

KOMUNIKASI SINGKAT

Kemampuan Campuran *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma* sp. untuk Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat

Ability of Bacillus sp., Pseudomonas fluorescens, and Trichoderma sp. to Control Tomato Bacterial Wilt Disease

Abdul Manan*, Endang Mugiastuti, Loekas Soesanto
Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto 53123

ABSTRAK

Ralstonia solanacearum merupakan penyebab penyakit layu bakteri yang dapat menginfeksi berbagai stadium pertumbuhan dan menimbulkan penurunan produksi tomat. Pengendalian hayati menggunakan mikrob antagonis merupakan alternatif pengendalian yang potensial. Penelitian bertujuan menentukan kemampuan campuran *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma* sp. untuk mengendalikan *R. solanacearum* serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman tomat di lapangan. Perlakuan terdiri atas: kontrol (tanpa mikrob antagonis); campuran *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp.; campuran *Bacillus* galur B8 + *Pseudomonas fluorescens* P8 + *Trichoderma* sp.; dan Streptomisin sulfat 20%. Aplikasi mikrob antagonis dimulai pada saat tanam, sebanyak 100 mL per tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan campuran *Bacillus* sp. B8 + *Bacillus* sp. B11 + *Trichoderma* sp. merupakan campuran mikrob antagonis yang terbaik untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada tomat. Campuran mikrob tersebut mampu menunda masa inkubasi penyakit 6.2 hari, menekan insidensi penyakit 12.3%, serta meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman tomat sebesar 42.80% dan 14.99%.

Kata kunci: insidensi penyakit, masa inkubasi, mikrob antagonis, pengendalian hayati, *Ralstonia solanacearum*

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum is known as the causal agent of bacterial wilt on tomato. The bacteria may infect all stadia of plant growth and decrease tomato production. Biological control using antagonistic microbes is considered as a potential control alternative for the disease. This research was aimed to assay the ability of combination treatment of *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, and *Trichoderma* sp. in controlling *R. solanacearum* and its effect on growth and yield of tomato in the field. The treatments consisted of control (without antagonistic microbes), mixed combination of *Bacillus* sp. B8 + *Bacillus* sp. B11 + *Trichoderma* sp.; *Bacillus* sp. B8 + *Pseudomonas fluorescens* P8 + *Trichoderma* sp.; and Streptomisin sulfat 20%. Antagonistic microbes was applied at planting time, as much as 100 mL per plant. The result showed that mixed combination of *Bacillus* sp. B8 + *Bacillus* sp. B11 + *Trichoderma*

*Alamat penulis korespondensi: Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman.
Jalan Dr. Suparno, Karangwangkal, Purwokerto, 53123
Tel: 0281-638791, Faks: 0281-638791, Surel: abdulmanan.unsoed@gmail.com

sp. was the best treatment in controlling the disease as indicated by delaying incubation period up to 6.2 days, decreasing disease incidence up to 12.3%, increasing plant growth up to 42.80%, and increasing yield up to 14.99%.

Key words: antagonistic microbes, biological control, disease incidence, incubation period, *Ralstonia solanacearum*

Ralstonia solanacearum merupakan penyebab penyakit layu bakteri yang menjadi salah satu kendala dalam produksi tomat. Gejala awal yang ditimbulkannya ialah layu pada daun muda dan pucuk, serta tanaman mati dalam waktu singkat. Kehilangan hasil akibat infeksi patogen ini dapat mencapai 100% (Purnawati *et al.* 2014). Patogen ini memiliki sebaran geografi yang luas, mampu bertahan lama dalam tanah, mempunyai variasi genetik yang beragam, dan mampu menimbulkan kematian tanaman yang tinggi.

Upaya pengendalian penyakit layu bakteri dengan bahan kimia sintetik belum memberikan hasil yang memuaskan. Pengendalian menggunakan mikroba antagonis merupakan alternatif pengendalian yang potensial dan ramah lingkungan. *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus* sp., dan *Trichoderma* sp. merupakan mikroba antagonis yang banyak digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman. Mikroba antagonis tersebut mampu bersaing dan mengkolonisasi perakaran tanaman, menghasilkan toksin, metabolit sekunder, siderofor, serta mampu berperan sebagai *plant growth promoting bacteria* (PGPR) (John *et al.* 2010; Hamedo dan Maklouf 2016).

