

Efikasi In Vivo Pelet *Erwinia* sp BST4 Dan *Trichoderma harzianum* Bt1 Dalam Menekan Infeksi *Phytophthora capsici* Pada Lada

Karden Mulya, Rita Noveriza dan Dyah Manohara

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

ABSTRAK

Penyakit busuk pangkal batang lada yang disebabkan *Phytophthora capsici* L merupakan salah satu kendala utama dalam budidaya lada. Karena gejala awal dari penyakit sulit dideteksi, pengendalian yang sifatnya kuratif sering gagal. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan agens hayati *Trichoderma harzianum* dan *Erwinia* sp BST4 dalam bentuk pelet terhadap perkembangan *Phytophthora capsici*. Pengujian sifat antagonis dilakukan dengan metode kultur berpasangan. Agens hayati bakteri diidentifikasi atas dasar sifat fisiologis dan biokimia. Formulasi pelet untuk *T. harzianum* digunakan sebagai formulasi standar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Erwinia* sp. BST4 dapat bertahan hidup dalam pelet *T. harzianum* Bt1 tanpa mengganggu pertumbuhan *T. harzianum* Bt1. Pada pengujian *in vivo* terlihat bahwa dalam satu bulan setelah aplikasi pelet *T. harzianum* atau pelet *Erwinia* sp. masing-masing pada dosis 10 g/200 g inokulum dapat menekan persentase kolonisasi *P. capsici* pada daun lada dapat ditekan, namun, kemampuan tersebut menurun apabila *T. harzianum* dicampur dengan *Erwinia* sp. dalam satu pelet.

Kata kunci : *Phytophthora capsici*, busuk pangkal batang lada, pengendalian hayati, *Trichoderma harzianum*, *Erwinia* sp.

ABSTRACT

Foot rot disease of pepper caused by *Phytophthora capsici* is a limiting factor in pepper cultivation. Since initial symptom of the disease was difficult to be observed, it was

commonly fail on application curative treatment. This study was aimed to test the ability of a mixture biocontrol agents formulated as pellet. Antagonistic activity was tested on dual culture. Bacterial antagonists were identified based on physiological and biochemical characters. Pellet formulation for *Trichoderma harzianum* Bt1 was used as basic formulation. Results showed that *Erwinia* sp. BST4 viable in pellet formulation without affected the growth of *T. harzianum* Bt1. In *in vivo* test, at one month after application of pellet, *T. harzianum* pellet or *Erwinia* sp. at the rate of 10 g/200 g inoculum inhibited the percentage of colonization of *P. capsici* on pepper leaves. However, this capacity will decrease when *T. harzianum* was mixed with *Erwinia* sp. in the same pellet.

Key words : *Phytophthora capsici*, pepper foot rot, biocontrol, *Trichoderma harzianum*, *Erwinia* sp.

PENDAHULUAN

Penyakit busuk pangkal batang lada merupakan salah satu kendala utama pada budidaya lada. Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Phytophthora capsici* L. Patogen hidup di tanah dan menginfeksi akar tanaman lada. Infeksi kadang-kadang terjadi pada pangkal batang. Gejala layu tampak apabila tanaman telah mengalami infeksi yang parah. Untuk itu pengendalian yang sifatnya kuratif sering mengalami kegagalan. Pemakaian fungisida yang

sifatnya sistemik sering tidak terjangkau harganya di tingkat petani, sedangkan pemakaian fungisida non-sistemik sulit dilakukan pada tanaman yang sudah memperlihatkan gejala penyakit.

Menurut Schwinn (1983) senyawa beracun yang digunakan untuk mengendalikan penyakit akibat serangan *Phytophthora* sp dapat mencapai sepertiga dari jumlah fungisida yang dipasarkan. Pemakaian fungisida yang berlebihan tidak saja tidak ekonomis tetapi sering menimbulkan masalah lingkungan, seperti munculnya resistensi patogen terhadap fungisida dan efek residu yang mencemari produk atau lingkungan.

Salah satu alternatif dalam pengendalian penyakit busuk pangkal batang lada adalah pengendalian penyakit terpadu. Salah satu diantara komponennya adalah pengendalian hayati dengan pemanfaatan bioagensia. Bioagensia *Trichoderma harzianum* telah dilaporkan efektif untuk pengendalian jamur patogen (Manohara dan Wahyuno, 1995) dan telah ditemukan formulasi yang baik untuk memproduksi biomass agensia hayati tersebut (Manohara *et al.*, 1999).

