Seleksi Bakteri Antagonis untuk Mengendalikan Layu Fusarium pada Tanaman *Phalaenopsis*

Djatnika, I
Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang-Pacet, Cianjur 43253
Naskah diterima tanggal 4 Juni 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 5 September 2012

ABSTRAK. Layu Fusarium merupakan penyakit penting yang menjadi kendala dalam memproduksi tanaman anggrek. Untuk mengendalikannya, petani masih menggunakan fungsida. Tanaman anggrek kerap ditampilkan sebagai hiasan yang dekat dengan lingkungan manusia, maka penggunaan pestisida perlu diperhatikan. Oleh karena itu sangat penting dicari cara pengendalian lainnya yang aman terhadap lingkungan, antara lain dengan pengendalian hayati. Tujuan penelitian ialah mendapatkan isolat bakteri antagonis yang dapat mengendalikan layu Fusarium pada tanaman *Phalaenopsis*. Percobaan dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kasa Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung (1100 m dpl.) serta untuk mikrob diisolasi dari lokasi tanaman hortikultura di Jawa Barat dan DKI Jakarta, mulai Bulan Januari sampai dengan Desember 2010. Penelitian meliputi isolasi *Fusarium* spp. sebagai patogen pada tanaman anggrek di beberapa lokasi, isolasi bakteri antagonis, uji kemangkusan bakteri terhadap pertumbuhan *Fusarium* spp. di laboratorium, dan uji kemangkusan bakteri antagonis terhadap layu Fusarium di rumah kasa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyebab layu Fusarium pada tanaman *Phalaenopsis* ialah *Fusarium oxysporum.* Dari 154 isolat bakteri yang diisolasi dari lapangan, hanya ada tiga isolat yaitu nomor B23, B 26, dan B37 yang dapat menekan pertumbuhan *F. oxysporum* pada media PDA. Sampai dengan pengamatan minggu ke-10 setelah inokulasi, ketiga bakteri tersebut masing-masing menekan jumlah tanaman yang terserang layu Fusarium, yaitu sebesar 46,9; 48,9; dan 65,3%, dan masing-masing menekan intensitas penyakit layu 50,5; 43,9; dan 55,1%.

Katakunci: *Phalaenopsis*; *Fusarium* spp.; Layu Fusarium; Pengendalian hayati; Bakteri antagonis

ABSTRACT. Djatnika, I 2012. Selection of Antagonistic Bacteria for Controlling of Fusarium Wilt on *Phalaenopsis* Plants. Fusarium wilt is an important disease as constraint on production of orchid plants. The control of Fusarium wilt of orchids with fungicides often use by farmers. Orchid plants are often displayed as a decoration which is close to the human environment, so the application of pesticides have to get attention. It is therefore necessary to find another method that is safe for environments, such as using of biological control. The purpose of the study was to get isolates of bacterial antagonists for controlling of Fusarium wilt of *Phalaenopsis* plants. The experiment was conducted at Laboratory and Screenhouse of Indonesian Ornamental Plant Research Institute, Segunung (1100 m asl.) and the microbes were isolated from horticultural area in West Java and DKI Jakarta since January until December 2010. The research comprised of isolation of *Fusarium* spp. from orchid plants in some location, isolation of bacterial antagonists, the effectiveness of the bacteria to suppress *Fusarium* spp. growth in laboratory, and the effectiveness of the bacteria to control Fusarium wilt on *Phalaenopsis* plants in the screenhouse. The results showed that the causal Fusarium wilt of *Phalaenopsis* plants was identified as *Fusarium oxysporum*. Three of 154 isolates of bacteria, i.e. isolates number of B23, B26, and B37, could suppress of *F. oxysporum* growth on PDA media. Observation up to 10 weeks after inoculation, the three bacteria could reduce the number of plants attacked by Fusarium wilt , which were 46.9; 48.9; and 65.3% respectively, and each of them suppress wilt disease intensity 50.5, 43.9, and 55.1% respectively.

Keywords: *Phalaenopsis*; *Fusarium* spp., Fusarium wilt; Biological control; Antagonistic bacteria

Anggrek merupakan tanaman bunga yang banyak digemari sejak zaman dulu sampai dengan saat ini, ditanam di luar ruangan atau di dalam ruangan dengan nilai ekonomi cukup tinggi dan harganya relatif stabil. Tanaman anggrek yang ditanam di luar ruangan biasanya ditanam pada tanah (teristerial), tetapi banyak anggrek yang ditanam di dalam ruangan yang memerlukan media tumbuh selain tanah. Anggrek *Phalaenopsis*, *Vanda*, *Cattleya*, dan *Cymbidium* ditanam pada media tumbuh seperti kulit kayu, kayu, atau pakis (Northen 1976).

Dalam pertumbuhannya, tanaman anggrek mendapatkan gangguan yang cukup serius oleh serangan penyakit layu Fusarium yang bersifat tular media yang disebabkan oleh *Fusarium solani* atau *F. oxysporum*. Gejala penyakit tersebut muncul sejak tanaman anggrek dipindah dari media kultur jaringan (Palmer 2011). Patogen tersebut menyerang anggrek *Phalaenopsis*, *Cattleya*, dan *Oncidium* yang sangat merugikan. Di Amerika Serikat, penyakit tersebut dapat menyebabkan kematian tanaman dan kehilangan hasil lebih dari 50% dan sulit dikendalikan dengan hanya menggunakan fungisida (Wedge & Elmer 2008), akan tetapi petani kerap menggunakan fungisida untuk mengendalikannya. Menurut Palmer (2011) penggunaan fungisida klorotolanil dapat digunakan sebagai protektan penyakit tesebut.

