

**EKSPLORASI BAKTERI YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
Fusarium solani DAN *Meloidogyne incognita* PADA LADA**

***EXPLORATION OF BACTERIA AS BIOLOGICAL CONTROL AGENTS OF
Fusarium solani AND *Meloidogyne incognita* ON PEPPER***

Citra Mayang Wardhika, Suryanti*, & Tri Joko

*Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281*

**Penulis untuk korespondensi. E-mail: suryanti@faperta.ugm.ac.id*

ABSTRACT

*Indonesia is major producer of black pepper (*Piper nigrum* L.), however the pepper production has been decreasing in the last decades. Black pepper yellowings caused by *Fusarium solani* and *Meloidogyne incognita* is one of the most important disease on pepper causing the decrease of pepper production. This research was aimed at the selection of potential bacteria as a biological control agents of *F. solani* and *M. incognita* on black pepper. The bacteria were isolated from rhizospheric soil of healthy plant. To determine the ability of biological agents, they were tested against *F. solani* and *M. incognita*. Seven isolates fluorescent pseudomonads, 19 isolates of *Bacillus* spp. and 21 bacterial isolates which were yet to be identified were isolated from soil rhizosphere. The results show that there are 5 antagonist bacterial isolates which were able to inhibit the growth of *F. solani* but so far no bacteria that caused cell lysis to *M. incognita* larvae was found.*

Key words: biological control, Fusarium solani, Meloidogyne incognita, rhizosfer bacteria

INTISARI

Indonesia merupakan negara produsen lada yang pada beberapa waktu terakhir ini telah mengalami penurunan produksi. Penyakit kuning yang disebabkan oleh *Fusarium solani* dan *Meloidogyne incognita* merupakan salah satu penyebab terjadinya penurunan tersebut. Penelitian bertujuan untuk menyeleksi bakteri yang berpotensi sebagai pengendali hayati *Fusarium solani* dan *Meloidogyne incognita* pada lada. Isolasi bakteri dilakukan dari tanah rizosfer pertanaman lada sehat dan selanjutnya untuk mengetahui kemampuan agens hayati dilakukan uji antagonis terhadap *F. solani* dan *M. incognita*. Hasil isolasi dari rizosfer pertanaman didapatkan 7 isolat bakteri kelompok Pseudomonad fluoresen, 19 isolat bakteri *Bacillus* spp. dan 21 isolat bakteri yang belum diidentifikasi lebih lanjut. Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa ada 5 isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *F. solani* namun belum ditemukan adanya bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *M. incognita*.

Kata kunci: bakteri rizosfer, *Fusarium solani*, *Meloidogyne incognita*, pengendalian hayati

PENGANTAR

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu jenis rempah yang paling penting di antara rempah-rempah lainnya, baik ditinjau dari segi perannya dalam menyumbangkan devisa negara maupun dari segi kegunaannya yang sangat khas dan tidak dapat digantikan dengan rempah lainnya. Indonesia pernah menjadi negara produsen lada terbesar dan berperan dalam pemenuhan kebutuhan lada di pasar internasional. Menurut laporan IPC pada tahun 2013, Indonesia memberikan sumbangan produksi lada dunia sebesar 22%, dan menempati urutan ke dua setelah Vietnam yaitu sebesar 31% (Anonim, 2013).

Salah satu kendala dalam budidaya lada adalah adanya gangguan penyakit tumbuhan. Beberapa penyakit yang sudah dilaporkan dan dianggap sangat merugikan adalah penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici*, penyakit

kerdil yang disebabkan oleh virus, dan penyakit kuning. Penyakit busuk batang dan penyakit kerdil telah ditemukan hampir di semua pertanaman lada, sedangkan penyakit kuning hanya dilaporkan di Bangka dan Kalimantan Barat. Direktorat Jenderal Perkebunan melaporkan, kehilangan hasil akibat penyakit kuning di Bangka dan Kalimantan Barat pada akhir tahun 2007 mencapai Rp 12 miliar (Manohara & Wahyuno, 2009).

