

KAJIAN ANTIFUNGAL *Bacillus subtilis* BR2 TERHADAP PENYEBAB PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG KELAPA SAWIT (*Ganoderma* sp.)

Rustam

Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Riau,

Jl. Kaharuddin Nasution No. 341 Pekanbaru, Telp 0761-674206 email rustamriau@gmail.com

ABSTRAK

Bacillus subtilis BR2 merupakan bakteri antagonis yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan beberapa cendawan patogen seperti *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium maydis*, *Pyricularia oryzae*, dan *Rhizoctonia solani*, masing-masing sebagai penyebab penyakit layu pada tanaman semangka, bercak daun pada tanaman jagung, blast pada tanaman padi, dan hawar daun tanaman padi. Penelitian bertujuan mengetahui kemampuan *B. subtilis* BR2 menekan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kelapa sawit. Penelitian dilakukan di tingkat *in vitro*, dengan menguji daya hambat *B. subtilis* BR2 pada medium padat dan cair. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *B. subtilis* BR2 mampu menekan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp., dengan persentase hambatan 80% pada medium padat dan 78-97% pada medium cair. Dengan demikian, isolat *B. subtilis* BR2 memiliki mekanisme antibiosis disamping mekanisme antagonis lainnya dalam menghambat pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp.

Kata kunci: *Bacillus subtilis*, kelapa sawit, busuk pangkal batang, *Ganoderma* sp.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan jenis tanaman perkebunan andalan Indonesia saat ini. Luas tanaman kelapa sawit secara nasional hampir mencapai 10,5 juta ha, dengan daerah perkebunan utama kelapa sawit berada di Provinsi Riau (2,19 juta ha), Sumatera Utara (1,34 juta ha), Kalimantan Tengah (1,1 juta ha), dan Sumatera Selatan (1,06 juta ha) (BPS 2015). Perkebunan kelapa sawit telah mampu menyerap tenaga kerja yang banyak, meningkatkan pendapatan dan kesejahteraan masyarakat, dan menjadikan Indonesia sebagai produsen utama CPO dunia.

Luasnya perkebunan kelapa sawit di Indonesia juga mengandung potensi ancaman ledakan serangan hama dan penyakit. Hal ini mengingat karakteristik budidaya tanaman kelapa sawit biasanya ditanam secara monokultur dengan hamparan pertanaman yang sangat luas, pertanaman monokultur dengan umur tanaman relatif dalam, dan penggunaan input produksi seperti varietas yang relatif seragam, insektisida, herbisida, serta pupuk anorganik secara terus menerus. Kondisi ini akan memicu timbulnya ledakan serangan penyakit seperti terjadi di Irlandia tahun 1845-1860, muncul epidemi penyakit *late blight*

(bercak daun) pada kentang yang disebabkan oleh cendawan *Phytophthora infestans* (Agrios 2005).

Penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh cendawan *Ganoderma* sp. merupakan salah satu penyakit utama yang menyebabkan kerugian besar di perkebunan kelapa sawit, khususnya di Indonesia dan Malaysia (Darmono 1998). Di beberapa perkebunan kelapa sawit, penyakit dapat menyebabkan kerusakan hingga 80% (Susanto 2011). Gejala penyakit biasanya terlihat setelah 6-12 bulan setelah infeksi (Darmono 1996). Pangkal batang tanaman terinfeksi akan membusuk dan tumbang sebelum masa produktif berakhir. Selama ini serangan cendawan banyak terjadi pada tanaman yang sudah tua tetapi belakangan ini serangan cendawan juga diditemukan pada tanaman stadia pembibitan (Naher *et al.* 2013)

Penggunaan bakteri antagonis, seperti *B. subtilis* BR2 untuk mengendalikan penyakit busuk pangkal batang tanaman kelapa sawit merupakan salah satu teknik pengendalian secara hayati (*biological control*). Penggunaan mikroba antagonis lain yang pernah dilakukan terhadap penyebab penyakit busuk pangkal kelapa sawit adalah menggunakan *Trichoderma harzianum* (Nur Ain Izzati and Abdullah, 2008). Teknik pengendalian ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan teknik pengendalian secara kimia, diantaranya: bersifat ramah lingkungan, pengendalian dapat bersifat permanen, dapat memperbanyak sendiri, dan relatif mudah diterapkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi secara *in vitro* penggunaan *B. subtilis* BR2 dalam menekan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kelapa sawit.