Pengendalian penyakit pada anggrek selama ini dilakukan menggunakan pestisida kimia sintetis (Northern 1976). Pestisida kerap menimbulkan polusi terhadap lingkungan padahal tanaman tersebut selalu dekat secara fisik dengan penggemarnya, maka perlu dicari alternatif lain yang murah, mudah aplikasinya, efektif, dan ramah lingkungan.

Salah satu cara pengendalian penyakit yang aman terhadap lingkungan, yaitu menggunakan varietas

resisten. Sjahrial *et al*. (2006) melakukan rekayasa genetik pada *Phalaenopsis* untuk mengendalikan penyakit busuk lunak. Namun sampai saat ini belum semua varietas anggrek komersial mengalami rekayasa genetik agar tahan terhadap penyakit tersebut.

Pengendalian hayati layu Fusarium pada beberapa tanaman telah banyak dilakukan (Singh *et al*. 1999), misalnya menggunakan bakteri antagonis *Pseudomonas* spp. kelompok fluorescens (Leeman *et al.* 1996). Di samping itu juga beberapa jenis mikrob digunakan untuk mengendalikan penyakit tersebut. Namun dalam mengembangkan mikrob antagonis yang perlu diperhatikan bukan hanya kemangkusannya dalam mengendalikan patogen tanaman, tetapi aspek keamanan juga merupakan informasi kunci (Supriadi 2006).

Indonesia sebagai daerah tropika memiliki keanekaragaman hayati (biodiversitas) mikrob yang sangat luas (Machmud *et al.* 2003). Menurut Tobing (2009) di dunia diketahui ada beberapa *mega center of biodiversity,* dan Indonesia menduduki nomor dua setelah Brazil. Oleh karena mikrob antagonis berguna untuk mengendalikan patogen tanaman, terutama anggrek, maka sangat prospektif untuk diperoleh dari lingkungan pertanaman dan dikembangkan. Menurut Machmud *et al.* (2003) upaya untuk melestarikan biodiversitas mikrob dapat dilakukan melalui konservasi dan preservasi dalam bentuk koleksi biakan mikrob.

Mikrob antagonis, selain aman terhadap lingkungan, juga dapat mempertahankan nilai estetika tanaman dan tidak merusak media tanam. Selama ini, cendawan *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* spp. yang beredar luas untuk mengendalikan patogen tular tanah dapat berfungsi juga sebagai pemicu pengomposan bahan organik, sehingga jika cara ini diterapkan untuk mengendalikan patogen tular media pada anggrek dapat menyebabkan media mudah lapuk.

Dalam penelitian ini, isolasi mikrob antagonis difokuskan pada kelompok bakteri yang tidak menimbulkan kerusakan pada media tanam anggrek. Nawangsih *et al.* (2010) melaporkan bahwa *Bacillus substilis* nomor isolat B12 dan *P. fluorescens* nomor isolat Pf10 dapat mengendalikan bakteri penyebab busuk lunak pada anggrek *Phalaenopsis* dan tidak menyebabkan kerusakan pada media tanamnya.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang bakteri antagonis yang dapat mengendalikan penyakit layu Fusarium pada tanaman anggrek. Penelitian bertujuan mendapatkan isolat bakteri antagonis yang dapat mengendalikan layu Fusarium pada tanaman anggrek *Phalaenopsis*. Hipotesis penelitian ialah adanya isolat bakteri yang dapat menekan perkembangan layu Fusarium pada tanaman anggrek *Phalaenopsis*.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kasa Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung (1100 m dpl.) serta untuk sampel mikrob diambil di lokasi tanaman hortikultura di Jawa Barat dan DKI Jakarta, mulai Januari sampai dengan Desember 2010. Penelitian dibagi ke dalam empat tahap, yaitu : (1) isolasi *Fusarium* spp. penyebab layu pada tanaman anggrek, (2) isolasi kandidat bakteri antagonis, (3) uji kemangkusan kandidat bakteri antagonis di laboratorium, dan (4) uji kemangkusan kandidat bakteri antagonis di rumah kasa.

Isolasi *Fusarium* spp. Penyebab Layu pada Tanaman Anggrek

Sampel tanaman anggrek layu dikumpulkan dari pertanaman dan penjual tanaman anggrek di daerah Cipanas (Cianjur), Lembang, Cisarua (Kabupaten Bandung Barat), dan Pasarminggu (DKI Jakarta). Tanaman yang menunjukkan gejala layu dimasukkan ke dalam kantung plastik transparan untuk dibawa ke Laboratorium Biokontrol Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung dan diisolasi patogen penyebabnya.

Di laboratorium, bagian tanaman anggrek yang menunjukkan gejala layu dicuci dengan air steril sampai bersih, kemudian diiris tipis ($\pm$ 1 cm). Irisan yang mengandung bagian tanaman sehat dan sakit dicelupkan ke dalam kloroks 1% selama 1 menit kemudian dibilas dengan air suling steril. Setelah ditiriskan di atas kertas saring steril, irisan tersebut diletakkan di atas media PDA steril yang ada di dalam cawan petri (diameter 9 cm). Setiap cawan petri diisi tiga irisan bagian tanaman. Pekerjaan ini dilakukan secara aseptis. Cawan petri yang berisi irisan tanaman anggrek sakit diletakkan terbalik (penutup diletakkan di bagian bawah) di dalam ruangan tertutup, dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 5–7 hari. *Fusarium* spp. yang tumbuh segera dimurnikan menggunakan konidia tunggal pada media PDA baru sampai diperoleh koloni yang banyak mengandung konidia (9–10 hari).

Masing-masing koloni *Fusarium* spp. yang dimurnikan, diencerkan dengan air suling steril sampai diperoleh kepadatan 10^7 sel konidia/ml. Suspensi tersebut digunakan untuk uji Postulat Koch pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* kultivar Esmeralda.

