

EKSPLORASI RIZOBAKTERI PADA GULMA FAMILI SOLANACEAE UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT LAYU BAKTERI PADA TANAMAN TOMAT

Auliya Zendhabad, Luqman Qurata Aini, Abdul Latief Abadi

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Universitas Brawijaya
Jln. Veteran, Malang 65145

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum is plant pathogenic bacteria that causes wilt which can reduce the production of tomato plants. Root inhabiting bacteria (rhizobacteria) have been known to act as antagonists of plant pathogens. This study aims to obtain rhizobacteria originated from weeds of Solanaceae family, namely leunca and ciplukan which have the potency as antagonists against *R. solanacearum*. Eight rhizobacterial isolates that have the potency to suppress the growth of *R. solanacearum* were obtained. All tested rhizobacterial isolates had the same potential as controls (bactericidal Streptomycin sulfate) in suppressing the development of bacterial wilt disease. Physiological and biochemical characterization showed that each isolate of rhizobacteria has different character.

Keywords : Bacteria, *Ralstonia solanacearum*, Rhizobacteria, Solanaceae, tomato

ABSTRAK

Ralstonia solanacearum merupakan bakteri penyebab penyakit layu yang dapat menurunkan produksi tanaman tomat. Bakteri penghuni akar (rizobakteri) diketahui dapat berperan sebagai antagonis terhadap patogen tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan rizobakteri dari gulma dari famili solanaceae yaitu leunca dan ciplukan yang berpotensi sebagai antagonis terhadap *R. solanacearum*. Telah diperoleh delapan isolat rizobakteri yang berpotensi menekan pertumbuhan *R. solanacearum*. Semua isolat rizobakteri yang diuji memiliki potensi yang sama dengan kontrol (bakterisida Streptomisin sulfat) dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri. Berdasarkan karakterisasi fisiologi dan biokimia diketahui bahwa masing-masing isolat rizobakteri memiliki karakter yang berbeda.

Kata kunci : Bakteri, *Ralstonia solanacearum*, Rizobakteri, Solanaceae, tomat

PENDAHULUAN

Tomat (*Lycopersicon esculentum*) merupakan salah satu komoditas penting hortikultura yang masih memerlukan penanganan serius, terutama dalam hal peningkatan produksi. Penyebab utama kehilangan produksi tomat ialah degradasi lahan, erosi dan serangan hama dan penyakit. Salah satu penyakit penting pada tanaman tomat adalah penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*. Bakteri ini menyerang beberapa tanaman pertanian, diantaranya adalah tomat, kacang tanah,

pisang, kentang dan tembakau (Nasrun, 2007).

Bakteri *R. solanacearum* menginfeksi pada bagian akar, bergerak secara sistemik melalui xylem, berpindah menuju ruang antar sel dari parenkim di dalam korteks dan jaringan gabus, kemudian merusak dinding sel dengan menghasilkan polimer sakarida yang dapat menyumbat jaringan hingga menyebabkan tanaman menjadi layu (Walker, 1957). Tanaman tomat yang terinfeksi patogen ini menyebabkan tanaman menjadi layu dan mengalami kematian (Semangun, 2004).

Salah satu cara pengendalian layu bakteri adalah dengan pengendalian hayati menggunakan mikroba, seperti mikroba dari golongan rizobakteri. Rizobakteri merupakan kelompok bakteri menguntungkan yang agresif menduduki atau mengkolonisasi bagian sekitar akar atau rizosfer (lapisan tanah tipis antara 1-2 mm di sekitar zona perakaran). Sebagian besar rizobakteri dapat berperan sebagai agens antagonis terhadap patogen tanaman (Timmusk, 2003).