BAHAN DAN METODE

Persiapan isolat antagonis dan patogen

Bakteri antagonis *B. subtilis* BR2 (isolat BR2) merupakan koleksi isolat penulis sendiri yang diisolasi dari perakaran rumput-rumputan di daerah Ciampoa, Bogor. Isolat tersebut telah diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan beberapa cendawan patogen seperti *Fusarium oxysporum* (penyebab penyakit layu pada tanaman semangka), *Helminthosporium maydis* (penyebab penyakit bercak daun pada tanaman jagung), *Pyricularia oryzae* (penyebab penyakit blast pada tanaman padi), dan *Rhizoctonia solani* (penyebab penyakit hawar daun pada tanaman padi) (Rustam, 2011).

Tabel 1. Beberapa karakter morfologi dan biokimia isolat BR2

Karakteristik	Isolat BR2
Morfologi koloni	
- Ukuran (mm)	4
- Bentuk	Tidak beraturan
- Elevasi	Datar
- Pinggiran	Berombak
- Warna	putih susu
- Permukaan	Licin
Morfologi sel	Batang
Reaksi Gram	+
Ukuran sel (μm)	0,25 x 1,75
Endospora	+ (terminal)
Motil	Tidak
Biokimia	
- Uji kitinase	+
- Uji katalase	+
- Uji sitrat	-
- Dekarboksilase (lisin)	Non enterobakter
- Produksi H ₂ S	-
- Uji indol	-
- Uji metil red	+
- Motilitas	-
- Reduksi nitrat	+
- Hidrolisis urea	-
- Voges-Proskauer	-
- Glukosa	+
- Sukrosa	+
- Dekstrosa	-
- Sorbitol	-
- Manitol	+
- Fitotoksisitas	-
- Produksi siderofor	+
- Pelarutan fosfat	+

Keterangan: + = terjadi reaksi, - = tidak ada reaksi

Sumber: Rustam (2011) dan Rustam (2012).

Berdasarkan hasil karakterisasi sekuens 16S rRNA ternyata isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* (Rustam *et al.*, 2011). Adapun beberapa karakter morfologi dan biokimia isolat *B. subtilis* BR2 disajikan pada Tabel 1. Sementara itu isolat cendawan penyebab penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit (*Ganoderma* sp.) diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikologi, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor.

Daya hambat isolat BR2 pada medium padat (PDA)

Pengujian daya hambat isolat BR2 terhadap patogen (*Ganoderma* sp.) dilakukan dengan menggunakan metode biakan ganda pada medium PDA. Potongan koloni cendawan *Ganoderma* sp. dengan diameter 0,5 cm dipindahkan pada medium PDA dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri. Sebagai perlakuan, pada arah berlawanan dengan jarak 3 cm dari tepi

cawan petri dipindahkan sebanyak 10 µl suspensi biakan isolat BR2 (populasi 10⁶ sel/ml) atau isolat *Escheria coli* DH5α yang tidak memiliki gen penyandi antibiosis, tidak mengekspresikan senyawa antibiotik (koleksi Laboratorium Bakteriologi, Departemen Proteksi Tanaman). Pengujian dilakukan sebanyak 5 ulangan. Persentase daya hambat isolat BR2 terhadap pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase daya penghambatan} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan: R1 = jari-jari pertumbuhan cendawan ke arah tepi cawan petri

R2 = jari-jari pertumbuhan cendawan ke arah bakteri

Daya hambat biakan isolat BR2 pada medium cair (PDB)