Bacillus galur B8 dan B11 serta *Pseudomonas fluorescens* P8 merupakan mikroba antagonis yang diisolasi dari rizosfer tomat dan telah diuji kemampuannya secara mandiri dalam menekan pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in vitro* dan penyakit layu bakteri di rumah kaca (Rahayuniati dan Mugiastuti 2012). Namun demikian, kemampuan mikroba tersebut di lapangan kurang memuaskan. Oleh karena itu, dilakukan upaya meningkatkan kemampuan pengendalian dengan cara menggabungkan dengan mikroba antagonis lain yang sesuai. *Trichoderma* sp. galur jahe merupakan cendawan antagonis yang telah diuji kemampuannya untuk

mengendalikan berbagai patogen tanaman tular-tanah, baik skala rumah kaca maupun lapangan (Soesanto *et al.* 2012). Dengan menggabungkan beberapa mikroba tersebut diharapkan menghasilkan mekanisme pengendalian yang saling bersinergi dan meningkatkan efektivitas pengendaliannya.

Penelitian ini bertujuan menentukan kemampuan campuran mikroba antagonis *Bacillus* galur B8 dan B11, *P. fluorescens* P8, serta *Trichoderma* sp. untuk mengendalikan *R. solanacearum* serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman tomat di lapangan. Campuran mikroba antagonis yang efektif untuk mengendalikan penyakit layu bakteri, selanjutnya diharapkan dapat diformulasi untuk mengganti penggunaan pestisida sintetik yang masih banyak digunakan di lapangan.

Penelitian dilakukan di Desa Sumbang, Kecamatan Sumbang, Kabupaten Banyumas pada bulan Mei sampai Agustus 2017. Pemilihan lokasi didasarkan pada riwayat insidensi penyakit layu bakteri setiap ditanami tanaman Solanaceae. Mikroba antagonis yang digunakan terdiri atas *Bacillus* galur B8, *Bacillus* galur B11, *P. fluorescens* P8, dan *Trichoderma* sp. Semua mikroba merupakan koleksi Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Sudirman.

Pengujian kemampuan campuran mikroba antagonis untuk mengendalikan *R. solanacearum* pada tanaman tomat di lapangan disusun dalam rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan terdiri atas kontrol (tanpa pengendalian); campuran *Bacillus* galur B8, *Bacillus* galur B11 dan *Trichoderma* sp.; campuran *Bacillus* galur B8, *P. fluorescens* P8, dan *Trichoderma* sp.; dan bakterisida Streptomisin sulfat 20%. Kombinasi mikroba tersebut sebelumnya sudah diuji dan menunjukkan hasil yang saling kompatibel secara *in vitro* (Manan

dan Munadjat 2015). Tanaman tomat yang digunakan ialah varietas Betavila F1 yang dilaporkan rentan terhadap *R. solanacearum*. Bibit tomat berumur 21 hari pada saat pindah tanam. Setiap unit perlakuan terdiri atas 20 bibit tomat yang ditanam dengan jarak tanam 60 cm x 40 cm. Pemupukan menggunakan pupuk sapi kandang 1.5 kg per tanaman dan pupuk NPK (15:15:15) 700 kg ha⁻¹.

Perbanyakkan bakteri antagonis dilakukan pada medium *nutrient broth* (NB), sedangkan untuk perbanyakkan cendawan antagonis *Trichoderma* sp. pada larutan dekstrosa kentang (LDK). Mikrob diinkubasi pada kecepatan goyang 150 rpm selama 3 hari pada suhu ruang untuk bakteri dan 7 hari untuk cendawan antagonis. Kerapatan mikrob antagonis diatur sehingga diperoleh kepadatan untuk aplikasi bakteri antagonis sebesar 1×10^{10} cfu mL⁻¹ dan cendawan *Trichoderma* sp. 1×10^8 spora mL⁻¹. Suspensi mikrob antagonis disiramkan sesaat setelah tanam dengan takaran 100 mL per tanaman dan 50 mL streptomisin sulfat 20% per tanaman. Aplikasi mikrob antagonis dan bakterisida dilakukan sebanyak 4 kali dengan interval 7 hari.