Untuk mengantisipasi hal tersebut, perlu adanya upaya pengendalian terhadap penyakit kuning pada lada, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai agens-agens pengendalian, khususnya agens hayati yang mampu mengendalikan penyebab penyakit kuning pada lada. Beberapa bakteri yang telah dilaporkan berpotensi untuk dikembangkan sebagai agensia hayati adalah bakteri dari kelompok Pseudomonad dan *Bacillus*. Bakteri-bakteri antagonis biasanya mengeluarkan

zat antibiotik yang dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan suatu jenis patogen. *Pseudomonad* yang termasuk dalam kelompok fluoresen merupakan bakteri pengkoloni akar yang agresif dan efektif. Bakteri ini mampu memproduksi hormon pertumbuhan tanaman, dan berfungsi sebagai agens pengendali hayati melalui mekanisme kompetisi dan induksi ketahanan tanaman (Haas & Defago, 2005). *Bacillus* spp. mampu berperan sebagai agens hayati patogen tumbuhan melalui mekanisme antibiosis dengan menghasilkan senyawa penghambat (senyawa antimikrobia) di antaranya antibiotik, peptida, senyawa fenol dan enzim, alkaloid, dan siderofor (Haggag & Mohamed, 2007). *Bacillus* spp. juga mampu berperan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang mampu memacu pertumbuhan tanaman dan sebagai penginduksi ketahanan sistemik, dengan mekanisme menghasilkan fitohormon, siderofor dan sebagai pelarut fosfat (Chaudhory & Johri, 2008).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Klinik, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Isolasi Bakteri dari Sampel Tanah

Isolasi dilakukan baik dari sampel tanaman sakit maupun sampel tanah di sekitar rizosfer tanaman lada sehat. Untuk keperluan isolasi tanah dilakukan seri pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} diambil 0,1 ml kemudian ditumbuhkan pada medium PDA. Inkubasi dilakukan selama 2 hari. Bakteri yang tumbuh dimurnikan dan ditumbuhkan pada medium SPA (*Sucrose Peptone Agar*).

Isolasi Pseudomonad fluoresen

Sebanyak 10 gram sampel tanah rizosfer beserta akar lada dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 90 ml 0,1 M bufer fosfat pH 7,0 + 0,1% pepton, kemudian digojok selama 30 menit, dan didiamkan selama 10 menit. Isolasi dilakukan dengan membuat seri pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} , dan 0,1 ml suspensi ditumbuhkan pada medium King's B selama 48 jam pada suhu 30°C, koloni tunggal yang berpendar diambil dengan tusuk gigi steril dan ditumbuhkan pada cawan petri berisi medium King's. Bakteri kemudian diinkubasikan lagi selama 24 jam pada suhu 30°C (Naik *et al.*, 2008)

Isolasi Bacillus spp.

Sebanyak 10 gram sampel tanah rizosfer beserta akar lada dipanaskan dalam oven pengering pada suhu 80 °C selama satu jam. Setelah dingin, sampel tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml

yang berisi 90 ml 0,1 M bufer fosfat pH 7,0 + 0,1% pepton, dan digojok selama 30 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit kemudian dilakukan seri pengenceran per sepuluh kali dengan bufer yang sama. Pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} diambil 0,1 ml kemudian ditumbuhkan pada medium NA. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 30°C, koloni tunggal yang tumbuh diuji sifat Gram-nya dengan KOH 3%. Koloni bakteri Gram positif ditumbuhkan pada cawan petri berisi medium yang sama dan diinkubasikan lagi selama 24 jam pada suhu 30 °C (Cazorla *et al.*, 2007).

Uji Antagonis Bakteri terhadap Fusarium sp.

Medium pertumbuhan bakteri (SPA, King's B dan NA) disiapkan pada cawan petri, kemudian di atasnya ditambahkan dengan medium agar air (AA) 0,5% yang telah disuspensi dengan spora jamur *Fusarium* spp. Setelah medium AA bersuspensi spora *Fusarium* spp. memadat, bakteri yang akan diuji ditumbuhkan di atas permukaan suspensi jamur dan diinkubasikan selama 2–3 hari. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan zona penghambatan pada biakan bakteri.

Uji Antagonis Bakteri terhadap Meloidogyne incognita

Uji parasitasi terhadap larva nematoda stadium 2 (L2) dilakukan dengan menggunakan *multiwell plate* yang diisi dengan 0,5 ml suspensi nematoda L2 sebanyak 10 ekor, kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri sebanyak 200 µl. Inkubasi dilakukan selama 1 minggu dan diamati setiap hari untuk mengetahui adanya nematoda L2 yang terinfeksi oleh bakteri ditandai dengan kematian nematoda atau lisisnya dinding sel nematoda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi Bakteri dari Rizosfer Lada

Hasil isolasi dari rizosfer tanaman lada di daerah Cangkringan diperoleh 47 isolat bakteri. Hasil identifikasi diketemukan *Pseudomonad* fluoresen sebanyak 7 isolat, *Bacillus* spp. sebanyak 19 isolat, dan bakteri yang belum teridentifikasi sebanyak 21 isolat.

