

## ANTAGONISTIK BAKTERI *Pseudomonas* spp. DAN *Bacillus* spp. TERHADAP JAMUR *Fusarium oxysporum* PENYEBAB PENYAKIT LAYU TANAMAN TOMAT

I Made Diarta<sup>1</sup>, Cokorda Javandira<sup>2\*</sup> dan I Ketut Widnyana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Staf Pengajar Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Mahasaraswati Denpasar

<sup>2</sup>Staf Pengajar Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian  
Universitas Mahasaraswati Denpasar

\*Email : javandira11\_unmas@yahoo.co.id, HP : 081916180186

### ABSTRAK

*Fusarium oxysporum* merupakan salah satu jamur patogen penting penyebab penyakit layu *Fusarium* pada tanaman tomat. Pengendalian yang telah dilakukan, baik dengan fungisida kimia sintetis maupun varietas tahan belum memberikan hasil yang memuaskan. Pengendalian menggunakan agensia hayati merupakan pilihan yang perlu dikembangkan, sebab relatif murah dan mudah dilakukan, serta bersifat ramah lingkungan. Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. diketahui memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati beberapa patogen tumbuhan. Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dilakukan di laboratorium setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. *Bacillus* sp. strain BS 3, BS 4 dan *Pseudomonas* sp. strain PF 1 dan PF 3 dapat menghambat perkembangan *Fusarium oxysporum* berupa pembentukan zona bening yang nampak disekitar kertas saring. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tipe antibiosis dari *Bacillus* sp. strain BS 3 dan strain BS 4 adalah Fungisidal. Tipe antibiosis dari *Pseudomonas* sp. strain PF 1 dan PF 3 adalah fungistatik.

**Kata kunci :** Uji Antagonistik, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. and *Fusarium oxysporum*

### ABSTRACT

*Fusarium oxysporum* is one of the important fungal pathogens causing *Fusarium* wilt on tomato plants. Control has been done, both with synthetic chemical fungicides or resistant varieties have not given satisfactory results. Control using biological agents is an option to be developed, because it is relatively cheap and easy to do, as well as environmentally friendly. *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. known to have potential as biological control some plant pathogens. The method used is experiment with completely randomized design (CRD) conducted in the laboratory of each treatment was repeated three times. *Bacillus* sp. strain BS 3, BS 4 and *Pseudomonas* sp. strain PF 1 and PF 3 can inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* by showing the clear zone on the agar plate. The results showed that the type of antibiosis from *Bacillus* sp. strain strain BS3 and BS4 are fungicidal, and then the type of *Pseudomonas* sp. strain PF 1 and PF 3 are fungistatic.

**Keywords:** Antagonistic assay, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. and *Fusarium oxysporum*

### PENDAHULUAN

Tanaman tomat termasuk tanaman sayuran yang sudah dikenal sejak dahulu. Peranannya yang penting dalam pemenuhan gizi masyarakat sudah sejak lama diketahui orang. Tanaman tomat (*Lycopersium esculentum* Mill) adalah tumbuhan setahun, berbentuk perdu atau semak dan termasuk ke

dalam golongan tanaman berbunga. Dalam klasifikasi tumbuhan, tanaman tomat termasuk kelas Dicotyledonae (berkeping dua). *Fusarium oxysporum* merupakan salah satu jamur patogen penting penyebab penyakit layu *Fusarium* pada tanaman tomat (Semangun, 2000). Jamur dapat menyebabkan kerugian

besar, terutama pada varietas tomat rentan dan pada kondisi lingkungan sesuai (Agrios, 2005). Pengendalian yang telah dilakukan, baik dengan fungisida kimia sintetis maupun varietas tahan belum memberikan hasil yang memuaskan. Bahkan penggunaan fungisida sintetis dapat menyebabkan dampak negatif (Untung, 1996). Kultivar tomat tahan terhadap *Fusarium oxysporum* belum tersedia saat ini. Pengendalian penyakit karena *Fusarium* dapat dilakukan dengan menambahkan antagonis dan bahan organik ke dalam tanah (Rustati *et al.*, 2004). Pengendalian menggunakan agensia hayati merupakan pilihan yang perlu dikembangkan, sebab relatif murah dan mudah dilakukan, serta bersifat ramah lingkungan.

Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp diketahui memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati beberapa patogen tumbuhan

(Cook dan Baker, 1996). Kemampuan bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp sebagai agens hayati berkaitan dengan kemampuannya bersaing untuk mendapatkan zat makanan, menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik, siderofor dan enzim ekstraseluler (Habazar dan Yaherwandi, 2006). *B. subtilis* dan *P. fluorescens* diketahui dapat mengendalikan bakteri *Erwinia carotovora* (Javandira, 2012). Pada Penelitian lain *B. megaterium*, *B. subtilis* mampu mengendalikan *R. solanacearum* (Aini dan Abadi, 2004).

Berdasarkan latar belakang diatas penelitian ini dilakukan untuk mempelajari potensi pengendalian dari agens hayati *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap patogen *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman tomat.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mahasaraswati Denpasar dan Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Mahasaraswati mulai bulan Agustus 2015 – Desember 2015.

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian antara lain polibag, tanah steril, pot plastik, lup/kaca pembesar, laminar air flow, autoklaf, hand counter/alat hitung, plastik, kasa, timbangan, tanaman tomat, alkohol 70%, mortar, saringan, blender, aquades, hand sprayer, gelas ukur serta alat dan bahan pembantu lainnya.

### Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang dilakukan di laboratorium dan pada tanaman tomat untuk uji antagonistik bakteri *Pseudomonas*

spp. dan *Bacillus* spp. terhadap jamur *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu tanaman tomat, setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Pengamatan diamati dari minggu pertama setelah aplikasi hingga panen buah tomat.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Perbanyakan dan inokulasi jamur patogen *Fusarium oxysporum*

Perbanyakan isolat patogen dilakukan dengan medium PDA. Biakan murni *F. oxysporum* pada PDA dipindah secara aseptis ke dalam *potato dextrose liquid* (PDL) dalam tabung Erlenmeyer, dan digojog (*Orbital shaker*) dengan kecepatan 150 rpm selama 6 hari pada suhu ruang. Selanjutnya, dihitung kerapatannya sebelum digunakan, dan ditemukan  $1,35 \times 10^7$  konidium  $\text{ml}^{-1}$  larutan. Pemberian *F. oxysporum* dilakukan bersamaan waktu tanam dengan menyiramkan suspensi atau supernatan antagonis sebanyak 20 ml per lubang sesuai dengan perlakuan.

### Penyiapan suspensi antagonis

Bakteri antagonis *Bacillus* spp. diperbanyak pada media NA (Nutrient Agar) dan bakteri *Pseudomonas* spp. diperbanyak pada medium King's B. Suspensi antagonis *P. fluorescens* dibuat dalam medium King's B cair, suspensi *Bacillus* spp. dibuat dalam medium NB digojog (*Orbital Shaker*) selama 3 hari dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Selanjutnya, antagonis dihitung kerapatannya sebelum digunakan, yaitu sebanyak  $1 \times 10^9$  cfu/ml<sup>-1</sup> larutan.

### Antagonisme Agens Hayati *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap *F. oxysporum* pada Cawan Petri

Pengujian antagonisme bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap bakteri patogen *Fusarium oxysporum* dilakukan secara metode *spray* (pengkabutan) (Kawaguchi *et al.*, 2008). Bakteri agens hayati *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang telah dibiakkan selama 48 jam diambil dengan jarum ose dibuat suspensi dalam 12 ml aquades steril dan disesuaikan sampai konsentrasi  $10^9$  cfu/ml. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi bakteri agens hayati selama  $\pm 1$  menit dan ditiriskan selama 2 jam. Kemudian kertas saring yang sudah kering di tanam ditengah-tengah media PDA pada petridish yang berdiameter 9 cm dan diinkubasikan selama 2 hari. Setelah diinkubasi selama 2 hari kemudian diberikan khloroform pada tutup biakan cawan petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Setelah itu biakan dikabutkan (*spray*) dengan suspensi bakteri patogen

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Antagonisme Agens Hayati *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap *F. oxysporum* pada Cawan Petri

Setelah dilakukan perbanyakan jamur *Fusarium oxysporum* pada media dalam *potato*

*Fusarium oxysporum* dengan konsentrasi  $10^9$  cfu/ml. Sebagai kontrol pada penelitian ini adalah kertas saring steril yang hanya dicelupkan pada akuades steril. Seluruh perlakuan diinkubasi selama 2 hari dan diameter daerah hambatan (zona bening) yang terbentuk diukur dengan penggaris.

