation period 95.39%, disease intensity 69.95%, and the damage level of the roots caused by nematode, and to increase the growth of plant by the increase of the plant fresh weight 52.80%, root fresh weight 47.48%, and number of fruit 58.86% per plants.

Keywords: *Bacillus* sp, *P. fluorescens*, *R. solanacearum*, *Meloidogyne* sp, tomato

PENDAHULUAN

Tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) merupakan tanaman hortikultura yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia. Sebagian masyarakat mengkonsumsi buah tomat untuk terapi pengobatan karena mengandung karotin dan sumber vitamin C (Wiryanta, 2002). Upaya untuk meningkatkan produksi tanaman tomat sering kali dihadapkan pada masalah gangguan organisme pengganggu tumbuhan (OPT). Salah satu OPT penting pada tanaman tomat adalah *Ralstonia solanacearum* yang merupakan patogen penyebab penyakit layu pada tanaman tomat dan mampu menimbulkan kerugian ekonomi yang tinggi. Di lapangan, keparahan penyakit ini semakin meningkat dengan keberadaan nematoda puru akar *Meloidogyne*. Pengendalian umumnya dilakukan dengan pestisida kimiawi (Wiryanta, 2002). Sementara itu, penggunaan pestisida yang kurang bijaksana sering menimbulkan berbagai dampak negatif.

Pengendalian terhadap sinergi antara kedua organisme tersebut dengan menggunakan cara yang ramah lingkungan perlu dilakukan. Pengendalian dengan menggunakan bakteri antagonis merupakan alternatif pengendalian yang potensial. Pengendalian dengan cara ini mempunyai kelebihan, bakteri antagonis bersifat hidup dan dapat berkembang biak sehingga kemampuannya di lapangan dapat bertahan lama dan berkelanjutan. Bakteri antagonis yang berpotensi untuk mengendalikan *R. solanacearum* dan *Meloidogyne* sp diantaranya adalah bakteri *Pseudomonas flourescens* dan *Bacillus* sp. Menurut Ghasemi *et al.* (2010), dan Chi-yea *et al.*, (2009), bakteri *Bacillus* mampu menghasilkan enzim protease dan kitinase. Demikian



juga Shan-lang *et al.* (2008), dan Kumar *et al.* (2007) melaporkan, bakteri *P. fluorescens* menghasilkan enzim yang sama. Enzim-enzim tersebut dapat mendegradasi telur nematoda, larva nematoda dan dinding sel bakteri sehingga mampu menekan pertumbuhan dan perkembangan kedua organisme pengganggu tersebut, yang pada akhirnya dapat menurunkan tingkat serangannya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Bacillus* sp. dan *P. fluorescens* dalam mengendalikan penyakit layu akibat sinergi *M. incoqnita* dan *R.solanacearum* pada tanaman tomat di rumah kaca.

METODE ANALISIS

Penelitian ini dilaksanakan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. Penelitian dilaksanakan selama 5 bulan dimulai pada bulan Maret sampai dengan Juli 2012.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang dicoba adalah kontrol, pengendalian kimia (Furadan dan Streptomisin sulfat), *Bacillus* sp B8, *Bacillus* sp B11, *P. fluorescens* P8 dan *P. fluorescens* P16. *Bacillus* sp. dan *P. fuorescens* yang digunakan adalah isolat yang berasal dari rhizosfer tanaman tomat dan telah diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* *in vitro* (Mugiastuti *et al.*, 2012) dan penetasan telur *Meloidogyne* spp (Mugiastuti dan Rahayuniati, 2011). Aplikasi bakteri antagonis dilakukan bersamaan waktu pindah tanam, dengan cara menyiramkan suspensi bakteri sebanyak 50 ml dengan kepadatan 2×10^{11} upk/ml. Penyiraman dilakukan 4 kali dengan interval 5 hari. Tiga hari setelah pindah tanam, tanaman tomat diinokulasi dengan 100 ml *R. solanacearum* dengan kepadatan 8×10^9 upk/ml dan telur nematoda *Meloidogyne* spp. sebanyak 5.000/tanaman. Tanaman dipelihara sampai berumur 2 bulan.

