

**POPULASI BAKTERI ANTAGONISTIK TERHADAP *FUSARIUM* SP.
DARI RIZOSFER LADA SEHAT DAN SAKIT KUNING**

**POPULATION OF *FUSARIUM*-ANTAGONISTIC BACTERIA
FROM RHIZOSPHERE OF HEALTHY AND YELLOW DISEASED BLACK PEPPER**

Suwandi, Abdul Mazid dan Surahman
Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Palembang
E-mail: suwandi.saleh@telkom.net

ABSTRACT

*Populations of antagonistic bacteria colonizing rhizosphere of diseased and healthy black pepper plants were compared to explore the biocontrol function of these populations on yellow disease of black pepper. As many as 180 isolates (equivalent to population of 1.8×10^{10} cfu/g fresh weight of root) were randomly selected and tested for their antagonistic activities against *Fusarium* sp., a pathogen of yellow disease. To characterize the populations, the isolates were tested for their fluorescent and Gram reaction. There was an evidence of significant association between antagonistic activities and the disease incidence. We found the significant larger proportion of antagonistic bacteria from the rhizosphere of healthy black pepper, whereas no significant difference between proportion of antagonistic and non-antagonistic population from yellow disease-affected rhizosphere. Populations of antagonistic bacteria were dominated by the population of non-fluorescent Gram-negative. Most of the fluorescent populations were antagonistic to *Fusarium* sp.*

Key words: biocontrol, rhizobacteria, yellow disease

INTISARI

Studi komparatif populasi bakteri antagonistik dari rizosfer lada sehat dan lada sakit kuning dilakukan untuk menelaah fungsi biokontrol populasi ini terhadap penyakit kuning. Sebanyak 180 isolat (setara dengan populasi $1,8 \times 10^{10}$ cfu/g berat segar akar) dipilih secara acak dari populasi bakteri rizosfer lada dan diuji aktivitas antagonistiknya terhadap *Fusarium* sp., jamur patogen penyakit kuning lada. Uji fluoresensi dan Gram dilakukan untuk mengkarakterisasi populasi bakteri. Pada penelitian ini ditemukan asosiasi signifikan antara populasi bakteri antagonistik dengan kesehatan tanaman tempat bakteri diisolasi. Pada rizosfer lada sehat ditemukan lebih besar proporsi bakteri antagonistik sedangkan pada rizosfer lada sakit kuning tidak ditemukan perbedaan signifikan antara proporsi bakteri antagonistik dan non-antagonistik. Populasi bakteri antagonistik terhadap *Fusarium* sp. didominasi oleh bakteri Gram negatif non-fluoresen. Sebagian besar bakteri fluoresen bersifat antagonistik terhadap *Fusarium* sp.

Kata kunci: biokontrol, rizobakteri, penyakit kuning lada

PENGANTAR

Penyakit yang disebabkan patogen bawaan tanah merupakan kendala utama budidaya lada di daerah sentra produksi lada Indonesia seperti Bangka, Lampung dan Kalimantan Barat. Salah satu patogen penting tanaman lada adalah jamur dari genus *Fusarium* yang menyebabkan

penyakit kuning baik melalui interaksinya dengan nematoda *Radopholus similis* dan *Meloidogyne* spp. (Mustika, 1992; 1996) maupun akibat infeksi tunggal jamur ini (Suwandi *et al.*, 2000). Penyakit kuning diketahui telah menyerang dan menimbulkan kerugian pada sebagian besar pertanaman lada di Bangka terutama pada lahan-lahan yang pernah ditanami lada.

