

**“Membangun Sinergi antar Perguruan Tinggi dan Industri Pertanian dalam Rangka Implementasi Merdeka Belajar Kampus Merdeka”**

---

Uji Antagonis *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas Berfluorescens* Asal Rhizosfer Bambu, Rumput Gajah dan Putri Malu Untuk Menekan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Secara *In-Vitro*

Defa Yulia Irfanti<sup>1</sup>, Yusriadi Marsuni<sup>2</sup>, dan Elly Liestiany<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat

<sup>2</sup> Pengajar Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat

**Abstrak**

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* tergolong penyakit yang sulit dikendalikan maupun dimusnahkan karena mampu bertahan hidup di tanah cukup lama dengan penyebaran yang cepat melalui air, peralatan pertanian dan lainnya. Sehingga diperlukan cara-cara pengendalian yang ramah lingkungan dengan agens hayati berupa penggunaan antagonis yang berasal dari beberapa rhizosfer tanaman. Rhizosfer sangat banyak mengandung mikroorganisme yang berpotensi untuk menjadi agens antagonis dari pathogen tanaman. Tujuan penelitian untuk mengetahui bakteri *Bacillus* sp. dan *P. berfluorescens* dari rhizosfer bambu, rumput gajah dan putri malu yang memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *R. solanacearum*. Metode yang dilakukan dengan mengambil sample isolat pathogen dari tanaman tomat yang bergejala layu bakteri *R. solanacearum*, diambil dari lahan Kelompok Tani di Karang Anyar, sedangkan isolate agens antagonis diambil dari rhizosfer tanaman bambu, rumput gajah dan putri malu diambil di daerah Palam, Guntung Manggis, Banjarbaru. Rancangan penelitian menggunakan RAL dengan 7 (tujuh) perlakuan dan 4 (empat) ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan T<sub>1</sub> (*P. berfluorescens* bamboo) dan T<sub>2</sub> (*Bacillus* sp. Bamboo) berbeda nyata dalam menimbulkan zona hambat terhadap *R. solanacearum* sebesar 1.15 mm dan 0.64375 mm. Kesimpulan bahwa kemampuan *Pseudomonas berfluorescens* dan *Bacillus* sp. dari rhizosfer yang berbeda memiliki kemampuan menghambat yang tidak sama dengan zona hambat terlihat samar atau tipis.

Kata kunci : *Bacillus* sp., *R. solanacearum*, Rhizosfer, *Pseudomonas berfluorescens*

**Pendahuluan**

Bakteri *R. solanacearum* memiliki inang luas (Nasrun *et al.*, 2007) dengan ciri gejala layu meskipun daun masih hijau karena terhambatnya penyebaran air dan nutrisi, apabila pangkal batang dipotong terdapat warna coklat pada pembuluh xylem, dapat hidup tanpa ada

inang dan tersebar cepat melalui aliran air tanah serta tanaman mati dalam waktu cepat. Penyakit ini menyebabkan kehilangan hasil, penurunan berat basah dan kering produk akibat adanya infeksi bakteri patogen (Purnawati *et al.*, 2014).

Pengendalian hayati dilakukan dengan memanfaatkan mikroba di sekitar perakaran (Kloepper *et al.*, 1989) seperti *P. fluorescens* dan *Bacillus* sp. yang merupakan bakteri Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), mampu mengkolonisasi perakaran serta berperan sebagai agens antagonis (antibiosis, kompestisi ruang dan kebutuhan nutrisi) (Beneduzi *et al.*, 2012). Bakteri *Bacillus* sp. dan *P. fluorescens* merupakan bakteri yang sering digunakan sebagai agens hayati yang dapat ditemukan disekitar perakaran.

Pada beberapa penelitian diperoleh informasi bahwa dengan menggunakan mikroorganisme dari tanaman bambu, rumput gajah dan putri malu dapat sebagai bakteri antagonis terhadap penyakit tanaman, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas berfluorescens* dari rhizosfer yang berbeda, apakah mampu menekan *R. solanacearum*. Tujuan penelitian untuk mengetahui bakteri *Bacillus* sp. dan *P. berfluorescens* dari rhizosfer bambu, rumput gajah dan putri malu yang memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *R. solanacearum*.