Kultivar ini diperoleh dari petani anggrek di Cipanas (Cianjur) dan sangat peka terhadap layu *Fusarium*. Cara uji Postulat Koch, yaitu akar tanaman anggrek berumur 3 bulan dari kultur jaringan dicelupkan ke dalam suspensi *Fusarium* spp. selama 30 menit, kemudian segera ditanam pada pot dengan media tanam pakis steril. Setiap suspensi diulang tiga kali. Tanaman anggrek yang menunjukkan gejala layu tercepat dilakukan isolasi patogen kembali, dengan cara seperti di atas. Isolat tersebut diidentifikasi dan digunakan untuk pengujian tahap selanjutnya.

Isolat *Fusarium* spp. yang diperoleh dari hasil uji Postulat Koch diidentifikasi dengan menumbuhkannya pada media PDA, kemudian diamati mengenai (a) warna koloni, (b) pertumbuhan koloni, (c) bentuk konidia, (d) bentuk ujung makrokonidia, (e) ukuran konidia, (f) jumlah sekat konidia, (g) letak klamidospor, dan (h) warna konidia.

Isolasi Kandidat Bakteri Antagonis

Kandidat bakteri antagonis diisolasi dari tanah, media tumbuh atau bagian tanaman yang diambil dari pertanaman anggrek atau lahan tanaman sayuran (cabai atau tomat) sehat yang berdekatan dengan tanaman sejenis yang menujukkan gejala layu di Cipanas (Cianjur), Lembang, Cisarua (Kabupaten Bandung Barat), Pangalengan (Kabupaten Bandung), Wanaraja (Kabupaten Garut), Cigombong (Kabupaten Bogor), dan Pasarminggu (DKI Jakarta). Setiap sampel diambil minimal ± 100 g, dimasukkan ke dalam kantung plastik transparan volume 0,5 l dan diberi label yang menginformasikan tentang lokasi, tanggal, dan jenis tanaman tempat sampel diambil. Setelah berada di laboratorium, sampel segera diletakkan ke dalam cawan petri steril terbuka (tanpa penutup), dan dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 40^{o}C selama 1 jam agar cendawan kontaminan agak tertekan.

Tanah atau bahan media yang telah dihangatkan, diambil menggunakan spatula, lalu ditaburkan di atas media NA dan King's B steril yang disiapkan di dalam cawan petri (diameter 9 cm). Setelah cawan petri ditutup segera diinkubasikan dalam inkubator suhu ± 30 ^{o}C dengan posisi cawan petri terbalik (tutup diletakkan di bawah). Satu sampai 2 hari kemudian, bakteri yang muncul yang memperlihatkan berkembang baik dan menekan pertumbuhan mikrob lainnya segera dimurnikan dengan media steril sejenis, lalu diinkubasikan pada tempat dan suhu yang sama.

Penanganan sampel yang berasal dari bagian tanaman, terutama akar, yaitu bagian tanaman tersebut dicelupkan ke dalam kloroks 1%, kemudian ditiriskan di atas kertas saring steril selama 5 menit, dan segera dibilas dengan air suling steril. Tiriskan kembali pada kertas saring steril sampai bahan terlihat kering udara. Bagian tanaman sehat diiris tipis (± 1 cm) menggunakan scalpel steril, dan irisan segera dimasukkan ke dalam media NA dan King's B sampai tumbuh bakteri. Bakteri yang berkembang baik dan menekan mikrob lainnya segera dimurnikan dengan media steril sejenis. Isolat-isolat bakteri diperbanyak menggunakan media NA atau King's B untuk bahan pengujian selanjutnya.

Isolat-isolat tersebut diuji pada tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) untuk melihat efek fitopatogenisitas atau uji hipersensitivitas. Isolat-isolat yang tidak menunjukkan gejala pada tanaman dilakukan uji pendahuluan dengan koloni *F. oxysporum* pada media PDA. Bakteri digoreskan pada media PDA, kemudian koloni *F. oxysporum* yang diambil dari media PDA dengan *cork borer* (diameter 9 mm) diletakkan di dekat goresan bakteri. Bakteri yang memperlihatkan penekanan (kualitatif) terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* digunakan untuk uji selanjutnya. Setiap isolat diulang dua kali (*duplo*).

Uji Kemangkusan Kandidat Bakteri Antagonis di Laboratorium

Fusarium spp. yang diperbanyak pada pengujian 1 diencerkan dalam tabung reaksi steril dengan air suling steril sampai diperoleh kepadatan 10^3 sel konidia/ml. Selain itu, bakteri kandidat antagonis yang diperoleh dari poin 2 diencerkan dalam tabung reaksi steril menggunakan air suling steril sampai diperoleh jumlah bakteri 10^7 cfu/ml. Penghitungan konidia *Fusarium* dilakukan secara langsung di bawah mikroskop menggunakan hemositometer, sedang untuk penghitungan bakteri dilakukan secara tidak langsung dengan metode pengenceran.

Dalam pengujian antagonis digunakan media PDA, dengan cara yaitu koloni *Fusarium* spp. yang ada dalam media PDA (umur 7 hari) dibuat bulatan menggunakan *cork borer* (diameter 5 mm), kemudian diambil satu bulatan untuk diletakkan pada media PDA yang ada di dalam cawan petri (diameter 9 cm) 3 cm dari pinggir. Bersamaan dengan itu, disiapkan potongan bulat kertas saring steril (diameter 9 mm) dicelupkan ke dalam suspensi kandidat bakteri antagonis selama ± 1 menit, kemudian ditiriskan dalam cawan petri steril sampai air kelebihannya hilang. Potongan kertas yang mengandung bakteri diletakkan pada media yang diinfestasi *Fusarium* spp. dengan jarak 3 cm dari koloni *Fusarium* spp.. Setelah cawan petri ditutup segera disimpan di dalam ruangan inkubasi dengan suhu kamar.