Biokontrol (pengendalian hayati) melalui eksploitasi mikroorganisme rizosfer merupakan strategi penting dalam pengelolaan penyakit yang disebabkan oleh *Fusarium* spp. (Alabouvette *et al.*, 1996). Bakteri rizosfer (rizobakteri) yang merupakan komponen utama komunitas rizosfer relatif belum dikaji fungsi biokontrolnya terhadap *Fusarium* patogenik lada. Salah satu pendekatan dalam menelaah fungsi biokontrol tersebut adalah dengan mengkaji aktivitas antagonistik bakteri dari rizosfer tempat berlangsungnya sistem biokontrol alami (Linderman *et al.*, 1983). Pada penelitian ini dikaji kemampuan antagonistik populasi bakteri dari rizosfer lada sehat dan lada sakit kuning. Proporsi relatif populasi bakteri antagonis pada rizosfer lada sehat dibandingkan lada sakit kuning akan menggambarkan peranannya dalam sistem biokontrol alami.

BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan penelitian. Penelitian yang meliputi isolasi, pembiakan, uji antagonistik, uji floresensi dan uji Gram dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitopatologi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada bulan Nopember 1999–Nopember 2000.

Rizosfer contoh. Kebun lada yang dikaji populasi bakterinya dipilih dari satu kebun lada seluas 0,5 ha umur 2 tahun varietas Lampung Daun Lebar yang terserang penyakit kuning di Desa Petaling, Kecamatan Mendo Barat, Bangka. Pada kebun tersebut dipilih secara acak 3 pasangan tanaman lada sakit kuning intensitas sedang dan tanaman subur dan sehat yang masing-masing tumbuh bersebelahan. Akar tanaman contoh berikut tanahnya sampai kedalaman 10 cm diambil pada bulan Desember 1999 dan disimpan dalam kondisi dingin serta diisolasi

komunitas bakterinya dalam waktu kurang dari 72 jam.

Isolasi bakteri. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran berseri 0,1 g potongan akar berikut tanah yang menempel. Potongan akar dimasukkan ke dalam 1 ml 0,01 M $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dalam tabung *Eppendorf* lalu dikocok 5 kali dengan vortex selama 20 detik dengan interval 30 detik untuk membebaskan bakteri rizosfer. Selanjutnya 100 μ l suspensi disebarkan merata pada media 1/10 *Tryptic Soy Agar* (TSA) *Difco*[®] ditambahkan 50 mg/l nisatin dan 10 mg/l benomil. Setelah 72 jam inkubasi pada suhu 28°C total populasi ditentukan berdasarkan cfu/g akar (berat basah). Selanjutnya, dari setiap populasi yang mewakili bakteri rizosfer tanaman contoh dipilih secara acak 30 isolat contoh. Setiap isolat contoh adalah setara dengan populasi bakteri rizosfer lada 1×10^8 cfu/g berat basah akar. Isolat dimurnikan dan disimpan di dalam agar miring TSA pada suhu 4°C sampai digunakan.

Jamur uji. *Fusarium* sp. yang digunakan pada penelitian ini diisolasi dari akar tanaman lada sakit kuning di Bangka dan secara konsisten menimbulkan gejala penyakit kuning pada bibit lada setelah 2 bulan diinokulasi (Suwandi *et al.*, 2000). Jamur dibiakkan pada media GYEA (komposisi setiap liter: 10 g glukosa, 5 g *yeast extract*, dan agar 20 g).

Pengujian antagonistik. Kemampuan antagonistik bakteri contoh terhadap *Fusarium* sp. diuji secara *in vitro* pada media GYEA dengan membiakkan koloni bakteri pada jarak 2 cm dari sisi koloni jamur umur 3 hari. Pengujian dilakukan dengan 4 ulangan. Zona hambatan koloni jamur yang berhadapan dengan koloni bakteri diukur setelah 4 hari penjajaran dan dikelompokkan ke dalam 4 kisaran lebar

zona hambatan, yaitu tanpa zona hambatan, zona hambatan < 2 mm, zona 2–5 mm, dan zona > 5 mm. Bakteri contoh yang tidak mengakibatkan zona hambatan pada koloni *Fusarium* sp. digolongkan sebagai bakteri non-antagonistik.