Pemakaian bioagensia tunggal dapat ditingkatkan efisiensinya dengan gabungan beberapa agen hayati yang sifatnya sinergis (Kijima, 1992). Daya sinergis pada pemanfaatan bioagensia dapat terjadi karena saling mendukung diantara kedua mikroba, adanya perbedaan habitat hidup, ada perbedaan pengaruh yang ditimbulkan masing-masing bioagensia terhadap lingkungan tanaman atau tanaman itu sendiri. Hasil penelitian sebelumnya telah ditemukan beberapa isolat bakteri dari risosfer

tanaman lada dan tanaman lainnya (Mulya *et al.*, 1999). Beberapa diantaranya secara *in vitro* bersifat kompatibel dengan *T. harzianum* (Noveriza *et al.*, 1999). Untuk itu, pada penelitian ini dilakukan pengkajian lanjutan dalam upaya membuat pelet agen hayati tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan pelet campuran *T. harzianum* dengan agen hayati bakteri yang kompatibel untuk menekan kolonisasi *P. capsici*.

BAHAN DAN METODA

Identifikasi Bakteri Antagonis

Identifikasi didasarkan atas sifat fisiologis dan biokimia dari bakteri mengacu kepada prosedur identifikasi menurut Bergey's Manual for Bacteria Nomenclatur. Sifat fisiologis meliputi pewarnaan gram, pertumbuhan pada suhu 30°C, katalase, glukose, motility, citrate, VP, MR test dan gelatin liquefaction. Pengujian biokomia meliputi pengujian pertumbuhan pada berbagai gula.

Pembuatan Pelet

Pelet terdiri atas dedak(15 g), tanah latosol (75 gr) yang telah dioven pada suhu 160°C selama 2 jam, air destilat 120 ml. Campuran tersebut disterilisasi selama 30 menit pada suhu 121°C. Jamur *T. harzianum* B11 dibiakan pada media agar kentang-dekstrosa (200 g kentang, 20 dekstrosa, dan 20 g Bacto Agar; pH 6.8) selama lima hari di bawah penyinaran lampu TL secara terus-menerus. Spora jamur dipanen dengan cara menyemprotan air destilat steril ke atas permukaan biakan. Bakteri dibiakan pada media agar-

sukrosa-pepton pada suhu 28°C selama 2 hari. Suspensi bakteri diperoleh dengan cara menuangkan air destilat kedalam petri kultur. Pensuspension koloni bakteri dibantu dengan menggunakan peng aduk kaca steril. Kedalam 80 g formulasi pelet diberikan 5.6 ml suspensi spora *T. harzianum* (3.2×10^8 spora/ml), 2.8 ml suspensi bakteri *Erwinia* sp. BST4 (4×10^8 cfu/ml) atau campuran kedua agensia hayati tersebut dan diperkeras dengan larutan 2% alginate. Setelah pengeringan dalam kondisi suhu ruang sampai mencapai kandungan air yang diinginkan, pelet disimpan dalam bungkus plastik sampai siap digunakan dan dipelajari beberapa karakternya.

Pembuatan Inokulum *P. capsici*.

Media untuk perbanyakan terdiri atas tanah dan jagung (w/w, 50:50) ditambah 70 ml air untuk setiap 100 g campuran tersebut, kemudian di sterilkan pada suhu 121°C selama 30 menit. Biakan jamur patogen pada media V-8 juice dipindahkan ke media perbanyakan. Campuran diinkubasikan pada suhu ruang di bawah penyinaran lampu TL terus menerus. Setelah masa inkubasi selama 5 minggu, inokulum dipanen dan dicampur dengan tanah steril dengan perbandingan 1:3.

Uji *in vivo* pelet

Sebanyak 200 g inokulum di campur dengan tanah steril di dalam gelas plastik. Tujuh macam perlakuan yang terdiri atas perlakuan tanpa pelet, pemberian 1 dan 10 g pelet *T. harzianum* B11 dan 10 g pelet *Erwinia* sp. BST4 serta 1 dan 10 g pelet campuran antara *T. harzianum* dan *Erwinia* sp. BST4 ditambahkan pada

inokulum *P. capsici*. Setiap perlakuan terdiri dari 10 gelas inokulum dengan ulangan 4 kali. Satu minggu setelah pemberian pelet dilakukan baiting dengan potongan daun lada berukuran 1 x 1 cm. Selanjutnya baiting dilakukan pada 1, 2, 3 dan 4 bulan setelah baiting pertama.

