

Isolasi dan Identifikasi Rizobakteri dari Rizosfer Kacang Tanah dan Uji Efektivitasnya dalam Mengendalikan Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Tomat

SOLICHATUN
KHAMDAN KHALIMI*
I MADE SUDARMA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali
*) E-mail: khamdankhalimi@yahoo.com

ABSTRACT

Isolation and Identification of Rhizobacteria from Peanut Rhizosphere to Control Fusarium Wilt on Tomato

Tomato is one of the important horticultural in Indonesia. One obstacle in the cultivation of tomato is wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Naturally soil microorganisms have the potential to suppress the development of pathogens in the soil. Population of microorganisms around rhizosphere is higher than not in rhizosphere both in quantity and quality. Legumes are known have positive effect to the microorganisms in the soil due to rich N from root exudates. The purpose of this research is to determine the ability of rhizobacteria that were isolated from the rhizosphere of peanut in controlling *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* causes Fusarium wilt disease. Rhizobacteria as antagonist agent isolated from the rhizosphere of peanut from 3 places and tested against *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* in vitro and in vivo. Identification rhizobacteria with Oxoid Microbact GNB Kit. In this study, 61 isolates obtained from the rhizosphere of peanuts. However, only 4 isolates could inhibit *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in vitro and only 2 isolates could identified certainly. One isolate identified as *Klebsiella pneumoniae* and one isolate as *Stenotrophomonas maltophilia* with percentage of probability above 90%. There needs to be more research on the stability of rhizobacteria in suppressing the occurrence Fusarium wilt disease on tomato.

Keywords: Tomato, Fusarium, and Rhizobacteria.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Tomato merupakan salah satu tanaman hortikultura yang penting di Indonesia. Budidaya tanaman tomat banyak mengalami kendala yang dapat menyebabkan produksi tanaman tomat menjadi rendah baik secara kuantitas maupun kualitas. Salah satu kendala tersebut adalah penyakit layu yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Jamur ini merupakan salah satu patogen tular tanah yang

sangat berbahaya bagi tanaman tomat karena patogen dapat bertahan lama dalam tanah. *F. oxysporum* dapat bertahan dalam tanah lebih dari 10 tahun dalam bentuk klamidospora. *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* mampu menginfeksi tanaman sejak tanaman dalam fase pembibitan sehingga dapat mengakibatkan tanaman mati dan gagal panen(Semangun, 2001). Jamur ini dapat menyebabkan kerugian besar terutama pada varietas yang rentan dan pada kondisi lingkungannya yang sesuai (Agrios, 2005). Pengendalian patogen ini masih terbatas pada penggunaan fungisida sintetik dengan hasil yang tidak memuaskan (Semangun, 2001). Secara alami tanah memiliki mikroorganisme yang mampu menekan perkembangan patogen dalam tanah. Sebagian mikroorganisme antagonis tersebut hidup sebagai saprofit (Simatupang, 2008).Populasi mikroorganisme yang berada disekitar rizosfer lebih tinggi dari pada tanah bukan rizosfer baik secara kuantitas maupun kualitas (Anonim, 2011). Mikroorganisme yang hidup pada daerah rizosfer biasanya digunakan sebagai agensi hayati (Simatupang, 2008).

Tanaman kacang-kacangan (Leguminosae)memiliki efek positif terhadap mikroorganisme dalam tanah karena adanya eksudat akar yang kaya N (Jos, dkk., 2009).*Bacillus subtilis*, *P. fluorescens*, dan *P. aeruginosa* yang diisolasi dari kacang tanah, kacang kedelai, jarak, dan kapas dapat menghambat *F. oxysporum*, *Aspergillus niger*, dan *Alternaria alternata* secara *in vitro* (Khanuchiya, dkk., 2012).Rizobakteri dapat diisolasi dari berbagai jenis tanaman. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini difokuskan mengisolasi dan mengidentifikasi rizobakteri dari rizosfer kacang tanah yang mampu menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan rizobakteri dari rizosfer kacang tanah dalam mengendalikan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* penyebab penyakit layu Fusarium secara *in vitro* dan *in vivo*.

2. Bahan dan Metode

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida, Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana dan di Kebun Percobaan Pegok Denpasar. Penelitian dimulai dari bulan September 2012 sampai Mei 2013.

2.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah benih tomat varietas NIKITA, isolat jamur patogen,isolat rizobakteri yang didapatkan dari rizosfer kacang tanah Gianyar, Negara, dan Tabanan, media PDA, media cair PDB, media NA, media selektif Komada, alkohol 70%, tween 80%, akuades, pupuk kompos, dan sekam. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah *autoclave*, kompor gas, sprayer, jarum oose, *laminar air flow cabinet*, kertas label, cawan Petri, labu

erlenmeyer, lampu bunsen, pipet mikro, *cover glass*, *microscope slides*, mikroskop, tisu, tabung reaksi, pinset, lampu spritus, *shaker*, gelas ukur, polibag, *tray*, timbangan digital,dan penggaris.