Percobaan disusun dengan rancangan acak lengkap. Perlakuan terdiri atas kandidat bakteri antagonis yang

jumlahnya bergantung pada jumlah bakteri yang paling menekan pada poin 2 dengan tiga ulangan, dan setiap plot terdiri atas 10 cawan petri. Pengamatan dilakukan mulai hari pertama setelah perlakuan sampai pertumbuhan patogen menyentuh ke bagian pinggir cawan petri atau bakteri menutup seluruh bagian koloni *Fusarium* spp.. Pengamatan meliputi jari-jari koloni *Fusarium* yang menghadap koloni bakteri (r1) dan jari-jari yang menghadap ke pinggir cawan petri (r2). Persentase hambatannya dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

P (persentase hambatan) (%) = {(r2-r1)/r2} x 100%

Data diuji keragamannya yang dilanjutkan dengan uji HSD (p=5%). Bakteri antagonis yang menghambat pertumbuhan patogen dipilih untuk pengujian selanjutnya.

Uji Kemangkusan Kandidat Bakteri Antagonis di Rumah Kasa

Dalam percobaan ini digunakan tanaman anggrek bulan kultivar Esmeralda yang diaklimatisasi selama 1 bulan. Bakteri antagonis (10^7 cfu/ml) yang paling menghambat patogen pada poin 3 disemprotkan dengan *hand-sprayer* pada seluruh bagian tanaman dan permukaan media tumbuh anggrek sebanyak ± 20 ml/ pot. Perlakuan ini diulang setiap 14 hari (Sharma & Shankaran 1988) dengan dosis dan konsentrasi yang sama.

Sehari setelah penyemprotan pertama dengan bakteri antagonis, tanaman anggrek diinokulasi dengan ± 20 ml suspensi *Fusarium* spp. (10^7 cfu/ml)/ pot. Penyemprotan patogen hanya dilakukan satu kali. *Fusarium* spp. yang disemprotkan, sebelumnya dibiakkan pada media PDA selama 7 hari. Biakan menggunakan konidia tunggal *Fusarium* spp..

Tanaman anggrek dipelihara sebagaimana biasanya, yaitu disiram sehari sekali menggunakan *hand-sprayer* yang dilakukan pada pagi hari (pukul 8) dan dipupuk dengan pupuk daun Hyponex (2 g/l) setiap 7 hari yang dilakukan pada pagi hari (sebelum pukul 7). Alat untuk menyemprot pupuk digunakan *hand-sprayer*. Untuk mencegah munculnya hama tanaman dilakukan monitoring. Hama yang berukuran besar dibuang secara manual (*hand-picking*), sedangkan untuk hama yang berukuran kecil disemprot dengan insektisida.

Tata letak percobaan disusun menggunakan rancangan acak kelompok dengan perlakuan isolat bakteri antagonis (poin 3) dan lima ulangan. Sebagai kontrol ialah tanaman yang tidak disemprot dengan bakteri antagonis, hanya disemprot dengan air. Setiap plot (10 tanaman) anggrek *Phalaenopsis* ditanam masing-masing dalam pot plastik (diameter ± 7 cm). Pengamatan meliputi (a) jumlah tanaman layu diamati setiap 7 hari sejak tanaman diinokulasi patogen, kemudian dihitung persentasenya dan (b) hari gejala mulai muncul, lalu indeks penyakitnya ditentukan sebagai berikut: indeks penyakit 0 = gejala layu tidak muncul sampai dengan 90 hari (akhir pengamatan); 1= gejala layu muncul 60-90 hari setelah inokulasi (HSI); 2 = gejala layu muncul 31-59 HSI; dan 3 = gejala layu muncul kurang dari 30 HSI. Berdasarkan indeks penyakit dihitung intensitas penyakit menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IP = \{(n \times v)/(Z \times V)\} \times 100\%$$

di mana:

IP = Intensitas penyakit (%);

n = Jumlah tanaman setiap kategori indeks penyakit;

v = Nilai skala setiap kategori indeks penyakit;

Z = Nilai skala dari kategori indeks penyakit;

N = Jumlah tanaman yang diamati.

Dari hasil pengamatan ditabulasi dan dianalisis keragamannya. Data perlakuan yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji HSD (p=5%) menggunakan program SAS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi *Fusarium* spp. Penyebab Layu pada Tanaman Anggrek

Kerap kali terjadi anggrek menjadi layu dengan warna daun kekuningan kemudian mati. Serangan patogen tersebut, secara keseluruhan (bukan hanya penyakit layu), berkisar antara 5–20% dari seluruh pertanaman yang ada.

Menurut salah satu petani anggrek di Cipanas (Cianjur) bahwa tanaman anggrek kerap diserang layu. Penyakit layu merugikan petani karena tanaman mati atau tidak dapat dijual. Selama Januari sampai dengan Agustus 2010 tanaman anggrek terserang penyakit layu mencapai kira-kira 10%.

Hasil isolasi di laboratorium diperoleh tiga koloni *Fusarium* spp. yang berasal dari tanaman anggrek *Phalaenopsis* di Cipanas. Berdasarkan uji Postulat Koch, dari ketiga koloni tersebut, hanya satu isolat yang dapat menunjukkan kembali gejala layu pada tanaman anggrek. Gejala layu muncul 27 hari setelah inokulasi (HSI), sedangkan isolat lainnya sampai dengan 60 HSI tidak menimbulkan gejala. Hal itu menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut tidak infektif, mungkin karena

Gambar 1. Layu *Fusarium* pada tanaman *Phalaenopsis* dan bentuk morfologi *F. oxysporum* (*Fusarium wilt of Phalaenopsis and morphology shape of F. oxysporum*) a & b. layu pada *Phalaenopsis* (*Phalaenopsis wilted*); c. tanaman *Phalaenopsis* mati karena terserang *Fusarium* spp. (*Phalaenopsis die was attacked by Fusarium sp.*); d. koloni *F. oxysporum* pada media *PDA* (*Colony of F. oxysporum on PDA*); e. makrokonidia (*Macroconidia*); dan f. mikrokonidia & makrokonidia *F. oxysporum* (*Microconidia & macroconidia of F. oxysporum*)

sebagai patogen sekunder yang tingkat virulensinya rendah hanya ikut berkembang pada saat tanaman sakit atau terjadi pelukaan, atau terjadi mutasi pada saat pengembangan di laboratorium.