Karakteristik populasi bakteri. Karakteristik bakteri contoh yang diamati adalah fluoresensi dan reaksi Gram. Fluoresensi diamati berdasarkan fluoresensi koloni atau pigmen yang dihasilkan bakteri pada media King B Merck® di bawah sinar ultra violet. Reaksi Gram diuji berdasarkan pembentukan gel atau lendir pada koloni yang ditambahkan KOH 3%.

Analisis statistik. Data nisbah frekuensi isolat untuk masing-masing faktor dianalisis dengan uji nisbah tetap χ^2 dengan Minitab versi 11. Asosiasi antar faktor dianalisis dengan uji kebebasan/asosiasi tabel kontigensi pada *proc freq SAS/STAT* dengan SAS versi 6.12.

HASIL

Populasi bakteri. Penaksiran total populasi bakteri aerob dari rizosfer contoh menunjukkan bahwa populasi dari rizosfer lada sehat dan penyakit kuning tidak berbeda nyata ($P > 0,05$ berdasarkan uji *T* dengan *PROC TTEST SAS-STAT* dari data logaritma spk). Total populasi bakteri rizosfer lada sehat dan sakit kuning secara berturut-turut adalah $4,37-4,90 \times 10^9$ (rata-rata $4,70 \times 10^9$) dan $3,37-4,40 \times 10^9$ spk/g akar (rata-rata $3,68 \times 10^9$).

Pengujian antagonistik. Pada penelitian ini ditemukan 77 dari total 180 isolat contoh tidak menimbulkan zona hambatan (non-antagonistik) pada koloni *Fusarium* sp. Sebagian dari bakteri non-antagonistik tersebut dapat menghentikan pertumbuhan jamur uji selama 1–2 hari sejak koloni kontak. Namun, setelah masa tersebut miselia udara *Fusarium* sp. tumbuh menyelimuti koloni bakteri. Populasi bakteri non-antagonistik ini ditemukan lebih dominan ($P \leq 0,05$) pada rizosfir lada sakit kuning (Gambar 1 dan Tabel 1).

Sebagian besar isolat contoh (103 dari 180 bakteri contoh) bersifat antagonistik terhadap jamur uji dengan membentuk zona hambatan. Pembentukan zona hambatan terjadi sesaat setelah terjadi kontak pada bakteri dengan zona < 2 mm dan sebelum terjadi kontak pada bakteri dengan zona > 2 mm. Untuk setiap kelompok kisaran lebar zona hambatan, ditemukan lebih banyak bakteri-bakteri antagonistik dari rizosfer lada sehat dibandingkan pada rizosfer lada sakit kuning (Gambar 1). Berdasarkan uji kebebasan/asosiasi χ^2 ditemukan asosiasi signifikan antara frekuensi aksi antagonistik dengan kondisi kesehatan tanaman asal bakteri tersebut (Tabel 1). Asosiasi ini terjadi karena adanya dominasi signifikan populasi bakteri antagonistik dari rizosfer lada sehat ($P \leq 0,05$), sedangkan pada isolat dari lada sakit kuning dominasi ini tidak ditemukan ($P > 0,05$).



Gambar 1. Kemampuan antagonistik bakteri rizosfer lada terhadap *Fusarium* sp. secara *in vitro*

Tabel 1. Distribusi sifat antagonistik *in vitro* populasi bakteri dari rizosfer lada sehat dan sakit kuning terhadap *Fusarium* sp.

Antagonistik terhadap <i>Fusarium</i> sp.	Jumlah isolat contoh ¹⁾		Peluang statistik ²⁾	
	Rizosfer lada sehat	Rizosfer lada sakit kuning	P nisbah tetap χ^2	P asosiasi χ^2
Antagonistik	59	44	0,139	0,024*
Non-antagonistik	31	46	0,087	
P nisbah tetap χ^2	0,003*	0,833		

Keterangan: ¹⁾ Total jumlah isolat dari masing-masing 3 rizosfer contoh. Setiap isolat setara dengan populasi 1×10^8 /g berat segar akar.

²⁾ Nilai P nisbah tetap χ^2 mewakili uji proporsi masing-masing jumlah isolat untuk setiap kolom atau baris yang ditempatinya.

