

PGPR (*Pseudomonas* spp. Grup Fluoresen): Isolasi dan Uji Efektivitasnya terhadap Cendawan *Sclerotium rolfsii* dan *Fusarium oxysporum* serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Tanaman Kacang Tanah

Baharuddin, Z. Masjkur, C. Stefania, dan A. Anggreani

Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang

ABSTRAK

Hasil isolasi dari berbagai sampel tanah dan perakaran tanaman sehat diperoleh sejumlah isolat bakteri *Pseudomonas* yang menghasilkan pigmen fluoresen pada media semi selektif King's B. Karakteristik isolat tersebut adalah: gram negatif, koloni putih, berukuran \pm 2-3 mm pada 2-3 hari inkubasi, oksidase positif, reaksi hipersensitif negatif pada daun tembakau. Lima di antara isolat-isolat bakteri tersebut dapat menghasilkan asam sianida yang diduga ikut berperan dalam menghambat pertumbuhan cendawan *S. rolfsii* dan *F. oxysporum*. Pada uji *in vitro* terlihat bahwa kelima isolat penghasil HCN mampu menghambat pertumbuhan kedua cendawan tersebut dengan variasi antara 44,4 hingga 88,9%. Uji pemberian enam isolat antagonis tersebut pada tanaman kacang tanah yang ditumbuhkan pada tanah yang telah diinfestasikan cendawan *S. rolfsii* menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat mengurangi intensitas penyakit rebah kecambah dan busuk batang hingga 8,88%. Pada pengamatan pengaruhnya sebagai pemicu pertumbuhan kacang tanah, terlihat bahwa keenam isolat *Pseudomonas* grup fluoresen yang dicobakan dapat mendorong pertumbuhan tanaman. Tanaman kacang tanah yang diberi bakteri tersebut memperlihatkan rasio kenaikan tinggi tanaman hingga 1,62; rasio pertambahan jumlah daun hingga 1,6 dan rasio pertambahan berat kering tanaman hingga 1,8.

Kata kunci: PGPR, *P. fluoresen*, *P. putida*, *F. oxysporum*, pengendalian hayati.

ABSTRACT

The isolation of several soil samples and healthy roots had given a number of *Pseudomonas* bacterium isolates which produces fluorescent pigment on the semi-selective media King's B. The characteristics of the isolates were: negative mineral, white colony, size \pm 2-3 mm on 2-3 days of incubation, positive oxydation, negative hyper-sensitive reaction on tobacco leaves. Five of the bacterium isolates produced cyanide acid which was assumed to take part in inhibiting *S. rolfsii* and *F. oxysporum* growth. In the *in vitro* experiment, the five isolates producing HCN inhibited the fungi with the variation of 44.4 to 88.9%. The experiment on the application of the six antagonistic isolates on peanut plants grown in the soil infested with *S. rolfsii* showed that the bacteria reduced the intensity of seedling damping off and stem rot diases up to 8.88%. The observation on the effect of the six isolates *Pseudomonas* fluorescens group showed that the six isolates supported the plant growth. The peanut plants applied with bacteria showed an increased in the plant height at the ratio 1.62, increase in the number of leaves at the ratio 1.6, and increased in the dry weight of plant the ratio 1.8.

Key words: PGPR, *P. fluorescens*, *P. putida*, *F. oxysporum*, biological control.

PENDAHULUAN

Pseudomonas grup fluoresen seperti *P. fluoresen* dan *P. putida* merupakan salah satu kelompok *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) yang dapat berfungsi ganda karena selain dapat mendorong pertumbuhan tanaman juga dapat mengurangi intensitas penyakit tanaman.

Kelompok bakteri ini berkolonisasi di sekitar perakaran tanaman dan mampu melarutkan fosfat sehingga tersedia bagi tanaman serta dapat menghasilkan zat perangsang pertumbuhan. Sifat jasad renik tersebut dapat bermanfaat, utamanya pada tanah-tanah masam, karena pada tanah tersebut P terikat oleh Al, Fe, dan Mn sehingga sukar larut (Kwong dan Huang, 1977).