Isolat yang menimbulkan gejala diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri morfologi. Identifikasi berdasarkan ciri-ciri morfologi patogen tanaman merupakan tahap awal dan proses yang paling sulit, terutama untuk mengidentifikasi spesies *Fusarium* (Rahjoo *et al.* 2008). Untuk lebih meyakinkan hasil identifikasi biasanya diuji peta asam nukleat dan sifat-sifat genetik lainnya. Biakan pada media PDA awalnya berwarna putih, kemudian berkembang menjadi merah bata, di atasnya tampak seperti tepung berbentuk melingkar. Makrokonidium tanwarna (hialin) berdinding tipis, berbentuk bulan sabit atau huruf C, ujungnya lancip, jumlah sekat 3-5, dan berukuran 7-15 µm x 65-120 µm. Mikrokonidium tanwarna berdinding tipis, satu sel, elips, 10-16 µm x 12-46 µm, tangkai konidium pendek (lebih pendek daripada mikrokonidia), dan klamidospor muncul di ujung. Berdasarkan ciri-ciri tersebut yang kemudian dicocokkan dengan kunci yang dikemukakan Watanabe (1994) dan Leslie & Summerel (2006), maka dapat dipastikan bahwa cendawan tersebut ialah *F. oxysporum* (Gambar 1 d, e, dan f). Hal ini berbeda dengan yang ditemukan oleh Setiani (2011) di Yogyakarta, yaitu *Fusarium solani*. Menurut Latifah *et al.* (2009) anggrek *Dendrobium* dapat diserang oleh tiga spesies *Fusarium*, yaitu *F. oxysporum, F. solani*, dan *F. proliferatum*.

Cendawan *F. oxysporum* mempunyai banyak forma spesies yang masing-masing mempunyai keragaman genetik yang dapat dibedakan berdasarkan patogenisitas, *vegetative compatibility group* (VCG) (Vakalounakis & Fragkiadakis 1999), dan ras fisiologis. Oleh karena itu, isolat *F. oxysporum* yang diperoleh dalam penelitian ini mempunyai tingkat virulensi yang berbeda terhadap anggrek *Phalaeonopsis*. Akan tetapi, jenis ras dan VCG untuk *F. oxysporum* yang menyerang tanaman anggrek belum ditemukan informasinya. Hal ini berbeda dengan yang menyerang pada tanaman tomat atau pisang.

Isolasi Kandidat Bakteri Antagonis

Hasil isolasi bakteri antagonis yang diperoleh dari tanaman hortikultura di Cipanas (Cianjur), Lembang, Cisarua (Bandung Barat), Pangalengan (Kabupaten Bandung), Garut, Bogor, dan Pasarminggu diperoleh 154 populasi yang potensial sebagai bakteri antagonis. Bakteri yang diperoleh diinokulasi pada tanaman tembakau, hanya 11 isolat yang tidak menunjukkan gejala pada tanaman. Kesebelas isolat dapat dipastikan

bukan bakteri yang menyebabkan penyakit pada tanaman. Namun setelah dimurnikan terdapat enam populasi yang tidak stabil dapat menekan *F. oxysporum* dan kontaminasi dengan mikrob lain. Dalam uji pendahuluan, diperoleh isolat-isolat bakteri yang menghambat perkembangan koloni *F. oxysporum*, yaitu isolat nomor B23 (berasal dari tanaman anggrek *Dendrobium* di Pasarminggu), B 24 (berasal dari tanaman cabai di Cipanas), B 25 (berasal dari tanaman tomat di Cipanas), B26 (berasal dari tanaman anggrek *Phalaenopsis* di Cipanas), dan B37 (berasal dari tanaman anggrek *Phalaenopsis* di Lembang). Kelima isolat tersebut secara kualitatif menunjukkan penekanan terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* pada media PDA, kemudian diperbanyak pada media NA dan King's B, lalu diencerkan dengan air suling steril dan disimpan sementara pada suhu ruangan untuk digunakan pada pengujian lebih lanjut.

Bakteri B37 yang dibiakkan pada media King's B mengeluarkan cahaya fluorescens. Hal itu diduga bahwa bakteri tersebut ialah *Pseudomonas* spp. kelompok fluorescens. Bakteri kelompok ini banyak digunakan untuk mengendalikan patogen tular tanah yang dibuat formulasi untuk keperluan komersial. Bakteri tersebut dapat menghasilkan *siderophore pseudobactin* (sinonim: *pyoveridine*) yang dapat menghambat perkembangan patogen (Thomashow & Weller 1990, Duijff *et al.* 1999). Bakteri B23, B25, dan B26 belum diidektifikasi, sehingga belum diperoleh informasi yang lebih rinci.

Uji Kemangkusan Kandidat Bakteri Antagonis di Laboratorium

Lima kandidat bakteri antagonis terhadap *Fusarium* spp. yang semula cukup kuat menekan pertumbuhan *F. oxysporum*, setelah diamati sampai dengan hari ke-5 hanya tiga kandidat yang dapat menekan pertumbuhan *F. oxysporum*. Ketiga kandidat tersebut ialah bakteri nomor B26, B23, dan B37 (Gambar 2a, b, dan c). Pada awal pengamatan (hari ke-3) bakteri uji B24 dan B25 mampu menekan pertumbuhan *F. oxysporum* paling baik dibandingkan dengan kandidat lainnya, namun seiring dengan pertambahan waktu daya tekannya semakin berkurang sampai tidak terlihat sama sekali (Tabel 1). Sekalipun tidak diuji kandungan antibiotikanya, namun dapat dikatakan bahwa produksi antibiotika kedua bakteri tersebut muncul hanya sesaat kemudian menurun secara drastis.