Potongan koloni cendawan patogen (*Ganoderma* sp.) berdiameter 0,5 cm dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer 250 ml yang telah berisi 50 ml medium potato dekstroza broth (PDB). Untuk perlakuan ditambahkan 1,5 ml suspensi biakan isolat BR2 (10⁶ sel/ml) atau isolat *E. coli* DH5α. Sedangkan untuk kontrol ditambahkan 1,5 ml akuades steril. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 ulangan. Sediaan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 hari. Pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. ditentukan dengan mengukur berat basah dan berat kering koloni cendawan pada hari terakhir inkubasi. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis menggunakan sidik ragam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

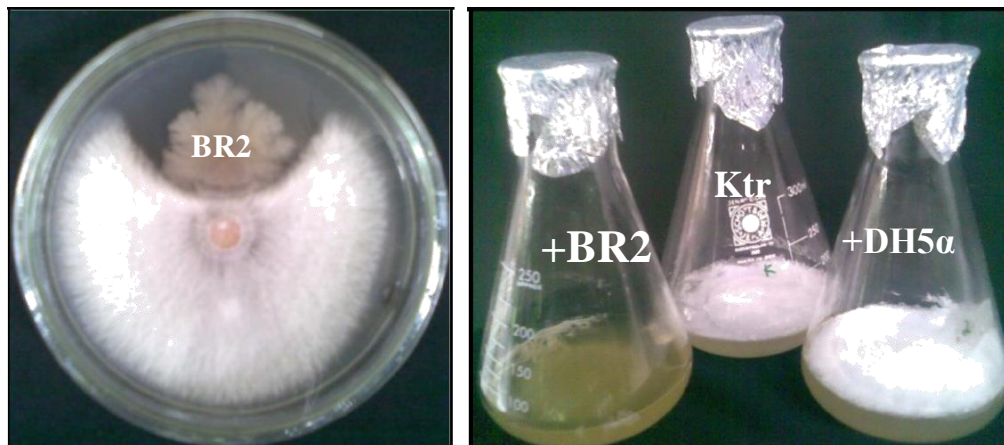
Hasil

Daya hambat isolat BR2 pada medium padat (PDA)

Isolat BR2 ternyata mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. Pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. terhambat hingga 80% oleh perlakuan isolat BR2. Sebaliknya penghambatan pertumbuhan *Ganoderma* sp. tidak terjadi oleh perlakuan isolat DH5α dan kontrol (Tabel 1 dan Gambar 1). Hal ini membuktikan bahwa isolat BR2 memiliki sifat antifungal terhadap cendawan *Ganoderma* sp. penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kelapa sawit.

Tabel 1. Daya hambat isolat BR2 terhadap pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp.

Perlakuan	Daya hambat (%)
Biakan isolat BR2	80
Biakan isolat DH5α	0
Kontrol (tanpa isolat bakteri)	0



Gambar 1. Performan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. pada medium padat (kiri) dan medium cair (kanan) setelah diberi perlakuan isolat BR2 atau DH5α

Daya hambat isolat BR2 pada medium cair (PDB)

Isolat BR2 ternyata juga menekan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. dalam medium cair. Penekanan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. oleh isolat BR2 ditunjukkan dengan berkurangnya berat basah dan berat kering koloni cendawan yang diperoleh. Adapun berat basah dan berat kering koloni cendawan *Ganoderma* sp. yang diperoleh dari perlakuan isolat BR2 masing-masing 0,4 gr dan 0,11 gr (Tabel 2). Dengan demikian terjadi penghambatan pertumbuhan koloni cendawan *Ganoderma* sp. oleh isolat BR2 sebesar 97 % dan 78 %, masing-masing berdasarkan berat basah dan berat kering koloni cendawan.