Gulma ciplukan dan gulma leunca merupakan tumbuhan dalam satu famili dengan tanaman tomat. Kondisi lingkungan perakaran bagi gulma ciplukan (*Physalis minima*) dan gulma leunca (*Solanum nigrum*) lebih mirip dengan kondisi lingkungan perakaran pada tanaman tomat. Pada kedua gulma tersebut jarang ditemukan adanya serangan dari bakteri patogen *R. solanacearum*. Diduga terdapat peran mikroba khususnya rizobakteri pada gulma leunca dan ciplukan yang bersifat antagonis dan mampu menghambat serangan bakteri *R. solanacearum*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan rizobakteri dari gulma leunca dan ciplukan yang berpotensi sebagai antagonis terhadap *R. solanacearum*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, dan di rumah kaca Ngijo Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah: (1) isolasi rizobakteri pada gulma famili Solanaceae, (2) uji antagonis rizobakteri dari gulma famili Solanaceae terhadap *R. solanacearum* (*in vitro*), (3) karakterisasi rizobakteri antagonis berpotensi, dan (4) uji penghambatan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat (*in vivo*). Uji antagonis di cawan Petri dan uji penghambatan

penyakit layu pada tanaman tomat menggunakan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Eksplorasi Rizobakteri pada Gulma Famili Solanaceae

Eksplorasi rizobakteri dari gulma famili Solanaceae menggunakan metode *spread plate*. Sampel tanaman gulma famili Solanaceae (leunca dan ciplukan) diambil dari lapangan. Bagian akar tanaman dipotong 1-2 cm, lalu digerus menggunakan mortar dan diberi aquades steril sebanyak 2 ml. Setelah itu diambil sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengenceran sampai 10^9 . Sebanyak 1 ml dari masing-masing pengenceran diambil sebanyak 30 μ l menggunakan mikropipet kemudian diteteskan pada media NA dan diratakan dengan menggunakan stik L, setelah itu diinkubasikan pada suhu kamar selama 2x24 jam.

Uji Antagonis Rizobakteri Famili Solanaceae terhadap Bakteri *R. solanacearum* pada Cawan Petri (*In vitro*)

Uji antagonis dilakukan menggunakan metode *double layer*. Biakan rizobakteri berumur 48 jam yang telah dipurifikasi pada media NA diambil sebanyak tiga ose, kemudian dimasukkan ke dalam 1 ml aquades steril dalam tabung eppendorf. Kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam tabung tersebut selama \pm 1 menit dan ditiriskan selama 2 jam. Kemudian kertas saring yang sudah kering angin ditanam ditengah-tengah media NA pada cawan Petri dan diinkubasi selama 2 hari. Biakan *R. solanacearum* berumur 24 jam dicampur dalam media NA yang masih cair (suhu 50 °C), kemudian dituangkan di atas biakan rizobakteri. Setelah itu diinkubasi selama 2 hari dan diukur zona bening atau zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri antagonis. Indeks zona bening yang dihasilkan rizobakteri terhadap *R. solanacearum* diukur

dengan rumus menurut Sugiyono (2008) :

$$I = \frac{B - A}{B}$$

Keterangan :

I = Indeks zona bening

A = diameter koloni (mm)

B = diameter zona bening (mm)

Karakterisasi Rizobakteri Antagonis dari Akar Gulma Famili Solanaceae

Karakterisasi rizobakteri yang bersifat antagonis meliputi karakterisasi morfologi serta karakterisasi fisiologi dan biokimia. Karakter morfologi yang diamati meliputi morfologi koloni dan morfologi sel bakteri setelah pewarnaan Gram. Karakterisasi fisiologi dan biokimia meliputi pengujian Gram dengan metode pewarnaan Gram dan uji KOH 3%, pertumbuhan anaerob, pengujian pada media King's B, warna koloni pada media YDC dan pertumbuhan pada media D1M Agar (Schaad *et al.*, 2001).

Uji Penghambatan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat (*In vivo*)

Tanaman tomat berumur 12 hari setelah tanam (HST) diberi suspensi biakan rizobakteri yang berumur 2 hari. Sebanyak 50 ml suspensi bakteri dengan kerapatan 10^9 CFU/ml diaplikasi pada tanaman dengan cara menyiram ke bagian perakaran. Pada umur 14 HST inokulasi *R. solanacearum* dilakukan dengan melukai akar tanaman tomat menggunakan scalpel steril. Suspensi *R. solanacearum* dengan kerapatan 10^9

CFU/ml kemudian disiramkan sebanyak 50 ml di sekitar daerah perakaran. Pengamatan yang dilakukan meliputi intensitas serangan penyakit, tinggi tanaman serta jumlah daun.