Peubah yang diamati meliputi komponen patosistem, yaitu masa inkubasi dan insidensi penyakit; serta komponen pertumbuhan dan hasil meliputi tinggi tanaman, bobot segar tajuk, bobot segar akar, dan bobot buah. Masa inkubasi diamati sejak tanam sampai gejala awal muncul. Insidensi penyakit dihitung sejak muncul gejala dengan interval waktu 7 hari. Komponen pertumbuhan berupa tinggi diukur setiap 7 hari sekali, sedangkan bobot segar tajuk dan bobot segar akar serta hasil tanaman (bobot buah) dihitung pada akhir pengamatan, yaitu 95 hari setelah tanam (HST).

Insidensi penyakit (IP) dihitung menggunakan rumus:

$$IP = \frac{n}{N} \times 100\%, \text{ dengan}$$

n, jumlah tanaman yang terinfeksi; dan N, jumlah tanaman yang diamati. Selanjutnya keefektifan pengendalian (penurunan insidensi penyakit) dihitung dengan rumus:

$$\text{Keefektifan Pengendalian} = \frac{(IP_k - IP_p)}{IP_k} \times 100\%, \text{ dengan}$$

IP_p, insidensi penyakit pada perlakuan; dan IP_k, insidensi penyakit pada kontrol. Data dianalisis menggunakan uji F dan apabila berbeda nyata, dilanjutkan dengan *duncan multiple range test* pada α 5%.

Hasil pengujian campuran mikrob antagonis berpengaruh nyata terhadap masa inkubasi dan insidensi penyakit layu bakteri tomat (Tabel 1). Perlakuan kontrol menunjukkan masa inkubasi yang paling cepat, yaitu 23 HST. Perlakuan campuran mikrob antagonis *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp. mempunyai kemampuan paling lama dalam menunda masa inkubasi penyakit, yaitu 6 hari. Kemampuan ini setara dengan perlakuan streptomisin sulfat 20% yang mampu menunda masa inkubasi selama 5 hari. Kemampuan campuran mikrob antagonis tersebut berkaitan dengan kemampuan campuran mikrob untuk saling bersinergi dalam kolonisasi perakaran tanaman tomat dengan cepat sehingga menjadi pesaing bagi patogen. Hasil uji *in vitro* campuran mikrob tersebut saling kompatibel (Manan dan Munadjat 2015). Agens pengendali hayati umumnya mampu mengoloniasi tanaman dengan cepat dan menggunakan substrat serta nutrisi yang ada sehingga menjadi tidak tersedia bagi patogen (Nega 2014). Kompetisi ruang dan nutrisi merupakan mekanisme utama mikrob antagonis dalam melindungi perakaran tanaman dari serangan patogen.

Perlakuan campuran mikrob antagonis dan bakterisida streptomisin sulfat 20% mampu menekan insidensi penyakit layu bakteri hingga lebih rendah dan berbeda nyata dengan kontrol. Antara perlakuan campuran mikrob antagonis dan streptomisin sulfat 20% tidak berbeda nyata. Campuran mikrob antagonis *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp. dan campuran mikrob antagonis *Bacillus* galur B8 + *P. fluorescens* P8 + *Trichoderma* sp. mampu menekan insidensi penyakit masing masing sebesar 12.30% dan 8.47%, sedangkan perlakuan streptomisin sulfat 20% mampu menekan insidensi penyakit sebesar 10.17% (Tabel 1).

Disamping berkaitan dengan kemampuan menekan insidensi penyakit, campuran mikrob

antagonis juga mampu menunda masa inkubasi penyakit. Sebagian besar strain *Bacillus* dilaporkan mampu menghasilkan antibiotik golongan peptida dan beberapa antibiotik yang lainnya dari golongan butirosin dan protosin (Fickers 2012). Hasil ini sejalan dengan daya hambat bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum* secara *in vitro* (Mugiastuti *et al.* 2012).