Pengujian bakteri antagonis yang dilakukan lebih fokus pada kemampuan bakteri dalam menekan pertumbuhan *F. oxysporum* dengan antibiotika yang dihasilkan dan kompetisi nutrien. Menurut Baker (1990), proses antagonistik yang terjadi di luar tanaman inang (pada media biakan), yaitu antibiosis, kompetisi, dan eksploitasi (predasi dan hiperparasitisme). Secara visual tidak tampak adanya eksploitasi oleh bakteri antagonis terhadap *F. oxysporum*, sehingga kemungkinan yang terjadi yaitu antibiosis dan kompetisi hara. Bakteri antagonis dapat menghasilkan senyawa yang bersifat fungisidal dan berkompetisi dengan patogen dalam pemanfaatan Fe (Singh *et al.* 1999). Kompetisi Fe merupakan salah satu faktor dalam aktivitas pengendalian hayati, tetapi jumlah Fe yang ada dalam media sangat memengaruhi keefektifan mikrob antagonis dalam menekan pertumbuhan *F. oxysporum* (Segarra *et al.* 2010).

Tabel 1. Persentase hambatan oleh bakteri antagonis terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* (*Percentage of inhibition by antagonistic bacteria on F. oxysporum growth*)

Nomor isolat (*Isolate number*)	Persentase hambatan pada ... HSP (*Percentage of inhibition on ... DAA*), %			
	2*)	3	4	5
B23	0	1,60a	13,36a	36,13a
B24	0	11,49b	2,00c	0,00b
B25	0	8,31b	0,00c	0,00b
B26	0	9,39b	25,96a	39,86a
B37	0	0,21a	9,11b	33,44a
KK(*CV*), %	-	9,7	13,5	8,2

*) HSP (*DAA*) = Hari setelah perlakuan (*Days after treatments*)

Uji Kemangkusan Kandidat Bakteri Antagonis di Rumah Kasa

Gejala layu Fusarium mulai tampak pada 27 HSI, tetapi pengamatan kuantitatif dilakukan pada 3 hari berikutnya atau minggu ke-4 setelah inokulasi. Gejala dimulai dengan agak mengerutnya daun, terutama bagian bawah, yang diikuti dengan penguningan daun, kemudian dalam beberapa hari daun-daun luruh, sehingga tinggal akar-akarnya.

Pada minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-7, gejala layu Fusarium tidak dipengaruhi oleh perlakuan bakteri antagonis. Mulai minggu ke-8, pengaruh perlakuan bakteri antagonis pada tanaman anggrek mulai menampakkan pengaruhnya terhadap jumlah tanaman layu (Tabel 2 dan Gambar 2d).

Bakteri B23, B26, dan B37 memperlambat terjadinya gejala layu Fusarium sampai dengan pengamatan minggu ke-10 setelah inokulasi. Bakteri B37 paling kuat menekan perkembangan gejala layu Fusarium dibandingkan dengan bakteri B23 dan B26 tetapi masing-masing tidak berbeda nyata (Tabel 2). Dilihat dari jumlah tanaman layu pada 10 MST, bakteri B23, B26, dan B37 bila dibadingkan dengan kontrol, masing-masing dapat menekan layu Fusarium 46,9; 48,9; dan 65,3%. Di samping itu, dilihat dari intensitas

Tabel 2. Jumlah tanaman anggrek layu dan intensitas penyakit layu *Fusarium* (*Number of orchid plants wilted and the intensity of fusarium wilt disease*)

Kandidat bakteri antagionis (*The candidate of antagonistic bacteria*)	Jumlah tanaman layu pada ... MST (*Number of wilted plants at ... WAP*), %								Intensitas penyakit layu (*The intensity of wilt disease*), %
	3	4	5	6	7	8	9	10	
B23	0	12 a	18 a	22 a	32 a	32 a	42 a	52 a	32,34 a
B26	0	16 a	20 a	22 a	24 a	28 a	36 a	50 a	36,66 a
B37	0	16 a	16 a	16 a	24 a	24 a	26 a	34 a	29,34 a
Kontrol (*Untreated*)	0	15 a	18 a	26 a	26 a	68 b	94 b	98 b	65,32 b
KK (*CV*), %	-	8,9	11,7	13,4	17,6	19,4	19,7	13,2	9,7

MST (*WAP*) = Minggu setelah tanam (*Weeks after planting*)

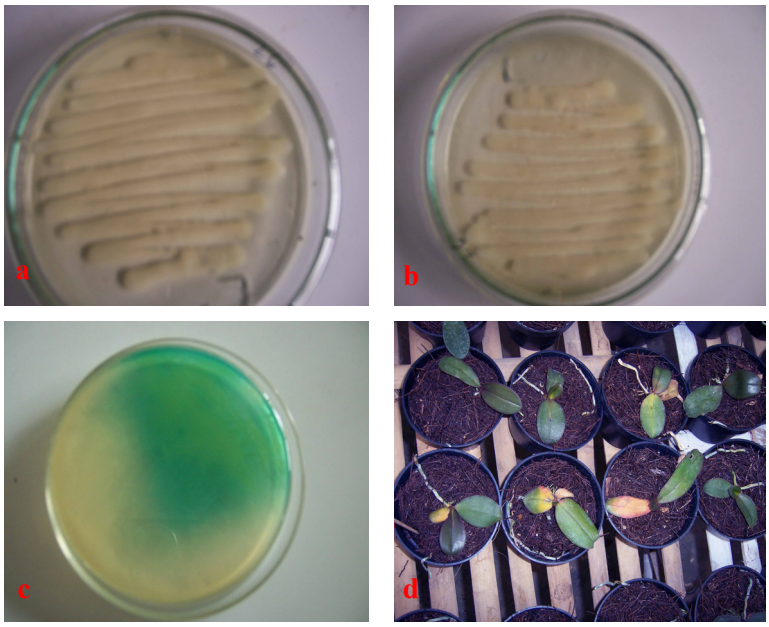
penyakit (Tabel 2), bakteri tersebut masing-masing menekan intensitas penyakit 50,5; 43,9; dan 55,1%. Dengan demikian, ketiga bekteri berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut untuk menjadi bahan pengendali layu Fusarium pada tanaman anggrek.