Analisis Statistik

Data yang diperoleh dari pengamatan dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA) dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Eksplorasi Rizobakteri pada Gulma Famili Solanaceae

Sejumlah 25 isolat rizobakteri berhasil diisolasi, 13 isolat diisolasi dari akar ciplukan (diberi kode AC) dan 12 isolat diisolasi dari akar leunca (diberi kode AL). Masing-masing rizobakteri memiliki morfologi koloni yang berbeda satu sama lain setelah dipurifikasi pada media NA. Rizobakteri yang telah didapat kemudian diuji antagonis terhadap bakteri patogen *R. solanacearum* dengan menggunakan metode *double layer*.

Berdasarkan hasil uji antagonis yang dilakukan, dari 25 rizobakteri terdapat 14 rizobakteri yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*. Sebanyak 7 isolat rizobakteri berasal dari gulma leunca dan 7 isolat berasal dari gulma ciplukan. Dari 14 rizobakteri yang telah didapat, hanya 8 rizobakteri saja yang dikarakterisasi dan diuji kemampuan penghambatan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata diameter zona bening rizobakteri yang berpotensi menghambat *R. solanacearum*

Rizobakteri	Rata-rata diameter zona bening (cm)		
	1 hsi	2 hsi	3 hsi
AC 7	0,23	0,23	0,35
AC 8	0,64	0,6	0,59
AC 9	0,25	0,29	0,31
AC 11	0,31	0,29	0,26
AL 2	0,21	0,35	0,39
AL 3	0,29	0,37	0,43
AL 9	0,15	0,33	0,36
AL 11	0,35	0,46	0,48

Tabel 2. Karakter morfologi rizobakteri antagonis yang dapat menekan pertumbuhan *R. solanacearum*

Kode Bakteri	Bentuk Koloni	Mucoid	Warna	Penampakan	Elevasi	Tepian
AL 2	Lonjong	Tidak Ada	Putih	Keruh	Timbul	Rata
AL 3	Bulat	Tidak ada	Putih	Bening	Rata	Rata
AL 9	Bulat	Tidak ada	Putih	Keruh	Timbul	Rata
AL 11	Bulat	Tidak ada	Kuning	Keruh	Rata	Rata
AC 7	Bulat	Tidak ada	Putih	Bening	Rata	Rata
AC 8	Bulat	Ada	Putih	Keruh	Timbul	Rata
AC 9	Lonjong	Tidak ada	Kuning	Bening	Timbul	Rata
AC 11	Lonjong	Ada	Putih	Keruh	Timbul	Rata

Keterangan : Rizobakteri AC (Akar Ciplukan); Rizobakteri AL (Akar Leunca)

Tabel 3. Karakter fisiologi dan biokimia isolat rizobakteri antagonis

Karakter	AL 2	AL 3	AL 9	AL 11	AC 7	AC 8	AC 9	AC 11
Uji Hipersensitif	-	-	-	-	-	-	-	-
Pengujian Gram	-	-	-	+	-	+	-	-
Pengecatan Spora	TD	TD	TD	-	TD	+	TD	TD
Pertumbuhan Anaerob	TD	TD	TD	TD	TD	-	TD	TD
Uji Katalase	TD	TD	TD	+	TD	TD	TD	TD
Uji Oksidatif	+	-	-	TD	-	TD	+	+
Fermentasi Glukosa	-	TD	TD	TD	TD	TD	-	-
Pigmen Flourescen pada Media King's B	-	TD	TD	TD	TD	TD	+	-
Pertumbuhan pada Media YDC	-	TD	TD	TD	TD	TD	TD	-
Pertumbuhan pada Media D1M	+	TD	TD	TD	TD	TD	TD	+

Keterangan : Karakterisasi fisiologi dan biokimia. (-) : reaksi negatif, (+) : reaksi positif; (TD): Tidak Diuji.