## Metode Penelitian

Penelitian ini memakai metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 (tujuh) perlakuan dan 4 (empat) ulangan sehingga keseluruhan berjumlah 28 cawan petri. Tiap ulangan terdiri atas 2 satuan percobaan, perlakuan tersebut yaitu:

T<sub>0</sub> : *R. solanacearum*

T<sub>1</sub> : *R. solanacearum* + *Pseudomonas berfluorescens* bambu

T<sub>2</sub> : *R. solanacearum* + *Bacillus* sp. bambu

T<sub>3</sub> : *R. solanacearum* + *Pseudomonas berfluorescens* rumput gajah

T<sub>4</sub> : *R. solanacearum* + *Bacillus* sp. rumput gajah

T<sub>5</sub> : *R. solanacearum* + *Pseudomonas berfluorescens* putri malu

T<sub>6</sub> : *R. solanacearum* + *Bacillus* sp. putri malu

### A. Isolasi *R. solanacearum*

Isolat yang digunakan berasal dari tanaman tomat bergejala. Pangkal batang direndam dengan air steril hingga terlihat ose bakteri. Celupkan jarum ose steril kedalam air ose bakteri lalu goreskan pada media TZC. Inkubasi selama  $\pm$  24-48 jam dan murnikan. Pemurnian

dilakukan dengan mengambil koloni virulen untuk dipindah pada media TZC baru. Koloni murni *R. solanacearum* diuji lebih lanjut dengan melakukan uji sifat gram bakteri dengan KOH 3% dan menghasilkan gram negatif.

B. Isolasi *Pseudomonas berfluorescens* dari rhizosfer bambu, rumput gajah dan putri malu

Isolat *Pseudomonas berfluorescens* diambil dari masing-masing rhizosfer ditimbang sebanyak 10 g untuk dilakukan pengenceran hingga  $10^{-4}$ . Celupkan jarum ose steril dalam suspensi pengenceran  $10^{-4}$ , jarum tersebut digorekan pada King's B. Inkubasikan ( $\pm$  24-48 jam) dan murnikan. Pemurnian dilakukan dengan mengambil isolat *Pseudomonas berfluorescens* yang berpendar saat pengamatan menggunakan sinar uv, lalu dipindahkan pada media King's B baru. Koloni murni *Pseudomonas berfluorescens* uji sifat gram bakteri dengan KOH 3% dengan hasil pengujian berupa gram negatif.

C. Isolasi *Bacillus* sp. dari rhizosfer bambu, rumput gajah dan putri malu

Isolat *Bacillus* sp. diambil dari rhizosfer masing-masing bahan kemudian timbang sebanyak 10 g untuk dilakukan pengenceran sampai  $10^{-4}$ . Ambil pengenceran  $10^{-4}$  suspensi sebanyak 2 ml, panaskan ( $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama 30 menit, ambil sebanyak  $5 \times 10^{-2}$  ml sebarkan ke media NA. Inkubasi selama  $\pm$  24-48 jam dan murnikan. Pemurnian dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh, dapat dikatakan *Bacillus* sp. karena telah melalui pemanasan saat isolasi. Koloni murni *Bacillus* sp. diuji lebih lanjut dengan melakukan uji sifat gram bakteri dengan KOH 3% dengan hasil gram positif.

D. Uji antagonis terhadap *R. solanacearum*

Pengujian dilakukan dengan mengambil 0,05 ml suspensi *R. solanacearum* pada kerapatan  $10^7$ CFU/ml (Suryadi, 2009) untuk diinokulasikan pada media NA dengan metode spread. Lubangi bagian tengah media pada cawan petri menggunakan cork borer dengan diameter 5 mm (Surjowardojo *et al.*, 2016). Suspensi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas berfluorescens* sesuai perlakuan dengan kerapatan  $10^7$ CFU/ml dimasukkan kedalam sumuran. Amati setiap 12 jam sekali selama 72 jam (Suryadi, 2009).

E. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambat dari pertumbuhan *R. solanacearum* yang terjadi disekitar sumuran. Berdasarkan penelitian Suryadi (2009) zona hambat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Zona hambatan} : \frac{r_1+r_2}{2}$$

Keterangan : dimana r adalah jari-jari pada zona bening

r1 = terpanjang

r2 = terpendek

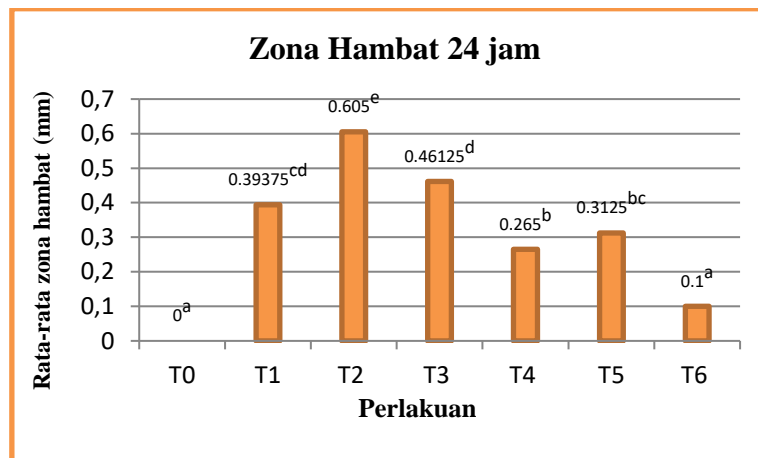
## Hasil dan Pembahasan

Hasil uji kehomogen dalam pengujian zona hambat menggunakan uji bartlett adalah homogen, dilanjutkan dengan analisis data (ANOVA) RAL 1 faktor menunjukkan bahwa *Pseudomonas berfluorescens* dan bakteri *Bacillus* sp. tidak signifikan terhadap *R. solanacearum*, hasil data tersebut dilanjutkan pengujian beda nyata jujur (BNJ) taraf 5 % menyatakan bahwa *Pseudomonas berfluorescens* dan bakteri *Bacillus* sp. dari tanaman bambu menghasilkan data yang signifikan terhadap *R. solanacearum*.

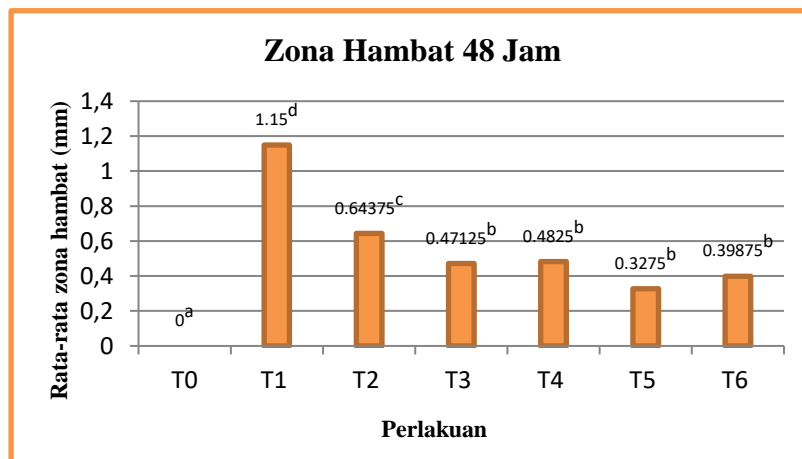
Hasil uji BNJ taraf 5 % pada pengamatan 24 jam (Gambar 1) T<sub>1</sub> sampai T<sub>5</sub> merupakan perlakuan yang signifikan terhadap T<sub>0</sub> dan T<sub>6</sub>, yaitu mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* namun zona yang dihasilkan samar. T<sub>3</sub> tidak signifikan dengan T<sub>1</sub>, T<sub>4</sub> dan T<sub>5</sub>. Pada pengamatan 48 jam dan 72 jam (gambar 2 dan 3) memiliki nilai zona hambat yang sama karena tidak terjadi peningkatan pertumbuhan bakteri agens. perlakuan T<sub>1</sub> tersebut merupakan perlakuan yang signifikan terhadap bakteri *R. solanacearum* yang artinya perlakuan tersebut mampu menghambat atau menekan bakteri *R. solanacearum* namun tidak terlalu besar zona hambat yang dihasilkan hanya terlihat samar, sedangkan perlakuan T<sub>3</sub> dan T<sub>5</sub> tidak signifikan terhadap bakteri *R. solanacearum* yang artinya perlakuan T<sub>3</sub> dan T<sub>5</sub> tidak dapat menekan atau menghambat bakteri *R. solanacearum*. Hal tersebut diduga karena bambu merupakan tanaman yang memiliki daya tumbuh baik pada berbagai jenis iklim, terdapat mikroorganisme pada rhizosfer maupun perakaran yang dapat mengkoloni perakarannya sehingga tahan terhadap patogen.