### Variabel Pengamatan:

#### Pengamatan Antagonistik pada cawan petri

Indeks hambatan agens hayati terhadap patogen penyebab penyakit layu pada tanaman tomat pada cawan petri. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan daerah bening atau zona penghambatan yang dihasilkan oleh isolat bakteri agens hayati dan dihitung dengan rumus menurut Sugiyono, *et al* (2008).

#### Pengamatan tipe Antagonistik

Tipe antibiosis bakteri agens hayati terhadap patogen layu fusarium. Tipe antibiosis merupakan variabel kualitatif. Tipe fungistatik ditunjukkan dengan media pepton cair menjadi keruh, sedangkan tipe fungisidal ditunjukkan dengan media pepton cair tetap jernih, diamati setelah inkubasi 24 jam dengan penggojogan.

#### Analisis Statistik :

Data yang diperoleh dari pengamatan dianalisa lebih lanjut dengan analisis ragam dan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%, kemudian penyajian data dilakukan secara analisis deskriptif (Microsoft Excel).

*dextrose liquid* (PDL), maka selanjutnya dilakukan pengujian antagonis dengan agens hayati bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. Pengujian antagonis ini dilakukan pada media *potato dextrose agar* (PDA), dalam

cawan petri. Variabel yang digunakan sebagai indikator bakteri agens hayati mampu mengendalikan bakteri patogen adalah terbentuknya zona bening disekitar kertas saring.

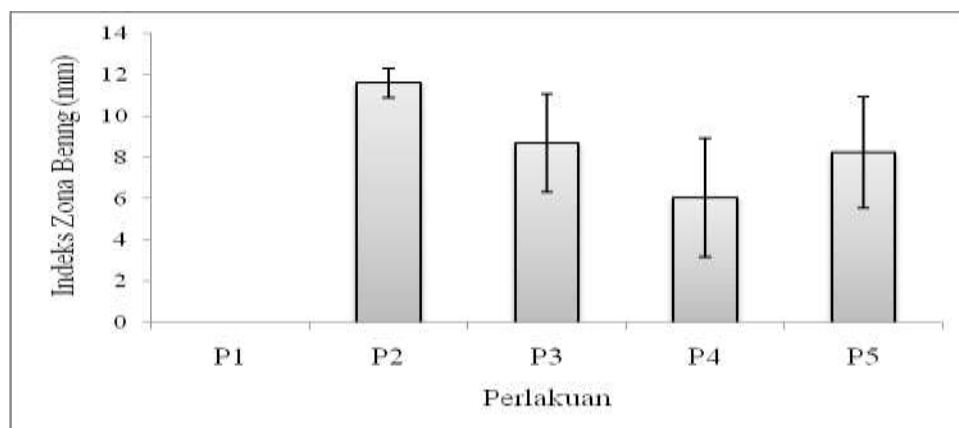
Berdasarkan hasil uji antagonisme pada cawan petri (Gambar 1) semua perlakuan memberikan pengaruh dalam menghambat perkembangan patogen *Fusarium oxysporum*. Pada perlakuan kontrol (P1) merupakan media PDA yang ditambahkan patogen jamur *Fusarium oxysporum*, tidak terlihat terdapat zona bening. Agens hayati bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. (P2 sampai P5) menunjukkan potensi menghambat pertumbuhan patogen *Fusarium oxysporum* dengan menghasilkan zona bening. *Bacillus* sp. strain BS 3, BS 4 dan *Pseudomonas* sp. strain PF 1 dan PF 3 dapat menghambat perkembangan *Fusarium oxysporum* berupa pembentukan zona bening yang nampak disekitar kertas saring (Gambar 2).

Agens hayati *B. subtilis* dan *P. fluorescens* pada aktivitasnya ditemukan berbagai macam mekanisme pengendalian seperti senyawa kimia antibiotik dan enzim bakteriolitik (Sood *et al.*, 2007).