Baiting *Phytophthora capsici*

Potongan daun lada varietas LDL dimasukkan ke dalam pot-pot per cobaan. Setiap pot diisi 10 potongan daun. Setelah diinkubasi selama 2 hari, potongan daun lada diangkat dan diamati pembusukan dan keberadaan *P. capsici* di bawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Agen Hayati

Isolat BST4 termasuk bakteri gram negatif berbentuk batang yang tidak dapat tumbuh pada suhu di atas 37°C, oksidase negatif, OF positif, katalase positif, dan VP test positif, dapat mencairkan gelatin, dapat menggunakan glukose, adonitol, arabinose, manitol, manitol, raffinose, rhamnose, salikin, sukrose, trehalose, dan xylose sebagai sumber karbon tetapi tidak dapat menggunakan dulkitol, laktose, malonat, arginin dan sorbitol sebagai sumber karbon. Hasil analisis dibandingkan dengan standar identifikasi. Hasil perbandingan sementara menunjukkan bahwa BST 4 adalah *Erwinia* sp. Konfirmasi lebih lanjut mengenai identitas bakteri ini perlu dilakukan untuk memperoleh kepastian. Bakteri *E. herbicola* (Lohnis) Dye dilaporkan efektif mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman mentimun (Snehet *al.*,

1984). Menurut Nelson (1988) *E. herbicola* menekan kolonisasi jamur *Phytium* spp. pada kecambah benih kapas. Rendahnya kolonisasi kecambah benih kapas tersebut berkorelasi positif dengan penekanan penyakit patah rebah yang disebabkan oleh jamur patogen tersebut.

Karakter Pelet

Dalam penelitian ini dibuat 3 jenis pelet yaitu pelet jamur yang mengandung *T. harzianum* Bt1, pelet bakteri yang mengandung *Erwinia* sp. BST4 dan pelet campuran. Karakterisasi dari pelet tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Pelet *T. harzianum* Bt1 dan *Erwinia* sp. BST4

Table 1. Characterization of pellet of *T. harzianum* Bt1 and *Erwinia* sp. BST4

Karateritik <i>Characteristics</i>	Pelet Jamur <i>Fungal pellet</i>	Pelet Bakteri <i>Bacterial pellet</i>	Pelet Campuran <i>Mixed pellet</i>
Kadar kekeringan <i>Drying point*</i>	28.86%	29.40%	28.69%
Pertumbuhan Jamur Lain <i>Fungal contaminat</i>	0	Ada Present	0
Pertumbuhan antagonis <i>Growth of antagonist</i> = <i>T. harzianum</i>	Banyak <i>Abundant</i>	0	Banyak <i>Abundant</i>
= <i>Erwinia</i> sp.**	0	1:111	1:132

* Dihitung sebagai persentase kehilangan berat setelah pengeringan ** Dihitung sebagai rasio antara populasi awal dengan populasi setelah pengeringan. * *Calculated as loss of weight after drying* ** *calculated as ratio between initial population and population after drying*

Pada Tabel 1 terlihat bahwa proses pengeringan tidak menurunkan populasi bakteri antagonis. Proses pengeringan sampai penurunan bobot 28-29% diduga masih dapat memberikan kelembaban yang cukup untuk bertahan hidup bagi bakteri. Penambahan bakteri *Erwinia* sp. BST4 tidak mempengaruhi pertumbuhan *T. harzianum* yang ditunjukkan dengan tidak terganggunya sporulasi jamur

pada permukaan pelet. Hal ini sejalan dengan percobaan *in vitro* yang menunjukkan bahwa *Erwinia* sp. BST4 kompatibel dengan *T. harzianum*.

Hasil uji *in vivo* dari pelet

Pada satu minggu setelah aplikasi pelet, persentase baiting daun lada yang terinfeksi *P. capsici* tidak beda nyata antara jenis dan dosis pelet yang diaplikasikan. Hal ini dapat dipahami karena konsentrasi inokulum dalam tanah sangat tinggi. Pada waktu satu bulan setelah baiting pertama terlihat bahwa persentase kolonisasi *P. capsici* pada daun baiting nyata turun dengan penambahan pelet *T. harzianum* atau

pelet *Erwinia* sp. BST4 dibandingkan dengan perlakuan lain. Pada dosis 10 g/pot, pelet *T. harzianum* menekan infeksi sekitar 17.5% nyata lebih baik dari pelet *Erwinia* sp. yang hanya mampu menekan 7.5%. Hasil ini menunjukkan bahwa *Erwinia* sp. BST4 memiliki potensi yang lebih rendah dibandingkan dengan *T. harzianum* dalam menekan infeksi lada oleh *P. capsici*.