Variabel yang diamati adalah:

- 1) Masa inkubasi dihitung mulai waktu inokulasi sampai munculnya gejala awal penyakit. Selanjutnya diamati perkembangan gejala yang terjadi.
- 2) Intensitas penyakit dihitung sejak muncul gejala dengan interval waktu 7 hari. Penghitungan dilakukan dengan cara mengamati gejala daun yang menguning pada tanaman kemudian dihitung dengan menggunakan rumus (Priou *et al.*, 2011).

$$IP = \frac{\sum (n \times v)}{Z \times N} \times 10\%$$

Keterangan :

n = jumlah daun pada tiap kategori serangan

v = nilai skala dari tiap kategori serangan

Z = nilai skala kategori serangan tertinggi

N = jumlah daun yang diamati

Sedangkan nilai skala kategori serangan yang digunakan adalah :

0 = tidak ada serangan/sehat

1 = kelayuan hanya 1 daun

2 = kelayuan mencapai 50% daun

3 = kelayuan mencapai 75% daun

4 = kelayuan mencapai seluruh tanaman

- 3) Tingkat kerusakan akar menurut skala Zeck (1970), diukur pada akhir pengamatan
- 4) Jumlah nematoda dalam tanah, diukur pada akhir pengamatan. Tanah di sekitar perakaran disampel sebanyak 100 g, kemudian diekstraksi-isolasi dengan metode modifikasi corong Baerman (Hooper, 1986), larva yang didapat dihitung.
- 5) Bobot segar tanaman, bobot segar akar dan jumlah buah/tanaman, diukur pada akhir pengamatan



Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F, dan apabila berbeda nyata, dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan Multiple Rank Test*) pada tingkat kesalahan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian penggunaan bakteri antagonis *Bacillus* sp. dan *P. fluorescens* untuk mengendalikan penyakit layu tanaman tomat akibat sinergi *R. solanacearum* dan *Meloidogyne* dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis data, bakteri antagonis *Bacillus* sp. B11 dan *P. fluorescens* P8 mampu menunda saat muncul gejala (masa inkubasi) penyakit layu pada tanaman tomat, Gejala awal layu bakteri ini adalah tangkai daun mengalami kelayuan terutama pada siang hari yang panas, dan perkembangan gejala selanjutnya tanaman mengalami kelayuan daun dan batangnya, yang dimulai dari bagian atas tanaman. Menurut Semangun (2007), kelayuan terjadi pada daun muda atau menguningnya daun tua. Jika batang, cabang, atau tangkai daun dipotong akan terlihat berkas pembuluh berwarna cokelat, dan pada serangan lebih lanjut, dari bagian yang dipotong akan keluar massa bakteri seperti lendir berwarna putih susu. Tabel 1. Komponen patosistem tanaman tomat pada perlakuan bakteri antagonis untuk mengendalikan penyakit layu

Perlakuan	Masa inkubasi	Intensitas penyakit (%)	Jumlah nematode	Tingkat Kerusakan akar
Kontrol	14,33 a	49,76 b	175,00	5,00
Pestisida	19,67 ab	36,90 ab	171,50	4,00
<i>Bacillus</i> sp B8	23,83 ab	19,07 a	150,00	3,83
<i>Bacillus</i> sp B11	29,83 b	36,90 ab	137,00	3,80
<i>Pseudomonas</i> P8	28,00 b	14,95 a	127,17	3,33
<i>Pseudomonas</i> P16	23,33 ab	34,05 ab	94,00	3,40

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

Penundaan masa inkubasi diduga berkaitan dengan keberadaan bakteri antagonis yang dapat menjadi pesaing bagi bakteri patogen dan nematoda untuk menyerang tanaman. Di samping itu mekanisme yang lain dari bakteri antagonis seperti kemampuan menghasilkan antibiotik, enzim kitinase dan protease yang merusak dapat merusak sel bakteri atau telur atau larva nematode, yang akhirnya akan menghambat patogen untuk masuk dan menginfeksi tanaman inang.