* Signifikan pada taraf uji 5% atau $P \leq 0,05$.

Karakteristik populasi bakteri. Peranan karakteristik fluoresensi dan reaksi Gram dalam pencandraan bakteri potensial dalam biokontrol *Fusarium* sp. patogenik tanaman lada ditelaah melalui distribusi karakteristik ini pada populasi antagonistik dan non-antagonistik terhadap *Fusarium* sp. Pada penelitian ini ditemukan asosiasi signifikan (P asosiasi $\chi^2 \leq 0,05$) antara distribusi karakteristik fluoresensi dan faktor antagonistik (Tabel 2). Asosiasi ini terjadi terutama karena populasi bakteri fluoresen yang antagonistik ditemukan lebih tinggi dibandingkan bakteri fluoresen

yang non-antagonistik. Pada populasi bakteri non-fluoresen tidak ditemukan dominasi signifikan populasi yang bersifat antagonistik terhadap non-antagonistik.

Pada penelitian ini tidak ditemukan asosiasi signifikan antara reaksi Gram dengan faktor antagonistik karena proporsi bakteri Gram negatif lebih dominan dari Gram positif baik pada populasi antagonistik maupun pada non-antagonistik (Tabel 2). Semua isolat fluoresen dari penelitian ini menunjukkan reaksi Gram negatif.

Tabel 2. Distribusi karakteristik fluoresensi dan reaksi Gram populasi bakteri rizosfer lada berdasarkan sifat antagonistiknya terhadap *Fusarium* sp.

Karakteristik	Jumlah isolat ¹⁾		Peluang statistik ²⁾	
	Antagonistik	Non-antagonistik	P _{nisbah tetap} χ^2	P _{asosiasi} χ^2
Fluoresensi				
Fluoresen	29	10	0,002*	0,015*
Non-fluoresen	74	67	0,555	
P _{nisbah tetap} χ^2	0,001*	0,000*		
Reaksi Gram				
Gram negatif	83	63	0,098	0,918
Gram positif	19	15	0,493	
P _{nisbah tetap} χ^2	0,000*	0,000*		

Keterangan: ¹⁾ Total jumlah isolat dari masing-masing 3 rizosfer contoh. Setiap isolat setara dengan populasi 1×10^8 /g berat segar akar.

²⁾ Nilai P_{nisbah tetap} χ^2 mewakili uji proporsi masing-masing jumlah isolat untuk setiap kolom atau baris yang ditempatinya.

* Signifikan pada taraf uji 5% atau $P \leq 0,05$.

PEMBAHASAN

Dari penelitian ini diketahui bahwa tidak ditemukan perbedaan signifikan antara total populasi bakteri pada rizosfer lada sehat dan sakit kuning. Perbedaan ditemukan pada komposisi populasi bakteri antagonistik terhadap *Fusarium* sp. Pada rizosfer tanaman lada sehat ditemukan lebih dominan populasi bakteri antagonistik sedangkan pada rizosfer lada sakit kuning nisbah bakteri antagonistik dan non-antagonistik sebanding. Kondisi ini merupakan petunjuk bahwa rizosfer lada sehat relatif lebih sesuai untuk kelimpahan populasi bakteri antagonistik. Jika diasumsikan bahwa kebanyakan rizosfer lada sehat dikolonisasi lebih banyak bakteri antagonistik, dapat diduga rendahnya populasi antagonistik pada lada sakit kuning adalah akibat perubahan struktur komunitas atau transformasi komunitas bakteri. Apakah transformasi merugikan ini terjadi akibat seleksi perakaran dan faktor tanah terhadap populasi bakteri ataukah akibat aktivitas patogen kompleks penyakit kuning, perlu penelaahan lebih lanjut.