2.3 Metode Pelaksanaan

2.3.1 Isolasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* diisolasi dari batang tanaman tomat yang menderita penyakit layu Fusarium.Patogen selanjutnya dibiakkan pada media PDA dan dilakukan pengamatan mikroskopis untuk mengetahui bentuk-bentuk makrokonidia dan mikrokonidia. Isolat yang sudah murni disimpan pada media miring.Kepastian bahwa jamur yang ditemukan adalah patogen tanaman tomat, dilakukan uji patogenesitas.

2.3.2 Isolasi rizobakteri

Rizobakteri diisolasi dari rizosfer kacang tanah pada 3 tempat yaitu Gianyar, Negara, dan Tabanan. Pada masing-masing tempat diambil sebanyak 5 tanaman secara acak, lalu dibawa ke laboratorium untuk diisolasi rizobakterinya sebagai calon agensi antagonis. Akar kacang tanah yang sudah ada selanjutnya dipotong-potong dengan ukuran ± 1 cm, setelah itu di timbang sebesar 1g dan dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Selanjutnya 100 μl suspensi tersebut dimasukkan ke dalam 10 ml media NA dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari.

2.3.3 Identifikasi rizobakteri

Untuk identifikasi rizobakteri, terlebih dahulu rizobakteri di murnikan ke dalam media NA dan dibiakkan selama 24 jam. Identifikasi rizobakteri dilakukan dengan Oxoid Microbact GNB Kit.

2.3.4 Ujijdaya hambat rizobakteri terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Ujijdaya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ditentukan dengan metode Yuliana dkk. (1987) dalam Khalimi dan Wirya (2009).Jamur patogen diinokulasikan pada media PDA di tengah-tengah cawan petri, kemudian isolat bakteri diinokulasikan pada 4 posisi mengapit jamur patogen yang berjarak 2 cm dari tepi cawan petri.Pengujian daya hambat rizobakteri terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro* ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu: Kontrol (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*), KTNA2 (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* + rizobakteri isolat KTNA2), KTTA4 (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* + rizobakteri isolat KTTA4), KTGA1 (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* + rizobakteri isolat KTGA1), dan KTGA3 (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* + rizobakteri isolat KTGA3) dan 3 ulangan. Penentuan daya hambat antagonis ditentukan dengan rumus:

$$\text{Daya hambat} = \frac{\text{Luas koloni kontrol} - \text{Luas koloni perlakuan}}{\text{Luas koloni kontrol}} \times 100 \% \quad (1)$$

2.3.5 Pengujian biomassa *F. oxysporum f.sp. lycopersici*

Pengujian biomassa *F. oxysporum f.sp. lycopersici* ini juga menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media cair PDB sebanyak 200 ml yang telah steril. Suspensi *F. oxysporum f.sp. lycopersici* dimasukkan sebanyak 1 ml pada masing-masing perlakuan di media cair PDB, lalu masukkan 1 ml masing-masing rizobakteri yang sebelumnya telah dibiakkan pada media cair PDB selama 24 jam sesuai perlakuan. Masing-masing perlakuan di *shaker* selama 14 hari. Setelah di *shaker* selama 14 hari, masing-masing biomassa jamur dari setiap perlakuan diambil dengan disaring menggunakan tisu. Masukkan tisu beserta koloni jamur dalam kertas amplop dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 7 hari. Setelah 7 hari, timbang biomassa jamur pada tiap perlakuan.

2.3.6 Pembuatan formulasi rizobakteri cair

Perlakuan rizobakteri di lapangan diaplikasikan dalam formulasi cair. Pembuatan formulasi rizobakteri cair untuk volume 1 l dengan 1 jenis rizobakteri bahan-bahannya sebagai berikut: 984 ml air steril, 5 ml media cair PDB, 10 ml Tween 80%, 10 ml molase dan 1 ml rizobakteri yang telah diremajakan dalam media cair PDB. Setelah semua bahan dicampurkan, masing-masing formulasi rizobakteri diinkubasikan selama 1 minggu dalam suhu ruang. Setelah 1 minggu, masing-masing formulasi siap digunakan.