Berdasarkan intensitas penyakitnya, penggunaan bakteri antagonis mampu menekan intensitas penyakit dibandingkan dengan kontrol tanpa pengendalian. Pengendalian dengan *P. fluorescens* P8 dan *Bacillus* sp. B8 adalah yang terbaik, yang tidak berbeda nyata dengan *Bacillus* sp B11, dan *Pseudomonas* P16, dengan penekanan intensitas penyakit secara berturut-turut adalah 69,95%, 61,67%, 31,57% dan 25,84%. Hasil ini sejalan dengan pengujian tentang daya hambat bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum* secara *in vitro* bahwa semua bakteri antagonis yang diuji mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *R. solanacearum* (Mugiastuti *et al.*, 2012). Hasil ini juga sejalan dengan penelitian Mugiastuti dan Rahayuniati (2011), bahwa bakteri antagonis mampu menghambat penetasan telur nematoda antara 33,33-66,67%

Penekanan intensitas penyakit oleh bakteri antagonis diduga berkaitan dengan berbagai mekanisme yang dimilikinya. Bakteri antagonis *P. fluorescens* dilaporkan mampu menghasilkan metabolit sekunder antara lain siderofor, pterin, pirol, dan fenazin. Siderofor dapat berperan sebagai fungistasis dan bakteriostatis (Soesanto, 2008), serta menginduksi ketahanan sistemik tanaman (Park *et al.*, 2009). Menurut Mehrotra (1980), mekanisme penekanan oleh genus *Bacillus* sp. adalah antibiosis, dengan menghasilkan antibiotika bulbiformin yang beracun terhadap berbagai patogen tanaman. Lebih lanjut Burrow (1965 dalam Susanti, 1995) mengatakan sejumlah antibiotika yang telah diisolasi dari *B. subtilis* antara lain basitrasin,



subtilin, dan basilin. Vasudeva (1962 dalam Mehrotra, 1980) mengatakan bahwa *B. subtilis* mempunyai antibiotika yang disebut bulbiformin yang mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *udum*. Suatu tipe *B. subtilis* yaitu *B. nato* menghasilkan antibiotika basitrasin yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa organisme.

Kemampuan bakteri antagonis dalam menekan intensitas penyakit juga tidak berbeda nyata secara statistik, jika dibandingkan dengan perlakuan pemberian pestisida furadan dan bakterisida streptomisin sulfat, sehingga diharapkan di masa mendatang dapat menggantikan penggunaan fungisida sintetik yang cukup banyak menimbulkan efek negatif bagi lingkungan. Efektifitas penekanan intensitas penyakit dari pestisida sebesar 25,84 %.

Berdasarkan hasil pengujian, pemberian bakteri antagonis tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap penekanan jumlah nematoda di dalam tanah. Aplikasi bakteri antagonis diduga tidak mematikan semua telur nematoda. Sebagian telur nematoda yang berhasil menetas dan masuk ke dalam tanaman mampu berkembang, dengan menghasilkan telur-telur nematoda baru. Telur-telur baru ini tidak mampu dikendalikan oleh bakteri antagonis.

Pengamatan tingkat kerusakan akar berdasarkan skala Zeck (1970), menunjukkan bahwa perlakuan bakteri antagonis cenderung mampu menurunkan tingkat kerusakan akar, dan mampu menyamai pengendalian dengan pestisida kimiawi. Tingkat kerusakan akar pada perlakuan bakteri antagonis berkisar pada skala 3,33-3,83, atau 1-2 tingkat lebih rendah dibandingkan kerusakan akar pada kontrol yang mencapai skala 5 (Tabel 3). Penurunan ini berkaitan dengan kemampuan bakteri antagonis dalam mengganggu proses penetasan telur nematoda. Adanya enzim kitinase dan protease yang dimilikinya akan merusak kulit telur nematoda, sehingga akan menyebabkan nematoda menetas secara prematur, dan banyak diantaranya mengalami kematian. Di samping itu, adanya senyawa-senyawa metabolit lainnya yang dikeluarkan oleh bakteri antagonis diduga juga menjadi penyebab penurunan tingkat kerusakan akar. Menurut Ashoub dan Amara (2010), genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dapat mengeluarkan senyawa volatil ataupun senyawa metabolit yang dapat mematikan larva ataupun telur nematoda.