Beberapa mikrob antagonis juga menghasilkan enzim lisis yang dapat menghidrolisis kitin, protein, selulase, dan hemiselulosa (Pal dan Gardener 2006). Beberapa di antara enzim tersebut berpengaruh pada aktivitas hiperparasit. Beberapa spesies *Bacillus* dapat menghasilkan berbagai enzim, di antaranya protease, penisilianase, nuklease, fosfatase, lipase, fosfolipase C, tiaminase, dan enzim bakteriolik (Slepecky dan Hemphill 2006). *Bacillus* galur B8 dan B11 menghasilkan enzim protease dan kitinase yang dapat mengganggu perkembangan patogen (Rahayuniati dan Mugiastuti 2012). *Trichoderma* sp. galur jahe mampu menghasilkan enzim kitinase dan protease (Soesanto *et al.* 2012). Adanya

beragam senyawa yang saling bersinergi dapat mengurangi kemampuan virulensi patogen.

Perlakuan campuran mikrob antagonis berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, bobot segar tajuk, bobot segar akar dan bobot buah tomat (Tabel 2). Perlakuan campuran *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp. mampu meningkatkan tinggi tanaman, bobot segar tajuk, dan bobot segar akar berturut-turut sebesar 24.53%, 61.06% dan 23.72% dibandingkan dengan kontrol, bahkan lebih baik dibandingkan dengan perlakuan streptomisin sulfat 20%.

Terhadap komponen hasil tanaman, perlakuan campuran *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp. memiliki bobot buah yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya atau mampu meningkatkan bobot buah sebesar 14.99% dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan campuran mikrob antagonis *Bacillus* galur B8 + *P. flourescens* P8 + *Trichoderma* sp. dan perlakuan streptomisin sulfat 20% belum mampu meningkatkan bobot buah (Tabel 2).

Campuran *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp. mampu

Tabel 1 Campuran *Bacillus* galur B8 dan B11, *P. flourescens* P8 dan *Trichoderma* sp. terhadap masa inkubasi, insidensi penyakit, dan keefektifan pengendalian penyakit layu bakteri tomat

| Perlakuan | Masa inkubasi (HST) | Insidensi penyakit (%)* | Keefektifan pengendalian (%) |
|---|---------------------|-------------------------|------------------------------|
| Kontrol (tanpa pengendalian) | 23.28 a | 31.86 b | - |
| <i>Bacillus</i> galur B8 + <i>Bacillus</i> galur B11 + <i>Trichoderma</i> sp. | 29.48 b | 27.90 a | 12.43 |
| <i>Bacillus</i> galur B8 + <i>P. flourescens</i> P8 + <i>Trichoderma</i> sp. | 25.40 a | 29.16 a | 8.47 |
| Streptomisin sulfat 20% | 28.10 b | 28.62 a | 10.17 |

Angka pada kolom yang sama dan diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT α 5%; HST: hari setelah tanam; *saat tanaman berumur 60 HST.

Tabel 2 Campuran *Bacillus* galur B8 dan B11, *P. flourescens* P8, dan *Trichoderma* sp. terhadap tinggi tanaman, bobot segar tajuk, bobot segar akar dan bobot buah tomat.

| Perlakuan | Tinggi tanaman (cm) | Bobot segar tajuk (g) | Bobot segar akar (g) | Bobot buah (g) |
|---|---------------------|-----------------------|----------------------|----------------|
| Kontrol (tanpa pengendalian) | 79.24 a | 158.36 a | 12.09 a | 357.43 a |
| <i>Bacillus</i> galur B8 + <i>Bacillus</i> galur B11 + <i>Trichoderma</i> sp. | 98.68 c | 255.06 b | 15.85 b | 411.82 b |
| <i>Bacillus</i> galur B8 + <i>P. flourescens</i> P8 + <i>Trichoderma</i> sp. | 87.34 ab | 136.54 a | 12.90 ab | 388.14 ab |
| Streptomisin sulfat 20% | 90.54 bc | 148.93 a | 13.13 ab | 371.47 ab |

Angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT α 5%.

meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman tomat. Hal ini disebabkan kemampuannya dalam menunda masa inkubasi dan menekan insidensi penyakit sehingga tanaman dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik. Di samping itu, campuran mikrob antagonis tersebut juga dapat bertindak sebagai PGPR yang ditunjukkan oleh bobot segar akar yang tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Mikrob antagonis mampu memacu pertumbuhan tanaman dengan mekanisme yang beragam, yaitu meningkatkan kelarutan dan serapan unsur hara nitrogen, fosfor, kalium serta besi; meningkatkan sintesis fitohormon auksin, sitokinin, dan giberelin; serta memperbaiki perakaran tanaman (Ahmad dan Kibret 2014; Sivasakthi *et al.* 2014). IAA akan memengaruhi panjang akar, luas permukaan akar dan jumlah ujung akar (Viti *et al.* 2010).

Dengan demikian, campuran *Bacillus* galur B8 + *Bacillus* galur B11 + *Trichoderma* sp. berpotensi digunakan dalam pengendalian penyakit layu pada tanaman tomat. Hal ini dikaitkan dengan kemampuannya menunda masa inkubasi, menekan insidensi penyakit, serta mampu meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DPRM Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini, dengan nomor kontrak 11007/UN23.14/PN/2017 .

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Kibret M. 2014 Mechanism and application of plant growth promoting rhizobacteria : current prespective. J King Saud Univ Sci. 26:1–20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.
- Fickers P. 2012. Antibiotic compounds from *Bacillus*: why are they so amazing?. Am J Biochem Biotechnol. 8(1):38–43. DOI: <http://doi.org/10.3844/ajbbsp.2012.40.46>.
- Hamedo HA, Maklouf AM. 2016. Biological defence of some bacteria against tomato wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*. Minia Sci Bull. 27(2):26–40.
- John RP, Tyagi RD, Prévost D, Brar SK, Pouleur S, Surampalli RY. 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. Crop Prot. 29(12):1452–1459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.08.004>.
- Manan A, Munadjat A. 2015. Peningkatan kemampuan mikroba antagonis untuk mengendalikan sinergi *Meloidogyne incoqnita*, *Fusarium oxysporum*, *Ralstonia solanacearum* pada tanaman tomat. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Purwokerto (ID): Fakultas Pertanian Unsoed.
- Mugiastuti E, Rahayuniati RF, Sulistyanto P. 2012. Pemanfaatan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* untuk mengendalikan penyakit layu tomat akibat sinergi *R. solanacaerum* dan *Meloidogyne* sp. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan II*. 2012 Nov 27–28; Purwokerto (ID): Universitas Jenderal Soedirman. hlm 72–77.
- Nega A. 2014. Review on concepts in biological control of plant pathogens. J Biol Agric Healthcare. 4(7):33–54.
- Pal KK, Gardener BM. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor. 2:1117–1142. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02>.
- Purnawati A, Sastrahidayat IR, Abadi A, Hadiastono T. 2014. Endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease. JTLS. 4(1):33–36. DOI: <https://doi.org/10.11594/jtls.04.01.06>.
- Rahayuniati RF, Mugiastuti E. 2012. Kefektifan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* mengendalikan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* dan *Meloidogyne* sp. penyebab penyakit layu pada tomat secara *in vitro*. J Pembangunan Pedesaan. 12(1):65–70.
- Sivasakthi S, Usharani G, Saranraj P. 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas*

- fluorescens* and *Bacillus subtilis*: a review. Afr J Agric Res. 9(16):1265–1277. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>.
- Soesanto L, Sudarmono, Prihatiningsih N, Manan A, Iriani E, Pramono J. 2012. Potensi agensia hayati dan nabati dalam mengendalikan penyakit busuk rimpang jahe. JHPT Tropika. 5(1):50–57.
- Slepecky RA, Hemphill HE. 2006. The genus *Bacillus*—nonmedical. Di dalam: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editor. *The prokaryotes* (pp. 530-562). New York (US): Springer. DOI: https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_16.
- Viti C, Tatti E, Decorosi F, Lista E, Rea E, Tullio M, Sparvoli E, Giovannetti L. 2010. Compost effect on plant growth-promoting rhizobacteria and mycorrhizal fungi population in maize cultivations. Compost Sci Utiliz. 18(4):273–281. DOI: <https://doi.org/10.1080/1065657X.2010.10736966>.