Di samping itu, bakteri kelompok "fluoresen pseudomonads" ini menghasilkan metabolit sekunder antara lain: Pyoverdine, HCN, 2,4 Diacetylphloroglucinol, Pyoteorin, asam salisilat dan antibiotik lainnya, yang dapat menghambat patogen tanaman penghuni tanah, dan gulma serta menginduksi resistensi sistemik bagi tanaman terhadap penyakit-penyakit tertentu (Keel, 1990; Defago, 1994).

Dari berbagai publikasi telah dibuktikan peran luas dari bakteri kelompok ini untuk mengurangi kerugian akibat penyakit tanaman. *Pseudomonas* grup fluoresen digunakan sebagai agen pengendali hayati penyebab rebah kecambah, *Phytophthora* sp. pada tanaman mentimun dan kapas (Rankin dan Paulitz, 1994), *solanacearum* pada tomat (Hsu *et al.*, 1993), *Thielaviopsis basicola* pada tanaman tembakau (Keel *et al.*, 1990).

Untuk pemanfaatan mikroorganisme sebagai pengendali penyakit, idealnya menggunakan potensi musuh alami setempat, dengan harapan bahwa jasad renik tersebut akan lebih bekerja efektif, karena didukung oleh faktor lingkungan yang sesuai, tidak menyebabkan perubahan ekosistem, lebih murah untuk diformulasikan serta berbagai keuntungan lainnya.

Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mencari isolat-isolat unggulan yang berpotensi untuk diformulasikan dan dimanfaatkan sebagai biosida untuk mengendalikan berbagai jenis penyakit tanaman maupun sebagai biofertilizer, yang dapat memicu pertumbuhan tanaman. Sebagai langkah awal dilakukan pengujian pada dua jenis cendawan bawaan tanah, yaitu *S. rolfsii* yang dapat menyebabkan penyakit rebah kecambah dan busuk batang pada tanaman kacang tanah serta *F. oxysporum* penyebab penyakit layu.

BAHAN DAN METODE

Sampel tanah beserta perakaran tanaman yang sehat, ditimbang sebanyak satu gram lalu disuspensikan pada larutan garam fisiologis, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Selanjutnya

dengan menggunakan metode pengenceran, suspensi bakteri tersebut ditumbuhkan pada media King's B. Setelah diinkubasikan selama 2-3 hari, dilakukan seleksi koloni yang menghasilkan pigmen fluoresens di bawah lampu ultra violet.

Koloni tunggal bakteri penghasil pigmen fluoresen selanjutnya dimurnikan dan diperbanyak dalam media cair. Sebelum dilakukan uji kemampuan menghambat pertumbuhan patogen secara *in vitro*, lebih dahulu dilakukan uji fisiologi sederhana untuk mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh (Klement *et al.*, 1990), termasuk kemampuannya menghasilkan asam sianida (Ahl *et al.*, 1986).

Untuk pengujian kemampuan menghambat isolat-isolat bakteri rhizosfer pada cendawan, isolat bakteri antagonis dan cendawan patogen ditumbuhkan bersama-sama pada media King's B dengan jarak 3,5 cm. Antagonisme dideterminasi dengan adanya zone penghambatan. Perhitungan persentase penghambatan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$I = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

di mana:

I = Persentase penghambatan (%)

A = Pertumbuhan linier miselium cendawan patogen tanpa pengantagonis

B = Pertumbuhan linier dengan pengantagonis

Pada pengujian kemampuan bakteri *Pseudomonas* grup fluoresen untuk menekan penyakit rebah kecambah dan busuk batang, benih kacang tanah sebelum ditanam terlebih dahulu direndam dalam suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 cfu/ml selama 30 menit. Perlakuan didasarkan pada perbedaan isolat *Pseudomonas* grup fluoresen. Tanah sebanyak 1 kg dalam polibag yang akan ditanami sebelumnya diinfestasikan sebanyak 20 butir sklerotia dari cendawan patogen. Pengamatan intensitas penyakit dilaksanakan lima hari setelah tanam hingga tanaman berumur 33 hari, dengan selang waktu satu minggu. Intensitas penyakit dihitung berdasarkan rumus:

$$I = \frac{(n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

di mana:

I = Intensitas penyakit (%)