Agar keefektifan bakteri antagonis meningkat, maka media pembawa bakteri tersebut perlu mendapatkan perhatian. Selain itu menurut Duijff *et al.* (1999), penggunaan satu jenis bakteri antagonis hasilnya tidak stabil. Oleh karena itu bakteri antagonis perlu dipadukan dengan *F. oxysporum* nonpatogenik, sehingga dapat stabil dan meningkatkan daya hambat perkembangan layu Fusarium pada tanaman. Namun, penggunaan cendawan nonpatogenik pada anggrek yang tumbuh pada media pakis, kayu, atau bahan organik lainnya perlu mendapatkan perhatian. Masalah yang muncul ialah miselium cendawan yang berkembang pada media, sehingga penampilannya kurang memuaskan dan dapat melapukkan media tersebut.

Mengendalikan layu Fusarium, sekalipun menggunakan fungisida tidak mampu menghilangkan perkembangan patogen. Song *et al.* (2004) telah menguji sembilan jenis fungisida yang beredar di pasar untuk mengendalikan *F. oxysporum* yang menyerang tanaman tomat. Fungisida prochloraz dan carbendazim yang sangat efektif menghambat pertumbuhan miselium cendawan, tetapi masing-masing hanya dapat mengendalikan layu Fusarium secara kuratif 50,0 dan 34,4%. Dengan demikian, tiga isolat bakteri B23, B26, dan B37 cukup optimal untuk mengendalikan layu Fusarium pada tanaman anggrek.

Mekanisme penekanan oleh bakteri tidak diuji, namun penekan antara lain dapat terjadi karena adanya kompetisi. Kompetisi dapat terjadi dalam serapan hara dan ruang/tempat terjadinya infeksi pada tanaman (Singh *et al.* 1999).

Kompetisi serapan hara Fe yang terjadi antara *F. oxysporum* dan *Pseudomonas* spp. kelompok



Gambar 2. Isolat bakteri antagonis dan keefektifannya (*Isolates of antagonistic bacteria and their effectiveness*) a. bakteri B23; b. bakteri B26; c. bakteri B37; d. *Phalaenopsis* yang terhindar dan terserang layu Fusarium (*Phalaenopsis was attacked Fusarium wilt and not*)

fluorescens paling berpengaruh terhadap terjadinya layu Fusarium. Di samping itu, bakteri dapat menghasilkan beberapa jenis metabolit yang bersifat fungisidal (Singh *et al.* 1999, Alabouvette *et al.* 1996). Namun untuk mendeteksi antibiotik yang dihasilkan oleh mikrob antagonis di dalam tanah dan rizosfer sangat sulit diketahui (Raaijmaker *et al.* 1999). Beberapa senyawa metabolit yang dihasilkan *Pseudomonas* spp. kelompok fluorescens antara lain *siderophore* (*pyoverdin*e), 2,4-*Diacetylphoroglucinol* (Mourhofer *et al.* 1995, Sessitsch *et al.* 2004), HCN, *pyoluteorin*, *monoacetylphloroglucinol*, dan asam salisilat (Defago *et al.* 1990).

Pseudomonas spp. dapat bersifat endofitik yang menekan infeksi patogen dan dapat menguntungkan tanaman inangnya (Adeline *et al*. 2008), tetapi konsentrasi antibiotik tinggi yang dihasilkan bakteri tersebut dapat bersifat fitotoksik (Mourhoffer *et al.* 1995). Bakteri endofitik dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Ramamoorthy *et al.* 2001, Kavino *et al.* 2007).

KESIMPULAN

1. Isolat penyebab layu Fusarium pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* ialah *Fusarium oxysporum.*
2. Gejala layu Fusarium pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* di Rumah Kasa Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung (1100 m dpl.) muncul pada 27 HSI.
3. Diperoleh tiga isolat bakteri dari 154 isolat yang diisolasi di lapangan yang prospektif sebagai pengendali layu Fusarium pada tanaman anggrek secara hayati. Ketiga isolat tersebut, yaitu B23, B26, dan B37. Bakteri B37 ialah *Pseudomonas* spp. kelompok fluorescens, sedang dua isolat bakteri lainnya belum teridentifikasi.