Hasil uji BNJ taraf 5% pada pengamatan 48 jam dan 72 jam (Gambar 2 dan 3) menyatakan bahwa perlakuan T<sub>2</sub> signifikan terhadap bakteri *R. solanacearum* dimana perlakuan tersebut dapat menghambat pertumbuhan ataupun menekan bakteri *R. solanacearum*, sama halnya dengan perlakuan T<sub>1</sub> bahwa zona hambat yang dihasilkan samar-samar. Sedangkan untuk perlakuan T<sub>4</sub> dan T<sub>6</sub> tidak signifikan terhadap bakteri *R. solanacearum* dimana perlakuan tersebut tidak dapat menekan atau menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*, diduga rhizosfer bambu memiliki banyak mikroorganisme menguntungkan dalam mencegah patogen maupun sebagai pemacu pertumbuhan. Begitu pula dengan bakteri rhizosfer rumput gajah dan putri malu juga

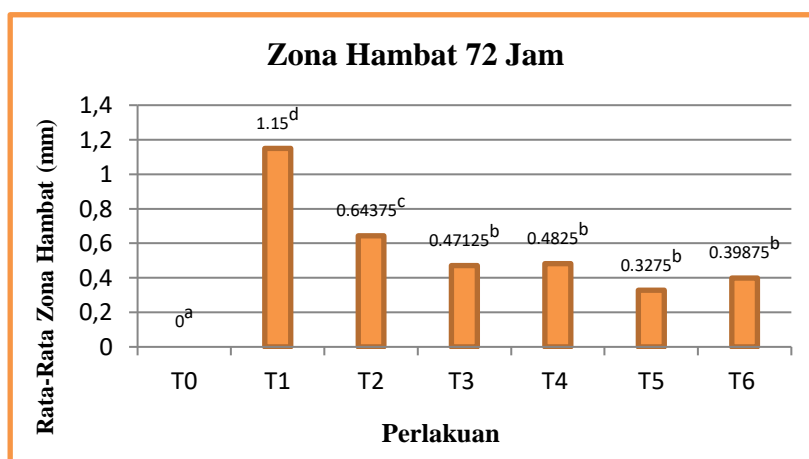
digunakan sebagai pemacu pertumbuhan meskipun setiap rhizosfer tanaman terdapat mikroorganismenya yang sejenis namun daya hambat yang dimiliki bakteri tersebut berbeda-beda (Butarbutar *et al.*, 2018).