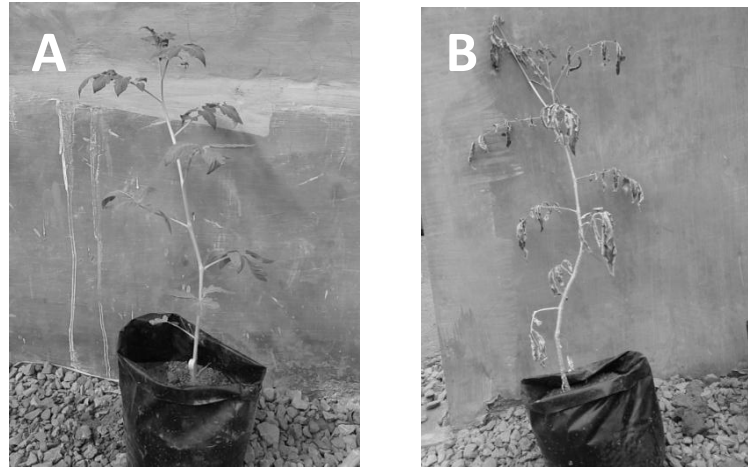
Rizobakteri Antagonis yang menghambat Pertumbuhan *R. solanacearum* pada Cawan Petri

Berdasarkan hasil pengamatan, semua rizobakteri terpilih dari gulma ciplukan mampu menekan pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Dari hasil pengujian tersebut dipilih empat isolat dari akar ciplukan yaitu AC7, AC8, AC9 dan AC11 yang menunjukkan rerata indeks zona bening lebih besar. Empat isolat dari akar leunca yaitu AL2, AL3, AL9 dan AL 11 dipilih dengan kriteria yang sama untuk digunakan pada pengujian lebih lanjut (Tabel 1).

Karakter Rizobakteri Antagonis Berdasarkan Morfologi, Fisiologi dan Biokimia

Karakter morfologi yang diamati meliputi morfologi koloni yaitu bentuk koloni, mucoid, warna koloni, penampakan (bening atau keruh), elevasi, dan tepian dan morfologi sel bakteri setelah pewarnaan Gram (Tabel 2).

Karakterisasi fisiologi dan biokimia meliputi pengujian Gram dengan metode pewarnaan Gram dan uji KOH 3%, pertumbuhan anaerob, pengujian pada media King's B, warna koloni pada media YDC dan pertumbuhan pada media D1M Agar (Schaad *et al.*, 2001, dan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1994). Hasil



Gambar 1. Gejala serangan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum*: (A) tanaman tomat sehat, (B) tanaman tomat dengan gejala penyakit layu

Tabel 4. Tingkat Serangan *R. solanacearum* pada Tanaman Tomat

Perlakuan	Tingkat Serangan <i>R. solanacearum</i> (%) pada umur pengamatan (hsi)			
	7	14	21	28
Rizobakteri AL 2	11,00	22,00	47,33	61,67
Rizobakteri AL 3	11,00	22,00	47,33	47,33
Rizobakteri AL 9	22,00	36,33	55,33	55,33
Rizobakteri AL 11	11,00	36,33	36,33	36,33
Rizobakteri AC 7	25,33	36,33	47,33	47,33
Rizobakteri AC 8	0,00	22,00	22,00	22,00
Rizobakteri AC 9	0,00	36,33	36,33	36,33
Rizobakteri AC 11	11,00	36,33	50,67	50,67
Kontrol (Bakterisida)	0,00	11,00	11,00	11,00

Keterangan: HSI (hari setelah inokulasi); Rizobakteri AC (Akar Ciplukan); Rizobakteri AL (Akar Leunca); Kontrol: Bakterisida Agrept (*Streptomycin* 20%).

pengujian fisiologi dan biokimia bakteri dapat dilihat pada Tabel 3. Dari hasil karakterisasi secara fisiologi dan biokimia dapat dilihat bahwa masing-masing isolat rizobakteri antagonis memiliki karakter fisiologi maupun biokimia yang berbeda.

