

EKSPLORASI BAKTERI PSEUDOMONADS PNDARFLUOR SEBAGAI AGENSIA PENGENDALIAN HAYATI PENYAKIT LAYU FUSARIUM

Hasanuddin

*Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara
Jl. Prof. A. Sofyan No. 3 Kampus USU, Medan 20155
E-mail: hasanuddiny@yahoo.com*

ABSTRAK

Eksplorasi bakteri pendarfluor sebagai agens hayati pengendalian penyakit tumbuhan telah dilakukan. Isolasi bakteri menggunakan medium S1 telah mendapatkan tujuh isolat bakteri pendarfluor. Bakteri terisolasi ini kemudian diuji kemampuan antagonisnya terhadap *Fusarium* sp. penyebab penyakit layu pada tada tanaman markisa asam di cawan petri. Hasilnya menunjukkan bahwa ke tujuh bakteri pendarfluor tersebut bersifat antagonis terhadap *Fusarium* sp. Dengan metode Microbact 12A + 12B, ketujuh bakteri teridentifikasi sebagai *Pseudomonas fluorescens* dan *P. aeruginosa*. Hasil eksplorasi ini menunjukkan bahwa Indonesia masih merupakan wilayah yang kaya akan sumber daya genetik mikroba antagonis yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agensia hayati pengendalian penyakit tumbuhan untuk pertanian berkelanjutan.

Kata kunci: *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, mikroba antagonis, pengendalian hayati.

PENDAHULUAN

Bakteri *Pseudomonads* pendarfluor telah dikenal dan dikomersilkan sebagai agensia pengendalian hayati penyakit tumbuhan. Bakteri jenis ini dapat tumbuh dengan cepat pada sediaan in-vitro untuk produksi massal, menghasilkan pigmen pendarfluor bioaktif berspektrum lebar seperti antibiotik, siderofor, senyawa volatil, dan fitohormon. Bila diaplikasikan sebagai agensia hayati di lahan bakteri *Pseudomonads* pendarfluor bersaing secara agresif dengan mikroorganisme lain, mampu menyesuaikan diri terhadap tekanan lingkungan, dan sifat genetiknya mendukung kompetensi sebagai agensia hayati (Humphris *et al.*, 2005; Weller, 2007).

Pada 1990-an, beberapa bakteri *Pseudomonads* pendarfluor telah disetujui dan terdaftar sebagai biopestisida pada *US Environmental Protection Agency* (USEPA). Strain yang tercatat di USEPA sebagai biopestisida diantaranya *Pseudomonas chlororaphis* Strain 63-28 yang dikomersilkan dengan merek At Eze oleh *Eco Soil System* di California. AtEze diterapkan dengan cara menuangkannya ke tanah untuk mengendalikan patogen terbawa tanah seperti *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, dan *Fusarium oxysporum* (Stockwell dan Stack, 2007).

Modus tindakan bakteri sebagai agensia pengendali penyakit tumbuhan terbawa tanah dijelaskan karena kemampuannya menghasilkan siderofor yaitu senyawa yang mampu mengikat unsur besi, produksi enzim litik, dan ketahanan terinduksi (Bakker *et al.*, 2007). Beberapa strain bakteri rizosfir mengeluarkan asam salisilik dalam lingkungan yang kahat unsur besi. Asam salisilik ini berkontribusi pada induksi ketahanan tanaman terhadap infeksi penyakit (Raaijmakers *et al.*, 2006).

Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri *Pseudomonads* pendarfluor dari lahan-lahan kebun Kelapa Sawit yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agensia pengendalian hayati penyakit tumbuhan. Untuk itu telah dilakukan isolasi bakteri pendarfluor dari tanah perkebunan Kelapa Sawit kemudian diseleksi kemampuan antagonisnya terhadap koloni jamur *Fusarium* sp. penyebab penyakit layu *Fusarium* pada tanaman markisa asam, bakteri pendarfluor kemudian diidentifikasi berdasarkan karakter fisiologis dan reaksi biokimia.

METODOLOGI

Isolasi Bakteri

Bakteri diisolasi dari tanah di perakaran gulma dari lahan kebun Kelapa Sawit menggunakan media selektif S1 (Gould *et al.* 1985). Bahan media S1 per liter adalah 18 g agar, 10 g sukrosa, 10 ml gliserol, 5.0 g asam kasamino (Difco), 1.0 g NaHCO₃, 1.0 g MgSO₄.7H₂O, 2.3 g K₂HPO₄, 1.2 g natrium lauroyl sarkosina, dan 20 mg Trimethoprim. Trimethoprim disteril dengan membran filter pori 0.4 µm (Advantec MFS) dan dicampur dengan media pada suhu 40-45°C. Media S1 diatur pada pH 7.4-7.6. Media disimpan 2 hari pada suhu kamar sebelum digunakan.