N = Jumlah tanaman terserang pada setiap kategori

V = Nilai skoring dari setiap kategori

Z = Nilai skor tertinggi yang digunakan

N = Jumlah tanaman yang diamati

Nilai skala yang digunakan adalah: 0= tidak ada serangan; 1= serangan terjadi pada pangkal batang, namun daun tidak menguning; 2= serangan pada pangkal batang dan daun menguning; 3= tanaman layu/mati.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *Pseudomonas* grup fluoresen terhadap pertumbuhan tanaman dilakukan juga pengamatan tinggi tanaman, jumlah daun yang terbentuk, berat basah dan kering ketika tanaman berumur 33 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari beberapa sampel tanah, lima jenis tanaman diperoleh 10 isolat yang menghasilkan pigmen fluoresen pada media King's B (Tabel 1). Karakteristik umum dari isolat-isolat tersebut adalah koloninya berwarna putih bulat, berukuran \pm 2-3 mm pada media NA 2-3 hari setelah inkubasi, gram negatif, kovak's oksidase positif, tidak menghasilkan levan pada media sukrosa, reaksi hipersensitif negatif pada daun tembakau. Hal tersebut merupakan ciri-ciri umum dari tes fisiologis sederhana dari bakteri *Pseudomonas* grup fluoresen yang tidak tergolong penyebab penyakit tanaman (Klement et al, 1990). Pengamatan reaksi hipersensitif negatif pada daun tembakau membuktikan bahwa seluruh isolat yang diuji, bukan patogen tanaman karena tidak merangsang terjadinya reaksi hipersensitif pada daun tembakau.

Pada pengujian kemampuan menghasilkan asam sianida, diketahui hanya lima isolat yang dapat mengeluarkan senyawa tersebut. Menurut Ahl *et al.* (1986), asam sianida merupakan salah satu senyawa kimia yang dikeluarkan oleh *Pseudomonas* kelompok fluoresen yang dapat berperan menghambat pertumbuhan patogen.

Tabel 1. Karakteristik isolat-isolat bakteri rhizosfer yang diperoleh dari lima jenis tanaman.

No. Isolat	Tanaman	Produksi siderophore	Reaksi hipersensitif	Produksi HCN*
KT 01	K. tanah	+	-	-
KT 03	K. tanah	+	-	-
PA 01	Padi	+	-	-
PA 02	Padi	+	-	-
KD 01	Kedelai	+	-	++
PS 01	Pisang	+	-	+++
KA 01	Kapas	+	-	++++
KA 02	Kapas	+	-	++++
KA 03	Kapas	+	-	++++
KA 08	Kapas	+	-	±

Keterangan: ++++ = sangat banyak; +++ = banyak; ++ = sedang; + = sedikit; ± = tidak jelas; - = tidak menghasilkan

Uji antagonisme isolat-isolat *Pseudomonas* spp. grup fluoresen terhadap cendawan *S. rolfsii* dan *F. oxysporum* secara *in vitro* terlihat bahwa beberapa di antara isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan kedua cendawan tersebut (Tabel 2).

Isolat KD 01, memperlihatkan kemampuan menghambat tertinggi baik terhadap *S. rolfsii* (88,9%) maupun terhadap *F. oxysporum* (78,4%). Seluruh isolat penghasil HCN dapat menghambat salah satu atau kedua jenis cendawan yang diuji, namun HCN dan siderofor bukanlah satu-satunya faktor penentu terjadinya antagonisme. *Pseudomonas* spp. grup fluoresen dikenal dapat menghasilkan beberapa senyawa metabolit sekunder, yang dapat berperan menghambat perkembangan patogen, seperti 2,4-Diacetylphloroglucinol, pyteorin, asam salisilat dan antibiotik lainnya (Keel *et al.*, 1990; Defago, 1994).

Hasil pengujian kemampuan isolat-isolat *Pseudomonas* spp. grup fluoresen terhadap penekanan intensitas serangan *S. rolfsii* terlihat bahwa keenam isolat yang diuji mampu mengurangi intensitas penyakit rebah kecambah dan busuk batang pada tanaman kacang tanah. Intensitas penyakit rebah kecambah dan busuk batang pada perlakuan pemberian bakteri antagonis tersebut lebih rendah dan berbeda nyata dibanding kontrol. Isolat PA 02 memperlihatkan kemampuan menekan penyakit sangat baik, disusul oleh PA 01, KD 01, PS 01, selanjutnya isolat KT 01 dan akhirnya KT 02, walaupun hasil uji statistik antara keenam isolat tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata.