Gambar 1. Zona hambat pengamatan 24 jam



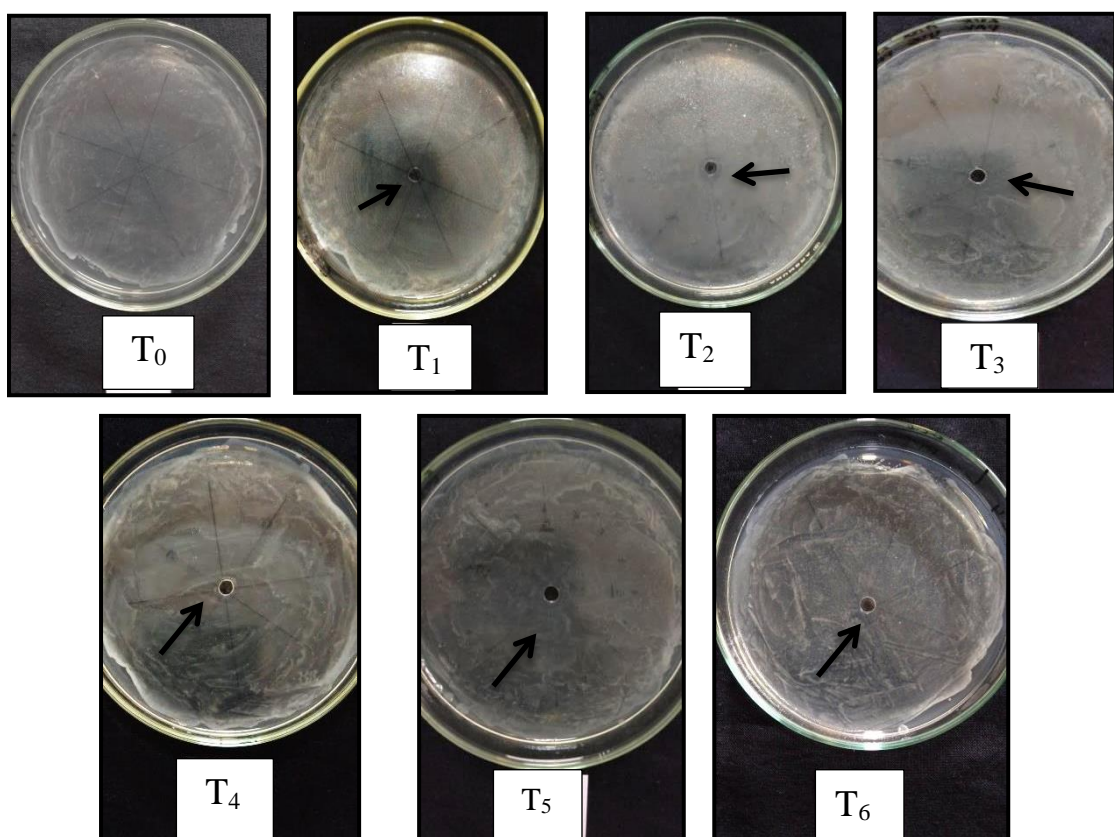
Gambar 2. Zona hambat pengamatan 48 jam



Gambar 3. Zona hambat pengamatan 72 jam

Mikroorganismenya memiliki fase pertumbuhan yang berbeda-beda terutama pada media pertumbuhan yang dipengaruhi oleh komposisi media itu sendiri ataupun saat nutrisi media

telah menipis (Prastika, 2018). Pada pengamatan 24 jam pertumbuhan bakteri masih sedikit dimana fase tersebut bakteri mulai beradaptasi yang disebut fase lag, kemudian pertumbuhan meningkat (baik bakteri agens antagonis maupun patogen dalam pengujian pertumbuhan) yang disebut fase logaritmik atau eksponensial sehingga pada fase ini dapat terlihat (samar) zona hambat antar agens antagonis dan bakteri patogen. Saat 48 jam, pertumbuhan bakteri masih bertambah namun tidak begitu tampak. Terlihat nilai zona hambat saat 48 jam dan 72 jam tidak mengalami kenaikan hal ini kemungkinan bakteri tersebut sudah berada pada fase stasioner dimana fase tersebut menunjukkan pertumbuhan bakteri tetap atau stabil sehingga nilai pengamatan zona hambat antara 48 jam dan 72 jam sama.