Uji Antagonis

Uji antagonis dilakukan untuk seleksi bakteri pendarfluor berpotensi dikembangkan sebagai agensia pengendalian hayati. Uji antagonis dilakukan terhadap jamur *Fusarium* sp. yang diisolasi dari jaringan busuk akar tanaman markisa (koleksi pribadi). Untuk itu jamur *Fusarium* sp. dibiakkan dalam media cair agar kentang dan diguncang pada pengguncang orbital selama 7 hari dengan kecepatan 100 rpm. Bakteri pendarfluor hasil isolasi dibiakkan dalam media Nutrien broth selama 2 hari di atas pengguncang orbital dengan kecepatan 100 rpm. Konidia yang terbentuk dan terlepas pada media agar kentang cair dipanen dan diencerkan sampai kerapatan 10⁶ per ml. Konidia hasil pengenceran dibiakkan pada media PDA dengan menuangkan 1 ml suspensi konidia dan meratakannya di atas PDA pada cawan petri diameter 9 cm, dan bakteri pendarfluor dibiakkan ditengah piring petri tersebut dengan meletakkan cakra kertas uji antibiotik diameter 7,0 mm dengan terlebih dahulu mencelupkan cakra tersebut pada suspensi biakan bakteri. Pengamatan dilakukan pada hari ke 5 setelah inokulasi dengan mengukur diameter zona terang yang tidak ditumbuhi koloni *Fusarium* sp., zona terang yang terbentuk dianggap sebagai kemampuan antagonis bakteri pendarfluor terhadap jamur penyebab penyakit tumbuhan.

Identifikasi Bakteri Pendarfluor

Isolat bakteri yang menunjukkan kemampuan antagonis diperbanyak menggunakan medium agar nutrien (Difco). Identifikasi dilakukan dengan uji karakterisasi fisiologis dan reaksi biokimia memakai kit sistem identifikasi Microbact 12A + 12B dan ujian oksidase dan motiliti sebagai tambahan diluar fasilitas Microbact 12A-12B.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat Bakteri Pendarfluor

Dari Isolasi menggunakan medium selektif S1 telah diperoleh 7 isolat bakteri menunjukkan reaksi pendarfluor dalam media yang dapat terlihat jelas dan ini memudahkan dalam pemurnian isolat pendarfluor dari bakteri kontaminan lainnya, ketujuh isolat pendarfluor ini kemudian diberi kode A1, A2, A3, A4, A5, A6, dan A7.

Uji Antagonis

Isolat bakteri pendarfluor selanjutnya diuji kemampuan antagonisnya terhadap jamur *Fusarium* sp. isolat patogen penyebab penyakit layu pada tanaman Markisa asam. Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa semua isolat berpotensi sebagai agensia antaonis terhadap penyakit tumbuhan ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan koloni *Fusarium* sp. (Tabel 1). Zona hambat bakteri pendarfluor dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini

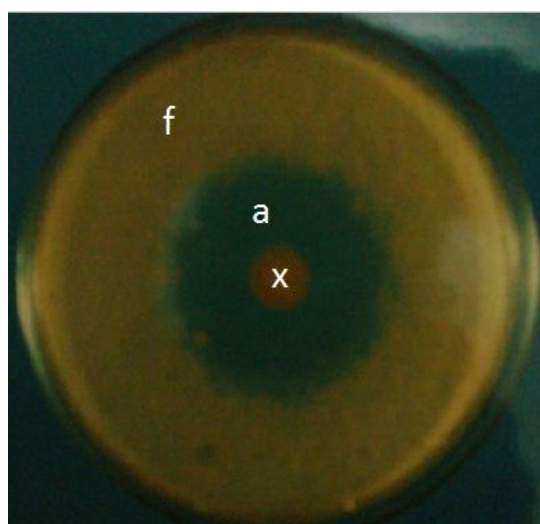
Identifikasi Bakteri Pendarfluor

Hasil identifikasi bakteri pendarfluor menggunakan kit sistem identifikasi bakteri Microbact 12A dan 12B dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Zona hambat bakteri pendarfluor terhadap pertumbuhan koloni *Fusarium* sp.

Kode Isolat Bakteri	Zona Hambat
A1	+
A2	+
A3	+
A4	+
A5	+
A6	+
A7	+

+ terdapat zona hambat bakteri pendarfluor.



Gambar 1. Zona hambat bakteri pendarfluor terhadap koloni *Fusarium* sp. (f.) koloni jamur *Fusarium* sp., a = Zona terang sebagai zona hambatan bakteri pendarfluor terhadap koloni jamur, x = Isolat bakteri pendarfluor.

Tabel 2. Uji reaksi fisiologis dan biokimia isolat bakteri pendarflur.