Tabel 2. Uji *in vitro* penghambatan pertumbuhan *S. rolfsii* dan *F. oxysporum* oleh *Pseudomonas* grup fluoresen.

No. isolat	Persentase penghambatan (%)	
	<i>S. rolfsii</i>	<i>F. oxysporum</i>
KT 01	0,0	0,0
KT 03	0,0	22,3
PA 01	0,0	0,0
PA 02	44,4	34,5
KD 01	88,9	78,4
PS 01	84,9	45,3
KA 01	nt	76,9
KA 02	nt	75,0
KA 03	nt	75,0
KA 08	nt	0,0

Keterangan: nt = tidak diuji

Tabel 3. Pengaruh pemberian PGPR terhadap penekanan intensitas penyakit rebah kecambah dan busuk batang pada tanaman kacang tanah.

No. isolat	Intensitas penyakit (%)				
	5 hst	12 hst	19 hst	26 hst	33 hst
KT 01	16,7	16,7 ^a	16,7 ^a	19,4 ^b	19,4 ^b
KT 03	16,7	16,7 ^a	27,8 ^a	30,6 ^a	30,6 ^b
PA 01	8,3	13,9 ^a	13,9 ^a	13,9 ^b	16,7 ^b
PA 02	0,0	8,3 ^a	8,3 ^b	8,3 ^b	8,3 ^b
KD 01	8,3	8,3 ^a	13,9 ^a	16,7 ^b	16,7 ^b
PS 01	8,3	11,1 ^a	11,1 ^a	16,7 ^b	16,7 ^b
Kontrol	25,0	33,3 ^a	47,2 ^a	56,7 ^a	66,7 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

Dari Tabel 4 terlihat bahwa bakteri *Pseudomonas* spp. efektif melindungi benih dari serangan *S. rolfii*, sehingga intensitas serangan cendawan tersebut pada fase perkecambahan lebih rendah dibanding kontrolnya. Selain itu diketahui penggunaan isolat bakteri yang diperoleh dari perakaran kacang tanah nampaknya kurang efektif menekan serangan *Sclerotium* spp. Laju perkembangan penyakit tertinggi terlihat pada kontrol, sedang pada perlakuan isolat bakteri laju perkembangan penyakit lebih lambat.

Yang menarik bahwa walaupun beberapa isolat tidak memperlihatkan kemampuan menghambat pertumbuhan *S. rolfii* secara *in vitro*, namun aplikasinya pada tanaman, dapat menunjukkan kemampuannya menekan intensitas penyakit. Hal tersebut terlihat pada isolat KT 01, KT 02, dan PA 01. Namun ada kecenderungan bahwa isolat yang efektif menekan cendawan secara *in vitro* dapat pula menekan intensitas penyakit secara *in vivo*. Hal ini selaras yang dikemukakan oleh Klopper *et al.* (1980) bahwa tidak semua isolat yang mampu menekan penyakit tanaman, dapat menekan pertumbuhan cendawan penyebabnya secara *in vitro*.

Hasil pengamatan pengaruh pemberian isolat *Pseudomonas* spp. grup fluoresen pada pertumbuhan tanaman terlihat bahwa dengan pemberian bakteri *Pseudomonas* spp. grup fluoresen memberikan rangsangan pertumbuhan baik terhadap tinggi tanaman, jumlah daun serta berat basah dan kering tanaman (Tabel 4).

Pada pengamatan tinggi tanaman, terlihat bahwa tinggi tanaman pada setiap perlakuan variasi, walaupun hasil uji statistik tidak memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata dengan kontrol. Rasio kenaikan tinggi tanaman pada perlakuan pemberian bakteri dibanding kontrol tertinggi 1,62:1, yang dicapai oleh isolat PA 01, sedang yang terendah adalah isolat KT 03 dengan rasio 1,07:1.

Tabel 4. Pengaruh pemberian PGPR pada pertumbuhan tanaman kacang tanah.