Gambar 4. (T<sub>0</sub>) Perlakuan kontrol, (T<sub>1</sub>) Perlakuan Rs + Pf bambu, (T<sub>2</sub>) Perlakuan Rs + Bc bambu, (T<sub>3</sub>) Perlakuan Rs + Pf rumput gajah, (T<sub>4</sub>) Perlakuan Rs + Bc rumput gajah, (T<sub>5</sub>) Perlakuan Rs + Pf putri malu, (T<sub>6</sub>) Perlakuan Rs + Bc putri malu

Perlakuan bakteri *R. solanacearum* yang ditambahkan bakteri *Pseudomonas berfluorescens* (T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub> dan T<sub>5</sub>) memperlihatkan adanya zona hambat dalam pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* disekitar lubang sumuran, zona hambat yang dihasilkan berupa zona bening yang memberikan jarak antara bakteri agens dengan bakteri patogen (Gambar 4). Zona bening terjadi karena bakteri *Pseudomonas berfluorescens* mampu menghasilkan zat

antibiotik melalui metabolit sekunder seperti siderofor, kitinase antibiotik dan sianida sehingga mampu menghambat atau menekan pertumbuhan bakteri patogen (Istiqomah dan Kusumawati, 2018). Pada perlakuan bakteri *R. solanacearum* ditambahkan bakteri *Bacillus* sp. (T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub>, dan T<sub>6</sub>) memperlihatkan adanya zona hambat disekitar lubang sumuran yang menghambat tumbuhnya *R. solanacearum* karena bakteri *Bacillus* sp. dapat mengeluarkan zat antibiotik melalui metabolit sekunder berupa surfactin, fengisin, iturin dan subtilosin A (Nagorska *et al.*, 2007). Namun samar-samar hambatan yang dihasilkan bakteri *Pseudomonas berfluorescens* dan bakteri *Bacillus* sp.

Tiap perlakuan mampu menghambat bakteri *R. solanacearum* namun perlakuan yang paling baik adalah perlakuan yang berasal dari rhizosfer bambu (T<sub>1</sub> dan T<sub>2</sub>) memberikan hasil yang signifikan dengan zona hambat yang sangat kecil / tipis / samar. Kecilnya nilai zona hambat yang dihasilkan diduga karena setiap rhizosfer memiliki tingkat kelembaban, suhu maupun pH tanah yang berbeda sebagai tempat kehidupan mikroorganisme dan tiap isolatnya menghasilkan senyawa antibiosis atau zat penghambat yang beragam sesuai dengan pernyataan Soesanto (2008) bahwa mikroba antagonis memiliki mekanisme penghambatan yang tidak sama antara satu dengan lainnya baik itu mikroba dari bahan organik maupun rhizosfer. Hasil penelitian Sukmawati (2013) menyatakan bahwa isolat BT5 (*Pseudomonas*) dari rhizosfer bambu menghasilkan daya hambat terbaik dibandingkan isolat lainnya terhadap pertumbuhan *R. solanacearum* dengan diameter lebih dari 3 cm dan terhadap pertumbuhan *Fusarium oxysporum* sebesar 80,68% secara *in vitro* serta bersifat antagonis dengan memproduksi toksin ataupun metabolik sekunder dalam menghambat patogen.

Menurut Ilyas (2001) dalam Walida *et al.* (2018) faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri yaitu lingkungan (biotik dan abiotik), makanan (media tumbuh) dan suhu (minimum, optimum dan maksimum). Kecilnya zona hambat dapat pula disebabkan oleh komposisi media yang digunakan. Media yang kaya nutrisi akan menjadikan agens tersebut tidak maksimal dalam penghambatan yang mempengaruhi munculnya senyawa antibiotik agens antagonis karena agens antagonis tidak dapat menghambat pada suatu media mungkin dapat menghambat pada jenis media lainnya (Nawangsih, 2006). Berdasarkan penelitian Moore *et al.* (2013) menerangkan bahwa 3 media (NZY agar, NA dan TSA) tidak menimbulkan zona hambat dari 4 media yang digunakan diduga kondisi dan komposisi media yang dipakai sehingga bakteri agens tidak mengeluarkan senyawa antibiosis dalam menghambat patogen.

Dalam hal ini bukan berarti agens antagonis tidak mampu menghambat secara *in vitro* namun mungkin bisa saja menghambat secara *in vivo* sesuai penelitian Hersanti *et al.* (2009)

memperlihatkan bahwa penyakit layu bakteri pada tanaman kentang dapat dikendalikan dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* secara *in vivo* tetapi menurut Supriadi (2011) pengaruh keberhasilannya masih berubah-ubah karena lemahnya teknologi pemulasi.