Penggunaan bakteri antagonis untuk mengendalikan penyakit layu pada tanaman tomat, di samping dapat mempengaruhi komponen patosistem juga dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Tabel 4.) Perlakuan bakteri antagonis mampu meningkatkan berat segar tanaman sebesar 29,60-52,80 %. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa disamping sebagai agensia pengendali hayati, bakteri antagonis yang diuji juga bersifat PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Kemampuan tertinggi dalam meningkatkan bobot segar tanaman terdapat pada perlakuan *p. fluorescens* P8 yaitu sebesar 52,80 %. Hal ini berkaitan dengan rendahnya intensitas penyakit pada perlakuan tersebut. Perlakuan bakteri antagonis khususnya *P. fluorescens* P8 juga mampu secara nyata untuk meningkatkan bobot segar akar tanaman tomat sebesar 47,48%. Semua perlakuan bakteri antagonis juga mampu meningkatkan jumlah buah per tanaman, yaitu sebesar 58,86-113,35%. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa disamping sebagai agensia pengendali hayati, bakteri antagonis yang diuji juga bersifat PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*).

Aktivitas mikroba sebagai PGPR dapat melalui mekanisme meningkatkan pelarutan dan penyerapan unsur hara dan atau menghasilkan senyawa pengatur pertumbuhan tanaman. (Moeinzadeh *et al.*, 2010, Prasanna Reddy and Rao, 2009). Menurut Park *et al.* (2009), *P. fluorescens* RAF 15 mampu melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA, yang dapat memacu pertumbuhan tanaman. Kemampuannya menghasilkan IAA dapat digunakan sebagai kriteria utama dalam memilih PGPR, karena IAA akan mempengaruhi panjang akar, luas permukaan akar dan jumlah ujung akar (Viti *et al.*, 2010).



Tabel 4. Bobot segar tanaman dan akar serta jumlah buah per tanaman tomat pada perlakuan bakteri antagonis untuk mengendalikan penyakit layu

Perlakuan	Berat segar tanaman	Bobot segar akar	Jumlah buah/tanaman
Kontrol	125,00 a	82,50 a	3,67a
Pestisida	168,33 b	123,33 c	2,5ab
B8	170,83 b	92,50 a	7,83bc
B11	188,00 b	95,83 ab	6,5bc
P8	191,00 b	121,67 bc	5,83bc
P16	162,00 ab	78,33 a	6,67c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

Menurut Suryaningsih (2008), *Bacillus* juga mampu menghasilkan senyawa fitohormon seperti auksin, sitokinin, etilen, giberelin dan asam absisat yang mampu merangsang pertumbuhan tanaman, dan akhirnya berdampak pula pada peningkatan hasil. Kemampuan *Bacillus* sp. juga diketahui mampu sebagai PGPR yang memacu pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit (ISR: *induce systemic resistant*) dan akhirnya mampu meningkatkan hasil tanaman (van Loon, 2000; Broadbent *et al.*, 1977).

KESIMPULAN

Pseudomonas fluorescens P8 merupakan bakteri antagonis yang terbaik untuk mengendalikan penyakit layu tomat dengan menekan masa inkubasi 95,39%, intensitas penyakit 69,95%, dan tingkat kerusakan akar karena nematode, serta untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan bobot segar tanaman 52,80 %, bobot akar tanaman 47,48%, dan jumlah buah 58,86%