No. isolat	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun (lembar)	Berat basah (g)	Berat kering (g)
KT 01	8,85	18,75 ^a	18,33 ^b	3,51 ^b
KT 03	7,06	19,25 ^a	19,24 ^a	3,67 ^a
PA 01	9,04	14,25 ^b	16,13 ^c	3,04 ^b
PA 02	8,24	13,68 ^b	14,34 ^d	2,76 ^c
KD 01	8,02	19,50 ^a	20,45 ^a	4,25 ^a
PS 01	8,40	18,50 ^a	20,24 ^a	3,55 ^b
Kontrol	6,54	12,00 ^c	13,70 ^d	2,35 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

Pengamatan jumlah daun memperlihatkan perbedaan yang nyata baik antar-perlakuan maupun dengan kontrol. Isolat KD 01, KT 01, dan PS 01 memperlihatkan pengaruh pada jumlah daun kacang tanah yang terbentuk, yang berbeda dengan perlakuan lainnya dan kontrol. Rasio penambahan jumlah daun pada pemberian bakteri *Pseudomonas* grup fluoresen dibanding kontrol terjadi hingga 1,6:1 yang dicapai pada perlakuan isolat KD 01.

Pada pengamatan berat kering terlihat perbedaan yang nyata antarmasing-masing perlakuan dan kontrol. Isolat KD 01 dan KT 03 memperlihatkan pengaruh yang terbaik pada berat kering tanaman, yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Disusul oleh KT 01, PA 01, dan PS 01, sedang isolat PA 02 tidak berbeda secara nyata dengan kontrol. Rasio penambahan berat kering tanaman pada pemberian bakteri *Pseudomonas* spp. grup fluoresen dibanding kontrol tertinggi hingga 1,8:1 yang dicapai pada perlakuan isolat KD 01.

KESIMPULAN

- Bakteri *Pseudomonas* grup fluoresen dapat menghambat pertumbuhan *S. rolfii* dan *F. oxysporum* secara *in vitro* dan efektif digunakan sebagai pengendali penyakit rebah kecambah dan busuk batang pada kacang tanah serta dapat merangsang pertumbuhan tanaman.
- Isolat PA 02 lebih efektif dalam menekan intensitas serangan *S. rolfii* dibanding yang lainnya
- Isolat PA 02 dan KD 01 memberikan pengaruh pertumbuhan tanaman terbaik dibanding perlakuan lainnya

DAFTAR PUSTAKA

- Ahl, P., C. Voisard, and G. Defago. 1986. Iron-bound siderophores, cyanic acid, and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. J. Phytopathology, 166: 121-134.
- Defago, G. 1994. Plant growth-promoting rhizobacteria, current status. Plant Pathogenic Bacteria, Versailles. INRA, 891-896.
- Hsu, S.T., C.C. Chen, H.Y. Liu, and K.C. Tzeng. 1993. Colonisation of roots and control of bacterial wilt of tomato by fluorescent pseudomonads. In Hartman, G.L. and Hayward, A.C. (Eds.). Bacterial Wilt. ACIAR Proceedings. 305-311.
- Keel, C., P.H. Wirthner, T.H. Oberhansli, C. Voisard, D. Haas, and G. Defago. 1990. *Pseudomonas* as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: Role of antibiotic 2,4-Diacetylphloroglucinol in the suppression of black root of tobacco. Symbiosis. 9: 327-341.
- Klement, Z., K. Rudodolph, and D.C. Sands. 1990. Methods in phytobacteriology. Akademiai Kiado. Budapest.
- Klopper, J.W., J. Leong, M. Teintze, and M.N. Schroth. 1980. *Pseudomonas siderophores*: A mechanism explaining disease suppressive soils. Curr. Microbiol. 4: 317-320.
- Kwong, K.F. and P.M. Huang. 1977. Surface reactivity of aluminium hydroxydes precipitated in the presence of low molecular weight organic acids. Soil. Sci. Soc. Am. J. 43: 1107-1113.
- Rankin, L. and T.C. Paulitz. 1994. Evaluation of rhizosphere bacteria for biological control of Phytophthora Root rot of greenhouse cucumbers in hydroponic culture. Plant Disease, 78: 447-451.