## Kesimpulan

Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas berfluorescens* dari masing-masing rhizosfer dapat menekan bakteri *R. solanacearum* dengan zona hambat yang sangat kecil (samar) dengan perlakuan T<sub>1</sub> dan T<sub>2</sub> merupakan perlakuan yang signifikan dalam menekan bakteri *R. solanacearum* dibandingkan perlakuan lainnya.

## Daftar Pustaka

- Butarbutar, R., Marwan, H., & Mulyati, S. (2018). Eksplorasi *Bacillus* spp. dari rizosfer tanaman karet (*Hevea Brasilliensis*) dan potensinya sebagai agens hayati jamur akar putih (*Rigidoporus* sp.). *Jurnal Agroecotania*, 1(2), 31-41.
- Beneduzi, A., Amborsini, A & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4), 1044–1051.
- Hersanti, Rupendi, R. T., Purnama, A., Hanudin, Marwoto, B. & Gunawan, O. S. (2009). Penapisan beberapa isolat *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. *Jurnal Agrikultura*, 20(3), 198-2003.
- Ilyas, S. (2001). Mikrobiologi Dasar. Diklat Kompilasi. Universitas Sumatera Utara Press. Medan. Dalam Walida, H.,Siregar, A. A. dan Prawanda, A. 2018. Isolasi bakteri dari rendaman akar bambu dan respon pemberiannya terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman terung ungu (*Solanum melongena* L.). *Jurnal Agroplasma (STIPER) Labuhanbatu*, 5(1), 1-9.
- Istiqomah & Kusumawati, D. E. (2018). Pemanfaatan *Bacillus subtilis* Dan *Pseudomonas fluorescens* dalam pengendalian hayati *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tomat. *Jurnal Agro*, 5(1), 1–12.
- Kloepper, J. W., Lifshitz, R. & Zablutowicz, R. M. 1989. Freelifving bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnol.*, 7(2), 39–43.
- Nagorska, K., Bikowski, M. & Obuchowski, M. (2007). Multicelluler behaviour and production of wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica*, 54, 495–508.
- Nasrun, Christanti, Arwiyanto, T. & Ika, M. (2007). Karakteristik fisiologis *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam. *Jurnal Litri*, 13(2), 43-48.



- Nawangsih, A. A. (2006). Seleksi dan karakteristik bakteri biokontrol untuk mengendalikan penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tomat. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Moore, T., Globa, L., Barbaree, J., Vodyanoy, V. & Sorokulova, I. (2013). Antagonistic activity of *Bacillus* bacteria against food-borne pathogens. *Journal of Probbiotics & Health*, 1(3), 110.
- Purnawati, A., Sastrahidayat, I. R., Abadi, A. L. & Hadiastono, T. (2014). Endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease. *The Journal of Tropical Life Science*, 4(1), 33-36.
- Prastika, E. Z. (2018). Pengaruh konsentrasi substrat dan lama waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim protease yang diproduksi oleh *Bacillus subtilis*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Soesanto, L. (2008). Pengantar pengendalian hayati penyakit tanaman. In PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Sukmawati, S. (2013). Keragaman bakteri dari beberapa jenis rizosfer dan bahan organik serta efektifitasnya terhadap patogen penyebab penyakit layu pada kentang secara *In Vitro*. Tesis. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Supriadi. (2011). Penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*): Dampak, bioekologi dan peranan teknologi pengendaliannya. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*, 4(4), 279-293.
- Surjowardojo, P., Tri, E. S. & Vasco, B. (2016). Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah. *Jurnal Ternak Tropika*, 7(1), 11-21.
- Suryadi, Y. (2009). Efektivitas *Pseudomonas fluorescens* terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia Solanacearum*) pada tanaman kacang tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB-Biogen). *Jurnal HPT Tropika.*, 9(2), 174-180.