No Indeks	Uji Biokimia	Hasil uji reaksi biokimia Isolat						
		A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
4	Oksidse	+	-	-	+	+	+	+
2	Motiliti	+	-	-	+	+	-	+
1	Nitrat	+	-	-	+	+	-	-
4	Lisis	+	-	-	+	+	-	+
2	Ornitin	+	-	-	+	+	-	-
1	H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
4	Glukosa	+	+	+	+	+	+	+
2	Mannitol	-	+	+	+	+	+	-
1	Silosa	+	-	-	-	-	-	+
4	ONPG	-	-	-	-	-	-	-
2	Indol	+	-	-	+	+	-	-
1	Urease	-	-	-	+	+	-	-
4	VP	-	+	-	-	-	-	-
2	Sitrat	+	+	+	+	+	+	+
1	TDA	-	-	-	+	-	-	-
4	Gelatin	+	+	+	+	+	+	+
2	Malonat	+	+	+	+	+	+	+
1	Inositol	-	-	-	-	-	-	-
4	Sorbitol	-	+	+	-	-	+	-
2	Ramnosia	-	-	-	-	-	-	-
1	Sukrosa	-	-	-	-	-	-	-
4	Laktosa	-	-	-	-	-	-	-
2	Arabinosa	-	-	-	-	-	-	-
1	Adonitol	-	-	-	-	-	-	-
4	Raffinosa	-	+	+	-	-	-	-
2	Salisin	-	-	-	-	-	-	-
1	Arginin	+	-	-	+	+	-	-

Tabel 3. Hasil identifikasi jenis bakteri pendarflur berdasarkan uji reaksi fisiologi dan biokimia Microbact 12A dan 12B.

No. Isolat	No. Indeks pada Program Microbact	Hasil Identifikasi	Prob. %
A1	765 226 001	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,53
A2	006 066 404	<i>P. fluorescens</i>	94,22
A3	006 026 404	<i>P. fluorescens</i>	97,74
A4	766 336 001	<i>P. aeruginosa</i>	99,66
A5	766 326 001	<i>P. aeruginosa</i>	99,66
A6	406 026 400	<i>P. fluorescens</i>	99,96
A7	645 026 000	<i>P. fluorescens</i>	95,97

Dari data uji reaksi fisiologis dan biokimia bakteri pendarflur di atas diperoleh nama jenis bakteri pendarflur berdasarkan pengolahan data program Microbact secara komputer sebagai berikut (Tabel 3).

Pembahasan

Bakteri *Pseudomonas* spp. berendarflur selalu dijumpai pada lahan-lahan pertanian yang terkontaminasi penyakit layu Fusarium, bakteri pendarflur ini diketahui telah menyebabkan timbulnya resistensi tanaman terhadap patogen *F. oxysporum* dan *F. solani* pada tanaman tomat. Pada pembibitan tomat menunjukkan bahwa layu Fusarium telah ditekan 50 sampai 80% pada berbagai kondisi lingkungan. Pada percobaan inokulasi di rumah kaca *P. fluorescens* WCS 417 telah mereduksi kejadian layu Fusarium pada tanaman pisang sampai

87,4%. *P. fluorescens* telah dibuktikan mampu menginduksi ketahanan tanaman tomat terhadap infeksi layu Fusarium (Belgrove, *et al.*, 2011).

Bakteri *P. fluorescens* dan *P. aeruginosa* termasuk diantara bakteri pengeluar pigmen pendarfluor bersifat antibiosis yang dapat dipanen dari media pembiakannya (Rodriguez dan Pfender, 1997; Folders *et al.*, 2001.). Kedua jenis bakteri ini disebut juga sebagai bakteri *Pseudomonads fluorescens* karena pigmen pendarfluor yang dikeluarkannya.

KESIMPULAN

Dari eksplorasi ini dapat disimpulkan bahwa wilayah Indonesia mempunyai kekayaan genetik yang dapat terus diekplor untuk memperoleh lebih banyak lagi sumber daya genetik yang dapat dioptimalkan manfaatnya untuk dikembangkan sebagai sumberdaya hayati untuk pertanian berkelanjutan terutama untuk pengendalian penyakit layu Fusarium yang banyak menyerang jenis tanaman penting di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakker, P.A.H.M., C.M.J. Pieterse, and L.C. van Loon. 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 97:239-243.
- Belgrove, A., C. Steinberg, and A. Viljoen. 2011. Evaluation of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and *Pseudomonas fluorescens* for Panama disease control. *Plant Dis.* 95:951-959.
- Folders, J., J. Algra, M.S. Roelofs, L.C. van Loon, J. Tommassen, and W. Bitter. 2001. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* chitinase, a gradually secreted protein. *J. Bacteriol.*, 183:7044-7052.
- Humphris, S.N., A.G. Bengough, B.S. Griffiths, K. Kilham, S. Rodger, V. Stubbs, T.A. Valentine, and I.M. Young. 2005. Root cap influences root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 54:123-130.
- Raaijmakers, J.M., I. de Bruijn, and M.J. de Kock, 2006, Cyclic lipopeptide production by plant-associated *Pseudomonas* spp.: diversity, activity, biosynthesis, and regulation. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 19:699-710.
- Rodriguez, F. and W.F. Pfender. 1997, Antibiosis and antagonism of *Sclerotinia homoeocarpa* and *Drechslera poae* by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 *in vitro* and *in planta*. *Phytopathology*, 87:614-621.
- Stockwell, V.O. and J.P. Stack. 2007. Using *Pseudomonas* spp. For integrated biological control. *Phytopathology* 97:244-249.
- Weller, D.M. 2007. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. *Phytopathology* 97:250-256.