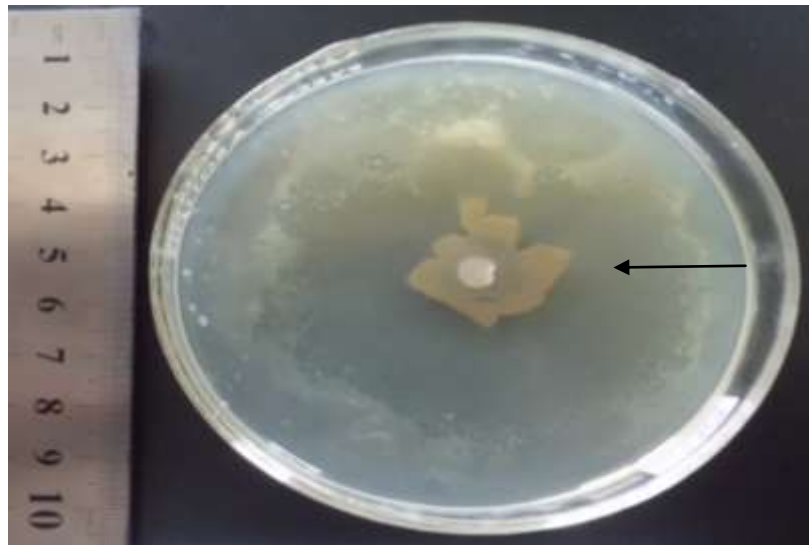
Senyawa antibiotik merupakan hasil dari

metabolisme sekunder bakteri. Menurut Supriadi (2006) bakteri agens hayati *B. subtilis* ini menghasilkan beberapa senyawa antibiotik seperti basitrasin, basilin, basilomisin B, difisidin, oksidifisidin, lesitinase, dan subtilisin.

Bakteri agens hayati *P. fluorescens* menghasilkan senyawa pyoluteorin dan pyrrolnitrin yang bersifat toksik terhadap patogen (Addy, 2007). Menurut Olivera *et al.* (2006) dengan kerusakan pada membran sel sehingga mengakibatkan penyusutan pada sel, sehingga sel bakteri *E. carotovora* akan kehilangan air dan mengalami plasmolisis. Hambatan tersebut dapat dilakukan dengan pengaruh senyawa antibiotik tersebut dalam untuk merusak dinding sel bakteri patogen. Sehingga aktifitas metabolisme bakteri patogen menjadi terganggu. Dengan demikian aktifitas metabolisme bakteri patogen terganggu dan menyebabkan sel bakteri patogen akan mati. Pengaruh senyawa antibiotik memiliki peran dalam proses sintesa protein sel. Sintesa protein sel dapat terhambat bila terkena senyawa antibiotik sehingga sel akan rusak dan tidak dapat melakukan sintesa protein.



Gambar 1. Hasil uji antagonisme pada cawan petri antara bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. dengan patogen *Fusarium oxysporum*. Error bars menunjukkan indikator standar deviasi



Gambar 2. Zona bening yang dihasilkan perlakuan ke-2 (bakteri *Bacillus* sp. strain BS 3). Panah menunjukkan diameter zona bening

**5.2 Tipe Antagonistik Agens Hayati *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap *F. oxysporum***

Salah satu cara untuk mengetahui tipe antibiosis dari bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap patogen *Fusarium oxysporum*. adalah dengan membiakkan bagian zona bening pada media agar disekitar kertas saring tersebut pada media *potato dextrose liquid* (PDL) cair kemudian digoyang-goyang dengan alat *orbital shaker* selama 24 jam (Djatkiko *et al.*, 2007). Setelah diinkubasi selama 24 jam pada media pepton cair, jika media pepton cair berubah menjadi

keruh maka tipe antibiosis yang dihasilkan adalah bersifat fungistatik, sedangkan apabila media *potato dextrose liquid* (PDL) tetap jernih maka tipe antibiosis yang dihasilkan bersifat fungisidal yang dapat disajikan pada Tabel 1. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tipe antibiosis dari *Bacillus* sp. strain BS 3 dan strain BS 4 adalah Fungisidal. Tipe antibiosis dari *Pseudomonas* sp. strain PF 1 dan PF 3 adalah fungistatik.