Tabel 2. Kolonisasi *P. capsici* pada baiting daun lada di bawah pengaruh pemakaian pelet
 Table 2. Colonization of *P. capsici* on baiting with pepper leaves under effect of pellet

Perlakuan <i>Treatment</i>	Persentase kolonisasi baiting <i>Percentage of baiting colonized</i>	
	Minggu 1 <i>First week</i>	1 bulan kemudian <i>One month later</i>
Pelet Trichoderma, 1 g <i>Trichoderma pellet, 1 g</i>	85.00 a	100.00 a
Pelet Trichoderma, 10 g <i>Trichoderma pellet, 10g</i>	90.00 a	82.50 c
Pelet Erwinia, 1 g <i>Erwinia pellet, 1 g</i>	80.00 a	100.00 a
Pelet Erwinia, 10 g <i>Erwinia pellet, 10 g</i>	67.50 a	92.50 b
Pelet Campuran, 1 g <i>Mixed pellet, 1g</i>	80.00 a	100.00 a
Pelet Campuran, 10 g <i>Mixed pellet, 10 g</i>	95.00 a	97.50 a
Tanpa pemberian pelet <i>Without pellet</i>	97.50 a	100.00 a
CV (%)	22.76	6.70

Catatan Note: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata ($p = 0.05$) menurut uji Student Newman Keuls

Note: Values followed with by the same letter in one colour were not significantly different ($p = 0.05$) according Student Newman Keuls test

Pada saat *T. harzianum* Bt1 di campur dengan *Erwinia* sp. BST4 dalam satu pelet yang sama efikasinya hilang (2.5%). Hal ini tidak sejalan dengan hasil seleksi *in vitro* yang menunjukkan bahwa *Erwinia* sp. BST4 kompatibel dengan *T. harzianum* Bt-1 (Noveriza *et al.*, 1999) dan hasil analisis pertumbuhan *T. harzianum* pada pelet. Kondisi lingkungan terutama nutrisi sangat mempengaruhi jenis dan jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri. Mulya dan Tsuyumu (1999) melaporkan bahwa jenis unsur karbon menentukan produksi antibiotik oleh *P. fluorescens* PfG32R. Kemungkinan terdapat perbedaan kandungan nutrisi pada

media kentang dekstrosa agar yang digunakan oleh Noveriza *et al.* (1999) dengan bahan yang digunakan pada penelitian ini dalam menseleksi *Erwinia* sp. BST4. Demikian pula pelet dan tanah yang digunakan dalam kebutuhan penelitian tersebut berbeda. Perbedaan nutrisi ini diduga menyebabkan *Erwinia* sp. BST4 dalam tanah menghasilkan metabolit sekunder yang mengganggu mekanisme kerja *T. harzianum*. Sehingga pengujian *in vivo* perlu dipertimbangkan menjadi bagian dalam seleksi antagonis potensial untuk patogen tular tanah. Hasil dan hipotesis ini memerlukan klarifikasi lanjut dari hasil penelitian rumah kaca.

KESIMPULAN

T. harzianum Blt-1 dan *Erwinia* sp. BST4 dapat diformulasi dalam bentuk pelet yang dapat menekan infeksi *P. capsici*. Efikasi pelet *T. harzianum* Blt-1 lebih tinggi dari efikasi pelet *Erwinia* sp. BST4. Meskipun dalam bentuk pelet campuran *Erwinia* sp. BST4 tidak mengganggu pertumbuhan Blt1, namun pengujian *in vivo* terlihat bahwa pelet campuran sangat menurun efikasinya terhadap *P. capsici*.

PUSTAKA

- Kijima, T. 1992. Kikkou saikin ni yoru biseibutsu boujo. (Biological control by application of bacterial antagonist). Nuoubunkyou, Tokyo (Japanese).
- Manohara, D. dan D. Wahyuno. 1995. Penelitian mikroorganisme tanah dan pengaruhnya terhadap *P. capsici*. Laporan Teknis Penelitian Penguasaan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat, Cimanggu.
- Manohara, D, R. Noveriza dan Sutrasman. 1999. Aplikasi agensia hayati dan bahan organik terhadap patogen busuk pangkal batang. Laporan Teknis Penelitian 1998/1999, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Mulya, K. and S. Tsuyumu. 2000. Some physiological factors influencing antibiotic production by *Pseudomonas fluorescens* PfG32. J. Biotek. Pert. 3(1):23-28
- Mulya, K., D. Manohara, R. Noveriza dan Sutrasman. 1999. Penelitian mikroba antagonistik terhadap *P. capsici*. Laporan Teknis Penelitian 1998/1999, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Nelson, E.B. 1988. Biological control of pythium seed rot and preemergence damping off of cotton with *Enterobacter cloacae* and *Erwinia herbicola* applied as seed treatment. Plant Disease 72:140-142.
- Noveriza, R., K. Mulya dan D. Manohara. 1999. Potensi bakteri antagonis untuk pengendalian *Phytophthora capsici*. Prosiding Kongres XV dan Seminar Nasional PFI.
- Schwinn, E.J. 1983. New development in chemical control of *Phytophthora*. In Erwin, D.C. S. Bartnicki-Garcia and P.H. Tsao (eds). *Phytophthora, Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. The American Phytopathology Society, St. Paul Minnesota pp. 327-334
- Sneh, B., M. Dupler, Y. Elad and R. Baker. 1984. Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a *Fusarium* suppressive soil. *Phytophology* 74:1115-1124.