Koloni bakteri *Pseudomonad* fluoresen hasil isolasi dapat cepat tumbuh dalam waktu yang singkat pada medium buatan (King's B), koloni berwarna putih dan akan berpendar jika diamati di bawah sinar UV, dan bersifat gram negatif. *Pseudomonad* fluoresen memiliki ciri membentuk fluoresensi (berpendar) pada medium King's B yang diamati di bawah sinar UV dan koloni berwarna putih. *Bacillus* spp. hasil isolasi memiliki ciri koloni berwarna putih, gram positif, dan dapat membentuk spora. Koloni bakteri pada medium agar berbentuk bulat, tepi teratur,

permukaan tidak mengkilap, dan dalam waktu yang lama koloni bakteri akan menjadi tebal dan keruh.

Uji Antagonis Bakteri terhadap *Fusarium solani*

Dari 47 isolat yang diuji, hanya ada 5 isolat yang mampu membentuk zona penghambatan terhadap jamur patogen yaitu isolat F15a, A10, D18a, B, dan C yang belum diidentifikasi lebih lanjut. Selain terjadinya zona penghambatan, bakteri-bakteri tersebut mampu menekan dan menghambat pertumbuhan *F. solani*, sehingga pertumbuhan *F. solani* terdesak dan sulit untuk tumbuh. Hasil uji antagonis antara bakteri dengan *F. solani* ditunjukkan dalam Tabel 1.

Bakteri antagonis yang dapat membentuk zona penghambatan maupun yang mendesak pertumbuhan *Fusarium solani* adalah bakteri dengan kode F15a, A10, D18a, B, dan C yang belum diidentifikasi lebih lanjut. Isolat *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen tidak ada yang mampu menghasilkan zona penghambatan pada uji antagonis dengan *Fusarium solani*. Hal ini dimungkinkan karena bakteri-bakteri yang terisolasi bukan termasuk agensia hayati pengendali jamur patogen, dan bakteri-bakteri tersebut tidak memiliki senyawa atau antibiotik yang dapat mengendalikan pertumbuhan jamur patogen.

Bakteri pseudomonad fluoresen diketahui memiliki kemampuan sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yang membantu pertumbuhan tanaman sehingga tanaman mampu tumbuh lebih baik dan sehat. *Pseudomonad* fluoresen juga mempunyai kemampuan sebagai jasad antagonis terhadap patogen tular tanah karena mampu menghasilkan siderofor (Dhanya & Potty, 2007).

Bacillus spp. telah dilaporkan bersifat antagonis terhadap jamur patogen tumbuhan dengan menghasilkan senyawa anti jamur antara lain antibiotik, senyawa peptida, senyawa fenol, enzim, alkaloid, dan siderofor (Haggag & Mohammed, 2007). Beberapa antibiotik yang dihasilkan oleh *Bacillus* spp. adalah subtilisin A, iturin, fengisin, dan surfactin (Nagorska *et al.*, 2007).

Dari hasil penelitian Karkachi *et al.* (2010) diperoleh hasil bahwa dari interaksi langsung antara *Pseudomonas fluorescens* dengan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* menunjukkan bahwa pertumbuhan miselium mulai terhambat setelah 2 hari ditumbuhkan bersama dengan koloni bakteri dan benar-benar terhambat 5 hari setelah ditumbuhkan. Filtrat biakan antagonis menunjukkan bahwa hanya *P. fluorescens* memiliki tingkat penghambatan yang bervariasi antara 20–30%. Nourozian *et al.* (2006) melaporkan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan *F. graminearum* oleh

bakteri antagonis terjadi melalui mekanisme persaingan, produksi senyawa antibiotik yang didifusikan ke dalam medium mampu menghambat pertumbuhan *F. graminearum* sehingga terbentuk zona penghambatan pada medium agar, serta menghasilkan senyawa volatil yang bersifat antifungal.

Uji Antagonis Bakteri terhadap *M. incognita*

Uji antagonis bakteri terhadap *M. incognita* menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diuji, tidak ada yang mampu menyebabkan kematian nematoda hingga 100%, dan belum ada yang menyebabkan nematoda lisis. Hasil uji antagonis ditunjukkan dalam Tabel 2.