PUSTAKA

1. Adeline, SYT, Sariah, M, Jugah, K, Son, R & Gumit, S 2008, 'Endophytic microorganisms as potential growth promoters of banana', *Biocontrol,* vol. 53, pp. 541-53.
2. Alabouvette, C, Lemanceau, P & Steinberg, C 1996, 'Use of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and fluorescent *Pseudomonas* to control *Fusarium* wilt', *Proceeding. Int. Workshop Biology. Control Plant Disease*, Hokkaido Univ., Sapporo, Japan, p. 155-64.
3. Defago, C, Berling, CH, Burger, U, Haas, D, Kahr, G, Keel, C, Voisard, C, Wirthner, P & Wütrcih 1990, 'Suppression of black root rot of tobaco and other root diseases by strain of *Pseudomonas fluorescens*: potential application and mechanisms', in Hornby, D (ed.), *Biological control of soil-borne plant pathogens*, C.A.B. Int, Wallingford, pp. 93-108.
4. Duijff, BJ, Recobert, G, Baker, PA, Loper, JE & Lemanceau, P 1999, 'Microbial anatagonism at the root is involved in the suppression of *Fusarium* wilt by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum Fo*47 and *Pseudomonas putida* WCS358', *Phytophathol*., vol. 89, pp. 1073-79.
5. Kavino, M, Harish, S, Kumar, N, Saravanakum, D, Damodaran, T & Samiyappan, R 2007, 'Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of system resistance of banana plantlets against bunchy top virus', *Soil Biol. and Biochem.,* vol. 39, no. 5, pp. 1087-98.
6. Latifah, Z, Hayati, MZN, Baharuddin, S & Maziah, Z 2009, 'Identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with root rot and stem rot of *Dendrobium*', *Asian J. Plant Pathol*., vol. 3, no. 1, pp. 14-21.
7. Leeman, M, Den Ouden, FM, van Pelt, JA, Cornellisen, C, Matamala Garros, A, Bakker, PAHM & Schippers, B 1996, 'Suppression of *Fusarium* wilt of radish by co-inoculation of fluorescent *Pseudomonas* spp. and root-colonizing fungi', *Eur. J. Plant Pathol.,* vol. 102, pp. 21-31.
8. Leslie, JF & Summerell 2006, *The fusarium laboratory Mannual*, Blackwell Publ, Iowa.
9. Machmud, M, Sudjadi, M & Suryadi, Y 2003, 'Seleksi dan ketahanan mikroba antagonis', *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian, Bogor, hlm. 118-27.
10. Mourhofer, M, Keel, C, Haas, D & Defago, G 1995, 'Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* stain CHAO with enhanched antibiotic production', *Plant Pathol.,* vol. 44, pp. 40-50.
11. Nawangsih, AA, Hanudin, Sanjaya, L & Cahyono, B 2010, *Pengendalian Erwinia carotovora pada anggrek menggunakan biopestisida mikrobial berbahan aktif Bacillus substilis* dan *Pseudomonas fluorescens*, Laporan akhir KKP3T TA 2009, Bogor.
12. Northern, RT 1976, *Orchids as house plants*, 2nd ed., Dover Publ. Inc., New York.
13. Palmer, GD 2011, *The control of orchids*, acsessed 20 January 2012, <http://www.ehow.com/info_8525784_control-fusarium-wilt-orchids.html#ixzz1RIMQAIMJ>.
14. Raaijmakers, JM, Bonsall, RF & Weller, DM 1999, 'Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat', *Phytopathol*., vol. 89, pp. 470-75.
15. Rahjoo, V, Zad, J, Javan-Nikkah, M, Gohari, AM, Okhivavvat, SM, Bihamta, MR, Razzaghiean, J & Klemsdal, SS 2008, 'Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize eans in Iran', *J. Plant Pathol.,* vol. 90, no. 3, pp. 463-68.
16. Ramamoorthy, V, Viswanathan, R, Raguchander, T, Prakasam, V & Samiyappan, R 2001, 'Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants aginst pests and diseases', *Crop Protect.,* vol. 20, pp. 1-11.
17. Segarra, G, Cassanova, E, Aviles, M & Trillas, I 2010, '*Trichoderma asperellum* Strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron', *Mycrobial Ecol.,* vol. 59, no. 1, pp. 141-49.
18. Sessitsch, A, Reiter, B & Berg, G 2004, 'Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities', *Can. J. Microbiol*., vol. 50, pp. 239-49.

19. Setiani, Y 2011, 'Efektivitas fungi endofit terhadap pengendalian patogen penyebab layu *Fusarium* pada anggrek *Phalaenopsis* (*Golden Peoker x Brother lawrence*), Tesis, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
20. Sharma, JK & Shankaran, KV 1988, 'Biocontrol of rust and leaf spot diseases, in Mukerji, KG & Garg, KL (eds.), *Biocontrol of plant dis*., CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, vol. 2, pp. 1-24.
21. Singh, PP, Shin, YC, Park, CS & Chung, YR 1999, 'Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria', *Phytopathol*., vol. 89, pp. 92-9.
22. Sjahrial, R, Chin, DP, Khan, RS, Yamamura, S, Nakamura, I & Min, M 2006, 'Transgenic *Phalaenopsis* plants with resistance to *Erwinia carotovora* produced by introducing wasabi defensin gene using *Agrobacterium* method', *Plant Biotechnol*., vol. 23, pp. 191-94.
23. Song, W, Zhou, L, Yang, C, Cao, X, Zhang, L & Liu, X 2004, 'Tomato *Fusarium* wilt and its control strategies in a hydroponic system', *Crop Protect.*, vol. 3, no. 3, pp. 243-47.
24. Supriadi 2006, 'Analisis risiko agens hayati untuk pengendalian patogen pada tanaman', *J. Litbang Pert.,* vol. 25, no. 3, hlm. 75-80.
25. Thomashow, LS & Weller, DM 1990, 'Application of fluorescent Pseudomonas to control root diseases of wheat *and some mechanism od disease suppresion'*, in Hornby, D (ed.), *Biological control of soil-borne plant pathogens* C.A.B. Int Wallingford, p.109-122.
26. Tobing, MC 2009, *Keanekaragaman Hayati dan Pengelolaan Serangga Hama dalam Agroekosistem*, pidato pengukuhan guru besar tetap dalam bidang entomologi pertanian pada Fakultas Peranian, Universitas Sumatera Utara, Medan.
27. Vakalounakis, DJ & Fragkiadakis, GA 1999, 'Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting', *Phytopathol*., vol. 89, pp. 161-68.
28. Wedge, DE & Elmer, WH 2008, *'Fusarium* wilt of orchids', *ICOGO Bull*., vol. 2, no. 3, pp. 9-10.
29. Watanabe, F 1994, *Pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species*, Lewis Publisher, London.