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DIPA Universitas Jenderal Soedirman Tahun Anggaran 2012 melalui Hibah Penelitian Pemula yang telah mendanai penelitian ini, dan kepada Anakardiansyah Pandu yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashoub, A. H. and M. T. Amara. 2010. Biocontrol Activity of Some Bacterial Genera Against Root-Knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Journal of American Science* 6(10):321-328.
- Broadbent, P., K.F. Baker, N. Franks, and J. Holland. 1977. Effect of *Bacillus* spp. on Increased Growth of Seedling in Steamed and in Nontreated Soil. *Phytopathology* 67 :1027-1034.
- Chi-Yea, Y.; H. Yi-Cheng, P. Jen-Chieh, H. Shiang-Suo, and T.J. Seng-Ming. 2009. Cloning and expression of an antifungal chitinase gene of a novel *Bacillus subtilis* isolate from Taiwan potato field, *Bioresource Technology* 100(3):1454-1458.
- Ghasemi, S., A. Gholamreza, J. Nadali, R. Heshmatollah, G. Soheila, D. Ali, and S. Parvin, 2010. Antifungal chitinases from *Bacillus pumilus* SG2: preliminary report. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 26(8):1437-1443.
- Hooper, D.J. 1986. Extraction of Free Living Stages From Soil, , *Dalam* J.F. Shoutey (Ed.), *Laboratory Methods For Work With Plant and Soil Nematodes*. Pp. 5-30. Ministry of Her Majesty's Stationary Office, London, UK.



- Kumar, A.N., K. Min Jeong, K. Sun Chul, and M.D. Kumar, 2007. Role of chitinase and β -1,3-glucanase activities produced by a fluorescent pseudomonad and in vitro inhibition of *Phytophthora capsici* and *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Microbiology* 53(2):207-212.
- Mehrotra, R.S. 1980. *Plant Pathology*. Tata Mc. Graw Hill Pub. Co. Ltd. New Delhi. 771pp.
- Moeinzadeh A, Sharif-Zadeh F, Ahmadzadeh M, & Heidari=Tajabadi F. 2010. Biopriming of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed with *Pseudomonas fluorescens* for improvement of seed invigoration and seedling growth. *Australian Journal of Crop Science* 4(7):564-570
- Mugiastuti, E. dan Rahayuniati. 2011. Penapisan Bakteri Antagonis dan Penggunaannya Untuk Mengendalikan Penyakit Layu Tanaman Tomat Akibat Sinergi Nematoda *Meloidogyne incoqnita* dan Jamur *Fusarium oxysporum*. *Laporan Penelitian*. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Mugiastuti, E., R.F. Rahayuniati, dan P. Sulistyanto. 2012. Pemanfaatan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* Untuk Mengendalikan Penyakit Layu Tanaman Tomat Akibat Sinergi *Ralstonia solanacearum* dan *Meloidogyne* sp. *Laporan Penelitian*. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Park KH, Lee CY & Son HJ. 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Letters in Applied Microbiology* 49: 222–228
- Prasanna Reddy B & Rao KS. 2009. Biochemical and PCR_PAPD characterization of *Pseudomonas fluorescens* produced antifungal compounds inhibit the rice fungal pathogens in vitro. *Electronic Journal of Enviromental, Agricultural and Food Chemistry* 8(10): 1062-1067
- Priou, S., P. Alley, E. Chujoy, B. Lemaga and E.R. French. 2011. Integrated Control of bacterial wilt of potato. On-line. http://www.fao.org/sd/erp/toolkit/BOOKS/integrated_control_of_bacterial_wilt_in_potato.pdf
- San-Lang, W. C. Shin-Jen, and W. Chuan-Lu, 2008. Purification and characterization of chitinases and chitosanases from a new species strain *Pseudomonas* sp. TKU015 using shrimp shells as a substrate. *Carbohydrate Research* 343(7):1171-1179.
- Semangun, H., 2007. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura Di Indonesia*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 845 pp.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda*. Rajawali Pers, Jakarta.574 hal.
- Van Loon, L.C. 2000. Systemic Induced Resistance. Pp: 521-574 In A.J. Slusarenko, R.S.s, Fraser, L.C. van Loon (eds.), *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*. Kluwer Academic Publisher. London
- Viti C, Tatti E, Decorosi F, Lista E, Rea E, Tullio M, Sparvoli E & Giovannetti L. 2010. Compost Effect on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Mycorrhizal Fungi Population in Maize Cultivations. *Compost Science & Utilization* 18(4):273-281
- Wiriyanta, B.T.W. 2002. Bertanam Tomat. Agromedia Pustaka, Jakarta. 100 hal.
- Zeck, W.M.. 1970. A rating Scheme For Field Evaluation Of Root Knot Nematodes Infestation. *Bayer* 24:141-144.