Beberapa faktor yang diketahui menyeleksi komposisi populasi bakteri rizosfer antagonis adalah jenis tanah dan tanaman (Latour *et al.*, 1996) serta populasi patogen (Rengel *et al.*, 1996; Barnett *et al.*, 1997). Peranan populasi bakteri antagonis dalam biokontrol alami penyakit kompleks (*replant disease*) pada tanaman apel telah dikemukakan oleh Mazzola (1999). Dari kajian tersebut diketahui bahwa semakin kerap suatu lahan ditanami, semakin kondusif tanah tersebut terhadap *replant disease* yang ditunjukkan oleh meningkatnya populasi jamur patogen dan menurunnya populasi bakteri antagonis, *Burkholderia cepacia* dan *Pseudomonas putida*. Kondisi seperti ini juga diduga terjadi pada lahan pertanaman lada, di mana penyakit kuning umum dijumpai pada lahan yang pernah ditanami lada.

Proporsi populasi bakteri antagonistik non-fluoresen lebih tinggi daripada yang fluoresen. Hasil ini merupakan petunjuk bahwa fluoresensi bukanlah satu-satunya indikator bagi bakteri potensial untuk biokontrol *Fusarium* sp. Hal ini berbeda dengan kebanyakan hasil penelitian yang menonjolkan fungsi biokontrol bakteri

fluoresen sebagai komponen komunitas rizosfer supresif *Fusarium* spp. (Scher & Baker, 1980; Alabouvette *et al.*, 1996). Namun demikian, bakteri fluoresen tetap potensial dalam biokontrol *Fusarium* sp. karena proporsi bakteri fluoresen yang antagonistik lebih tinggi dibandingkan bakteri fluoresen yang non-antagonistik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Proyek DUE-Like Program Studi HPT Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alabouvette, C., P. Lemanceau & C. Steinberg. 1996. Biological Control of *Fusarium* Wilts: Opportunities for Developing A Commercial Product, p. 192-212. In Hall, R. (ed.), *Principles and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens*. APS Press, Minnesota.
- Barnett, S., I. Singleton & M. Ryder. 1997. Diseased Root Lesions Caused by Ggt Select for An Altered Bacterial Community. *Proceed. of the Fourth Intl. Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Japan-OECD Joint Workshop, Sapporo, Japan, October 5-10*, p. 446-448.
- Latour, X., T. Corberand, G. Laguerre, F. Allard & P. Lemanceau. 1996. The Composition of Fluorescent Pseudomonad Population Associated with Roots is Influenced by Plant and Soil Type. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2449-2456.
- Linderman, R.G., L.W. Moore, K.F. Baker & D.A. Cooksey. 1983. Strategies for Detecting and Characterizing Systems for Biological Control of Soilborne Plant Pathogens. *Plant Dis.* 67: 1058-1064.
- Mazzola, M. 1999. Transformation of Soil Microbial Community Structure and *Rhizoctonia*-Suppressive Potential in Response to Apple Roots. *Phytopathology* 89: 920-927.
- Mustika, I. 1992. Interactions of *Radopholus similis* with *Fusarium solani* on Black Pepper (*Piper nigrum* L.). *Indust. Crops Res. J.* 5 (1): 1-10.
- Mustika, I. 1996. Penyakit Kuning Lada dan Upaya Pengendaliannya, p. 130-141. Dalam Wahid, P.W, D. Soetopo, R. Zaubin, I. Mustika & N. Nurdjannah (eds.), *Monograf Tanaman Lada*. Balitro, Bogor.
- Rengel, Z., R. Gutteridge, P. Hirsch & D. Hornby. 1996. Plant Genotype, Micronutrient Fertilization and Take-All Infection Influence Bacterial Populations in the Rhizosphere of Wheat. *Plant and Soil* 183: 269-277.
- Scher, F.M. & R. Baker. 1980. Mechanism of Biological Control in *Fusarium*-Suppressive Soil. *Phytopathology* 70: 412-417.
- Suwandi, S. Djuman, A. Mazid & A. Salim. 2000. *Studi Fungsi Diversitas Fungi dan Bakteri Rizofir Lada Sehat dan Sakit kuning*. Laporan Penelitian DUE-Like Universitas Sriwijaya. (Tidak dipublikasikan).