Tabel 1. Tipe antibiosis yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap patogen *Fusarium oxysporum*

Strain bakteri	Tipe antibiosis
<i>Bacillus</i> sp. strain BS 3	Fungisidal
<i>Bacillus</i> sp. strain BS 4	Fungisidal
<i>Pseudomonas</i> sp. strain PF 1	Fungistatik
<i>Pseudomonas</i> sp. strain PF 3	Fungistatik

Menurut Pankey dan Sabath (2004) tipe antibiosis bakteristatik memiliki pengertian bahwa senyawa yang dihasilkan oleh bakteri antagonis tersebut menghambat pertumbuhan bakteri lain khususnya bakteri patogen, seperti contoh senyawa tersebut

berusaha tetap menjaga agar pertumbuhan bakteri patogen berada dalam fase pertumbuhan stasioner. Sedangkan tipe antibiosis bakterisidal ialah bila sifat senyawa tersebut mampu membunuh bakteri patogen sehingga bakteri patogen tidak dapat tumbuh dan berkembang lagi.

Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Djatmiko *et al.* (2007) yang memanfaatkan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. sebagai agens pengendali hayati bakteri

patogen *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit Lincat, bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. mengendalikan patogen *Ralstonia solanacearum* dengan tipe antibiosis bakteriostatik.

## KESIMPULAN

1. Hasil uji antagonisme pada cawan petri isolat bakteri *Bacillus* sp. strain BS3 dan *Pseudomonas* sp. PF3 memberikan kemampuan penghambatan yang tertinggi terhadap patogen *Fusarium oxysporum*

2. Tipe antibiosis *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap patogen *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit Layu pada tanaman Tomat ialah bakterisidal dan bakteriostatik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H. S. (2007). Pengaruh Sumber Mineral Terhadap Penekanan *Erwinia carotovora* oleh *Pseudomonas* pendaur-fluor Secara In Vitro. Jurnal HPT Tropika. Volume 7. No. 2.
- Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology 5 Edition. Elsevier Academic Press. United State of America. Hal 616-686.
- Aini, L. Q. dan A. L. Abadi. (2004). Keragaman Bakteri Endofit dalam Jaringan Akar Tanaman Pisang serta Potensi Antagonistiknya terhadap Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Pisang. J. Ilmu-Ilmu Hayati. 16(2): 113-124.
- Cook, R. J. dan K. F. Baker. (1996). The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. The American Phytopathological Society Press. United State of America. 539 pp.
- Djarmiko, H. A., T. Arwiyanto, B. Hadisutrisno dan B. H. Sunarminto. (2007). Potensi Tiga Genus Bakteri dari Tiga Rizosfer Tanaman sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Lincat. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia. 9: 40-47.
- Habazar, T. dan Yaherwandi. 2006. Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan. Andalas University Press. Padang. p 100-137.
- Javandira, C. (2012). Pengendalian Penyakit Busuk Lunak Umbi Kentang (*Erwinia carotovora*) dengan Memanfaatkan Agens Hayati *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang. 52 hal.
- Kawaguchi, A., K. Inoue dan Y. Ichinose. (2008). Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. Journal Phytopathology. 98(11):1218-1225.
- Olivera, F. C., R. C. Geruza, S. M. Amanda, A.S. Andre, dan B. Adriano. (2006). Bacteriocin-Like Substance Inhibits Potato Soft Rot caused by *Erwinia carotovora*. Canadian Journal of Microbiology. 56 :533-539.
- Pankey, G. A. dan L. D. Sabath. (2004). Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. Clinical Infectious Diseases. 38 :864-870
- Rustati R, Soesanto L & Wachjadi M. (2004). Pengendalian *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *zingiberi* Trujillo pada Tanaman Jahe dengan Disinvestasi Tanah secara Hayati. Hal 259-267. Dalam: Soesanto L, eds. *Prosiding Symposium Nasional I tentang Fusarium*, Purwokerto, 26-27 Agustus 2004.
- Semangun H. (2000). *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.

- Sood, A., Shivesh S., K. Viviek dan L. T. Ram. (2007). Antagonism of Dominant Bacteria in Tea Rhizosphere of Indian Himalayan Regions. *Journal Appl. Science Environment Management*. Vol. 11. Edisi 4. Hal 63-66.
- Sugiyono, A., J. L Rosita dan A. S. Reysia. (2008). Karakterisasi Protease Bakteri Termofil Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah. *Jurnal Penelitian Perikanan*. 2 (2) : 156-162.
- Supriadi. (2006). Analisis Resiko Agens Hayati untuk Pengendalian Patogen Pada Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. 25(3):23-29.
- Untung, K. (1996). *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
-