Tabel 2. Berat basah dan berat kering miselium cendawan *Ganoderma* sp. setelah diinkubasi selama 10 hari dalam medium cair untuk masing-masing perlakuan

Perlakuan	Berat basah (gr)	Berat kering (gr)
BR2	0,40 a	0,11 a
DH5α	7,70 b	0,46 b
Kontrol	7,71 b	0,50 b

Angka-angka pada lajur yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Pembahasan

Isolat BR2 secara konsisten menghambat pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. baik pada medium padat maupun pada medium cair. Penghambatan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. dikarenakan isolat BR2 menghasilkan senyawa antifungal. Hal ini sejalan dengan hasil pengujian Rustam (2011) bahwa isolat BR2 memiliki sifat kitinolitik dan antagonis terhadap cendawan *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxisporum*, dan *Helminthosporium maydis*, masing-masing sebagai penyebab penyakit hawar pelepah pada tanaman padi, penyebab penyakit layu pada tanaman melon, dan penyebab penyakit bercak

daun pada tanaman jagung. Daya hambat isolat BR2 terhadap cendawan-cendawan tersebut sekitar 36-52%. Hal yang sama dilaporkan Szczech and Shoda (2005) bahwa *Bacillus subtilis* RB14-C dapat menekan perkembangan cendawan *R. solani* dan beberapa mikroba tanah lainnya.

Beberapa hasil penelitian penggunaan mikroba antagonis untuk pengendalian *Ganoderma* sp. menunjukkan keberhasilan. Wibowo (2011) melaporkan bahwa isolat bakteri BK17 cukup efektif menekan pertumbuhan penyebab busuk pangkal batang tanaman kelapa sawit yang disebabkan oleh *Ganoderma boninense* Pat. Namun belum dilaporkan hasil identifikasi isolat bakteri BK17 tersebut. Rustam *et al.* (2011) dan Rustam (2012) menginformasikan bahwa berdasarkan analisis sekuens 16S rRNA, sifat morfologi, biokimia, dan karakter pertumbuhannya maka isolat BR2 yang memiliki sifat antifungal terhadap cendawan *Ganoderma* sp. teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis*. Sementara itu penelitian penggunaan mikroba lainnya dilakukan oleh Herliyana *et al.* (2011) yang mendapatkan cendawan *Trichoderma* T38 dan T39 memiliki sifat antifungal terhadap beberapa isolat *Ganoderma*.

Senyawa antifungal dapat diproduksi oleh isolat BR2 baik pada medium padat maupun pada medium cair. Efikasi senyawa antifungal yang dihasilkan isolat BR2 dalam medium cair dilaporkan Rustam (2013), bahwa aktifitas antifungal isolat BR2 meningkat hingga 72 jam pertama, mengikuti peningkatan pertumbuhan sel bakteri tersebut. Hasil penelitian Liu *et al.* (2007) menyimpulkan bahwa pertumbuhan sel bakteri antagonis *Acinetobacter baumannii* LCH001 berkorelasi erat dengan aktivitas antifungalnya. Lebih jauh dilaporkan Rustam (2013a) bahwa senyawa antifungal pada isolat BR2 dapat diekstrak menggunakan pelarut etil asetat dengan daya hambat ekstrak ini hampir 78% terhadap cendawan *R. solani*. Adapun nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak etil asetat sebesar 10 mg/l (10⁻³ %). Namun stabilitas senyawa antifungal tersebut sangat dipengaruhi oleh suhu, yakni semakin tinggi suhu maka aktifitas senyawa antifungal juga menurun. Sebaliknya stabilitas senyawa antifungal relatif stabil pada kondisi asam, netral, dan basa (Rustam 2013b).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat *Bacillus subtilis* BR2 dapat menekan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman sawit. Potensi penghambatan pertumbuhan cendawan *Ganoderma* sp. oleh isolat *B. Subtilis* BR2 secara *in vitro* sekitar 78-97%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Ed ke-5. San Diego: Academic Press.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2015. Luas Tanaman Perkebunan Menurut Propinsi dan Jenis Tanaman, Indonesia (000 Ha), 2012-2014*. <http://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/838>. (30 September 2015).
- Darmono TW. 1996. Pendekatan bioteknologi untuk mengatasi masalah penyakit Busuk Pangkal Batang Kelapa Sawit Akibat Serangan *Ganoderma* Warta Puslit Biotek Perkebunan 1, 17-25.