Penghambatan Rizobakteri terhadap Perkembangan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* sebagian besar muncul pada tanaman tomat pada 7 hari setelah inokulasi (HSI). Gejala awal yang muncul

pada tanaman yaitu daun layu, kemudian daun menguning hingga seluruh daun menjadi kering (Gambar 1). Intensitas penyakit meningkat pada pengamatan 14, 21 dan 28 hsi. Peningkatan intensitas penyakit layu bakteri oleh *R. solanacearum* pada tanaman tomat diduga disebabkan virulensi *R. solanacearum* yang mampu melakukan infeksi, reproduksi, dan penyebaran. Virulensi bakteri dipengaruhi oleh adanya komponen fisiologis yang dihasilkan berupa enzim dan toksin. Pembentukan komponen tersebut dipengaruhi oleh ketersediaan makanan (Brubaker, 1985). Bakteri *R. solanacearum*

memproduksi enzim selulase dan poligalakturonase serta ekstrapolisakarida (Karamina, 2012). Virulensi bakteri juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Menurut Goto (1992), *R. solanacearum* tidak menghasilkan gejala layu bakteri bila suhu tanah dibawah 21°C. Semakin tinggi suhu maka gejala yang muncul semakin tinggi. Suhu pada pelaksanaan penelitian berkisar 29°C - 32°C, sehingga mendukung peningkatan intensitas penyakit layu bakteri.

Pada uji penghambatan rizobakteri terhadap penakit layu secara *in vivo* semua isolat rizobakteri memiliki potensi yang sama dengan penghambatan oleh kontrol bakterisida (*Streptomycin* 20%) dalam menekan perkembangan bakteri *R. solanacearum* Tabel 4).

KESIMPULAN

Sejumlah 25 isolat rizobakteri berhasil diisolasi dari akar gulma, 13 isolat diisolasi dari akar ciplukan (diberi kode AC) dan 12 isolat diisolasi dari akar gulma leunca (diberi kode AL). Terdapat 14 rizobakteri yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*, 7 isolat rizobakteri berasal dari gulma leunca dan 7 isolat berasal dari gulma ciplukan, 8 isolat rizobakteri dipilih berdasar kemampuan penghambatan terhadap *R. solanaceraum*. Pada uji penghambatan perkembangan penyakit layu bakteri diketahui semua isolat rizobakteri memiliki potensi yang sama dengan kontrol bakterisida (*Streptomycin* 20%) dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri. Berdasarkan karakterisasi fisiologi dan biokimia diketahui bahwa masing-masing isolat rizobakteri memiliki karakter yang bervariasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Brubaker, R.R., and S.C. Straley, 1985. Cytoplasmic and Membrane Proteins of *Yersinia* cultivated under Condition Simulating Mammalian Intracellular Environment. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78:1224-1228
- Goto, M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press, Sidney. Hal 282 – 285
- Karamina, H. 2012. Penggunaan *Trichoderma koningii* sebagai Pengendali Penyakit Layu Bakteri oleh *Ralstonia solanacearum* pada Budidaya Kentang. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nasrun. 2007. Karakteristik Fisiologis Penyakit *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri Nilam. Jurnal Littri.
- Schaad, N.W., J.B. Jones, W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. Third Edition. APS Press. St. Paul Minnesota.
- Semangun, H. 2004. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura Di Indonesia. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sugiyono, A. J.L Rosita, A.S. Reysia 2008. Karakterisasi Protease Bakteri Temofil Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah. Jurnal Penelitian Perikanan. Vol II. No 2.
- Timmusk, S., 2003. Mechanism of Action of The Plant-growth-promoting Rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* [Dissertation]. Uppsala, Sweden: Departemen of Cell and Molecular Biology, Uppsala University.
- Walker, J.C., 1957. Plant Pathology. McGraw-Hill Book Company, INC. London.