Dari hasil pengujian diketahui bahwa kematian nematoda akibat bakteri terjadi pada semua perlakuan, namun bakteri yang paling banyak menyebabkan kematian pada nematoda adalah isolat J12, yaitu mencapai 40%. Bakteri isolat J12 merupakan bakteri yang masuk dalam kelompok *Pseudomonad* fluoresen.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Arwiyanto *et al.* (2007) menunjukkan bahwa aplikasi *Pseudomonad* fluoresen mampu menurunkan populasi *Meloidogyne incognita* pada tembakau. Diduga *Pseudomonad* fluoresen mampu mendegradasi masa gelatin yang merupakan selubung telur melalui reaksi enzimatis. Bakteri dari kelompok pseudomonad fluorescent menghasilkan metabolit sekunder seperti *phenazine*, *indole compound*, *phenylpyrrol* dan *pterin* yang bersifat toksik terhadap nematoda (Ashoub & Amara, 2010).

Uji *Bacillus* spp. sebagai agens pengendali hayati *Fusarium solani* penyebab penyakit layu tomat sudah dilakukan oleh Ajilogba, *et al.* (2013), dan telah diketahui bahwa *Bacillus* spp. mampu berperan sebagai PGPR dengan menghasilkan hormon *indole-3-acetic-acid* (IAA), serta mampu menghambat perkembangan *F. solani* dengan menghasilkan senyawa antibiotik seperti *zwitermicin*, *bacillomycin*, *fengycin*, *bacilysin*, dan *difficidin*.

Bacillus memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa volatil seperti *benzeneacetaldehyde*, *2-nonanone*, *decanal*, *2-undecanone* dan *dimethyl disulphide* yang bersifat nematisidal (Ashoub & Amara, 2010). Lamovšek *et al.* (2013) melaporkan bahwa peran *Pseudomonas fluorescens* dalam pengendalian *Meloidogyne* spp. adalah karena berperan sebagai inducer bagi tanaman sehingga meningkatkan ketahanan tanaman, menghasilkan toksin, mendegradasi eksudat akar yang berperan sebagai senyawa atraktan bagi *Meloidogyne*, serta menghalangi penetrasi *Meloidogyne*.

Tabel 1. Hasil uji antagonis bakteri terhadap jamur *F. solani*

a. Bakteri <i>Pseudomonad fluorens</i>				
No.	Jenis Bakteri	Kode Isolat	Zona Penghambatan	Uji Gram
1		G9	-	-
2		I7	-	-
3		I6	-	-
4	<i>Pseudomonad fluorens</i>	I8	-	-
5		J11	-	-
6		J12	-	-
7		J13	-	-
b. Bakteri <i>Bacillus</i> spp.				
No.	Jenis Bakteri	Kode Isolat	Zona Penghambatan	Uji Gram
1		K9	-	+
2		L7	-	+
3		L19	-	+
4		L8	-	+
5		L11	-	+
6		L12	-	+
7		M8	-	+
8		N2	-	+
9		N3	-	+
10	<i>Bacillus</i> spp.	N4	-	+
11		O3	-	+
12		O2	-	+
13		O5	-	+
14		O8	-	+
15		P1	-	+
16		P2	-	+
17		P6	-	+
18		P11	-	+
19		P12	-	+
c. Bakteri lain-lain (isolasi dari rizosfer Lada)				
No.	Jenis Bakteri	Kode Isolat	Zona Penghambatan	Uji Gram
1		F21a	-	+
2		F21b	-	+
3		F13a	-	+
4		F22b	-	-
5		D18a	+	+
6		D18b	-	+
7		F16A	-	+
8		F16b	-	+
9		F15a	-	+
10		F15b	+	+
11	Lain-lain	F14a	-	+
12		F14b	-	+
13		A12a	-	+
14		A12b	-	+
15		A10	+	+
16		H23a	-	+
17		H25a	-	-
18		H25b	-	-
19		H17b	-	-
20		B	+	+
21		C	+	+

Keterangan: (+): Terbentuk zona penghambatan
 (-) : Tidak terbentuk zona penghambatan

Tabel 2. Hasil uji antagonis bakteri terhadap *Meloidogyne* sp.