- Darmono TW. 1998. Development and survival of *Ganoderma* sp. In oil palm tissue. International Oil Palm Conference. Bali, Indonesia: Indonesian Oil Palm Research Institute.
- Herliyana EN, Darmono TW, Minarsih H, Firmansyah MA, Dendang B. 2011. Pengendalian serangan *Ganoderma* spp. (60-80%) pada tanaman sengon sebagai pelindung tanaman kopi dan kakao. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 16: 14-27.
- Liu CH, Chen X, Liu TT, Lian B, Yucheng Go, Caer V, Xue YR, Wang BT. 2007. Study of the antifungal activity of *Acinetobacter baumannii* of its antifungal components. *Appl Microbiol Biotechnol* 76: 459-466.
- Naher L, Yusuf UK, Ismail A, Tan SG, Mondal MMA. 2013. Ecological status of *Ganoderma* and basal stem rot disease of oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.). *AJCS* 7 : 1723-1727.
- Nur Ain Izzati MZ, Abdullah F. 2008. Disease suppression *Ganoderma*-infected oil palm seedlings treated with *Trichoderma harzianum*. *Plant Protect. Sci.* 44: 101-107.
- Rustam, Giyanto, Suryo Wiyono, Dwi Andreas Santosa, Slamet Susanto. 2011. Seleksi dan identifikasi bakteri antagonis sebagai agens pengendali hayati penyakit hawar pelepah padi. *Jurnal Penelitian Pertanian* 30 (3): 164-171.
- Rustam. 2011. Potensi isolat *Bacillus* yang bersifat kitinolitik sebagai agens hayati dan produksi massal pada limbah organik. Di dalam Prosiding Seminar Nasional, Inovasi Teknologi Pertanian Spesifik Lokasi, Bogor, 19-20 Nopember 2011.
- Rustam. 2012. Characterization and Identification of Bacteria as Biological Agents to Control the Rice Sheath Blight Disease. Prosiding International Seminar of Rice Technology Innovation for Increasing Production and Conserving Enviroment Under, Global Climate Change, Subang-Indonesia, July 11-12, 2012.
- Rustam. 2013a. Efikasi senyawa bioaktif anticendawan *Bacillus subtilis* BR2 terhadap pertumbuhan *Rhizoctonia solani* penyebab penyakit hawar pelepah padi. Di dalam Prosiding Seminar Nasional: Akselerasi Inovasi dan Diseminasi Teknologi Menuju Kemandirian dan Ketahanan Pangan Berbasis Sumberdaya Genetik Lokal, Palu, 18 Maret 2013. Bogor: Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian.
- Rustam. 2013b. Fitotoksisitas dan stabilitas senyawa bioaktif anticendawan dari beberapa isolat bakteri agens hayati terhadap penyebab penyakit hawar pelepah padi. Di dalam Prosiding Seminar Nasional: Akselerasi Inovasi dan Diseminasi Teknologi Menuju Kemandirian dan Ketahanan Pangan Berbasis Sumberdaya Genetik Lokal, Palu, 18 Maret 2013. Bogor: Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian.
- Susanto A. 2011. Ganoderma di perkebunan kelapa sawit dari waktu ke waktu. Simposium Nasional dan Lokakarya Ganoderma: Sebagai Patogen Penyakit Tanaman dan Bahan Baku Obat Tradisional. Bogor, 2-3 November 2011.
- Szczecz M, Shoda M. 2005. The influence of *Bacillus subtilis* RB14-C on the development of *Rhizoctonia solani* and indigenous microorganisms in the soil. *Canadian Journal of Microbiology* 51: 405-411.
- Wibowo RH. 2011. Pengendalian serangan busuk pangkal batang (*Ganoderma boninense* Pat.) pada bibit tanaman kelapa sawit (*elaeis guineensis* Jacq.) menggunakan isolat bakteri kitinolitik. Tesis Universitas Sumatera Utara.