a. Bakteri <i>Pseudomonad</i> fluoresen				
No.	Jenis Bakteri	Kode Isolat	Presentase kematian nematoda	
			Mati (%)	Lisis (%)
1	<i>Pseudomonad</i> fluoresen	G9	6,7	0
2		I7	30,0	0
3		I6	13,3	0
4		I8	30,0	0
5		J11	23,3	0
6		J12	40,0	0
7		J13	23,3	0
b. Bakteri <i>Bacillus</i> spp.				
No.	Jenis Bakteri	Kode Isolat	Persentase kematian nematoda	
			Mati (%)	Lisis (%)
1	<i>Bacillus</i> spp.	K9	20,0	0
2		L7	6,7	0
3		L19	23,3	0
4		L8	30,0	0
5		L11	26,7	0
6		L12	20,0	0
7		M8	30,0	0
8		N2	23,3	0
9		N3	30,0	0
10		N4	23,3	0
11		O3	10,0	0
12		O2	20,0	0
13		O5	33,3	0
14		O8	10,0	0
15		P1	13,0	0
16		P2	20,0	0
17		P6	16,7	0
18		P11	26,7	0
19		P12	20,0	0
c. Bakteri lain-lain (isolasi dari rizosfer lada)				
No.	Jenis Bakteri	Kode Isolat	Persentase kematian nematoda	
			Mati (%)	Lisis (%)
1	Lain-lain	F21a	6,7	0
2		F21b	16,7	0
3		F13a	13,3	0
4		F22b	6,7	0
5		D18a	23,3	0
6		D18b	6,7	0
7		F16A	10,0	0
8		F16b	26,7	0
9		F15a	26,7	0
10		F15b	13,3	0
11		F14a	30,0	0
12		F14b	16,7	0
13		A12a	13,3	0
14		A12b	10,0	0
15		A10	20,0	0
16		H23a	20,0	0
17		H25a	13,3	0
18		H25b	10,0	0
19		H17b	23,3	0
20		B	10,0	0
21		C	6,7	0
Kontrol			6,7	0

DAFTAR PUSTAKA

- Ajilogba, C.F., O.O. Babalola, & F. Ahmad. 2013. Antagonistic Effects of *Bacillus* Species in Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt. *Ethno Medicine* 7: 205–216.
- Anonim. 2013. IPC Market Review 2013. <www.peppertrade.com>, diakses 30/5/14.
- Arwiyanto, T., F. Yuniarsih, T. Martoredjo, & G. Dalmadiyo. 2007. Seleksi *Pseudomonas* fluoresen secara Langsung di Lapangan untuk Pengendalian Penyakit Lincat pada Tembakau. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika* 7: 62–68.
- Ashoub, A.H. & M.T. Amara. 2010. Biocontrol Activity of Some Bacterial Genera against Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita*. *Journal of American Science* 6: 321–328.
- Cazorla, F.M., D. Romero, A.Perez-Garcia, B.J.J. Lugtenberg, A. de Vicente, & G. Bloemberg. 2007. Isolation and Characterization of Antagonistic *Bacillus subtilis* Strains from the Avocado Rhizosphere Displaying Biocontrol Activity. *Journal of Applied Microbiology* 103: 1950–1959.
- Choudhary, D.K. & B.N. Johri. 2008. Interaction of *Bacillus* spp. and Plants-with Special Reference to Induced Systemic Resistance (ISR). <<http://www.sciencedirect.com/science>>, diakses 28/2/09.
- Danya, M.K. & V.P. Potty. 2007. Siderophore Production by *Pseudomonas fluorescens* isolated from rhizosphere of *Solestemon rotundifolius*. *Journal of Root Crop* 33: 138–140.
- Haas D, & G. Defago. 2005. Biological Control of Soil-borne Pathogens by Fluorescent *Pseudomonads*. *Natural Review of Microbiology* 3: 307–319.
- Haggag, W.M. & H.A.A. Mohamed. 2007. Biotechnological Aspects of Microorganism Used in Plant Biological Control. *Am-Eurasian Journal Sustainable Agriculture* 1: 7–12.
- Karkachi, N.E., S., Gharbi, M., Kihal, & J.E., Henni. 2010. Biological Control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Isolated from Algerian Tomato by *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus careus*, *Serratia marcescens* and *Trichoderma harzianum*. *Research Journal of Agronomy* 4: 31–34.
- Lamovšek, J., G. Urek, & S. Trdan. 2013. Biological Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the Pests. *Acta agriculturae Slovenica* 101: 263–275.
- Nagorska, K., M. Bilowski & M. Obuchowski. 2007. Multicellular Behaviour and Production of Wide Variety of Toxic Substances Support Usage of *Bacillus subtilis* as Powerful Biocontrol Agent. *Acta Biochimica Polonica* 54: 495–508.
- Naik, P.R., G. Raman, K.B. Narayanan, & N. Sakthivel. 2008. Assessment of Genetic and Functional Diversity of Phosphate Solubilizing Fluorescent *Pseudomonads*. *Biomedical Central Microbiology* 8: 230.
- Nourozian, J., H.R., Etebarian, & G. Khodakaramian. 2006. Biological Control of *Fusarium graminearum* on Wheat by Antagonistic Bacteria Songklanakarin *Journal of Science and Technology* 28: 29–38.