2.3.7 Rancangan percobaan untuk penelitian di lapangan

Penelitian di lapangan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 6 perlakuan termasuk kontrol dengan 4 ulangan. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut: KSH/kontrol sehat (tanpa *F. oxysporum f.sp. lycopersici* dan tanpa rizobakteri), KSK/kontrol sakit (dengan *F. oxysporum f.sp. lycopersici* dan tanpa rizobakteri), KTN2 (*F. oxysporum f.sp. lycopersici* + rizobakteri isolat KTNA2), KTTA4 (*F. oxysporum f.sp. lycopersici* + rizobakteri isolat KTTA4), KTG1 (*F. oxysporum f.sp. lycopersici* + rizobakteri isolat KTGA1), dan KTG3 (*F. oxysporum f.sp. lycopersici* + rizobakteri isolat KTGA3). Setiap ulangan terdiri dari 10 polibag sehingga jumlah seluruh tanaman yang dibutuhkan adalah 240 tanaman tomat.

2.3.8 Invigorasi benih

Benih tomat yang akan digunakan untuk perlakuan direndam dengan formulasi rizobakteri cair sesuai perlakuan masing-masing sebanyak 250 µl dalam 50 ml air

steril selama ±30 menit, sementara untuk tanpa perlakuan (kontrol) benih direndam dengan air steril pengganti suspensi rizobakteri.

2.3.9 Inokulasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Inokulasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dilakukan pada tanah dengan cara menyiramkan 20 ml suspensi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sesuai perlakuan dengan kerapatan spora 24×10^4 konidia/l air. Inokulasi dilakukan pada saat sehari setelah penanaman dilapangan. Sebelum *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diinokulasikan di lapangan, terlebih dahulu diberikan media stater (200 g kentang, 400 g oat, 20 g sukrosa, dan 1 l air) sebanyak 12,37 g/polibag.

2.3.10 Aplikasi rizobakteri

Aplikasi rizobakteri dalam formulasi cair pada perlakuan KTN2, KTTA4, KTG1, dan KTG3 dilakukan sebanyak 5 kali dengan cara menyiramkan langsung ke tanaman, yaitu: pada saat 1 hari setelah tanam (HST), 2 minggu setelah tanam (MST), 4 MST, 6 MST, dan 8 MST dengan dosis sebesar 20 ml/tanaman.

2.3.11 Variabel yang diamati

Adapun variabel yang diamati pada penelitian ini yaitu: luas koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro*, persentase daya hambat rizobakteri terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro*, biomassa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro*, persentase penyakit layu Fusarium di lapangan, dan jumlah akhir populasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dalam tanah.

2.4 Analisis data

Data yang didapat kemudian dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Varians*). Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji beda rata-rata *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi dan Identifikasi Rizobakteri

Jumlah isolat rizobakteri yang diisolasi dari rizosfer kacang tanah sebanyak 61 isolat, sedangkan yang memiliki daya hambat terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro* ada 4 isolat yaitu isolat KTNA2 dari Negara, isolat KTTA4 dari Tabanan, dan 2 isolat dari Gianyar yaitu KTGA1 dan KTGA3. Hasil analisis menggunakan *Software Microbact Identification* menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi dari rizosfer kacang tanah isolat KTGA1 teridentifikasi sebagai *Klebsiella pneumoniae* dengan persentase probabilitas sebesar 99,86%, isolat KTTA4 teridentifikasi sebagai *Stenotrophomonas maltophilia* dengan persentase probabilitas sebesar 98,73%, sedangkan isolat KTGA3 teridentifikasi sebagai *Acinetobacter baumannii* dengan persentase probabilitas sebesar 55,91%, dan isolat

KTNA2 teridentifikasi juga sebagai *Klebsiella pneumoniae* dengan persentase probabilitas sebesar 43,92%. Oleh karena rendahnya nilai persentase probabilitas pada isolat KTGA3 dan KTNA2 yaitu dibawah 90% maka, isolat KTGA3 dan KTNA2 belum dapat dipastikan bahwa isolat tersebut adalah *Acinetobacter baumanii* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Acinetobacter baumannii isolat KTGA3 positif pada dextrarboxylase lysine, pemanfaatan glucose, hydrolysis ONPG, dan pemanfaatan citrate. *Stenotrophomonas maltophilia* isolat KTTA4 positif pada decarboxylase lysine, produksi H₂S, hydrolysis ONPG, dan produksi acetoin. *Klebsiella pneumoniae* isolat KTGA1 positif pada decarboxylase lysine, pemanfaatan glucose, pemanfaatan xylose, hydrolysis ONPG, hydrolysis urea, produksi acetoin, pemanfaatan citrate, mencairkan gelatin, pemanfaatan malonate, pemanfaatan inositol, pemanfaatan sorbitol, pemanfaatan rhamnose, pemanfaatan sucrose, pemanfaatan lactose, pemanfaatan arabinose, pemanfaatan adonitol, dan pemanfaatan salicin. Sedangkan *K. pneumoniae* isolat KTNA2, hanya positif pada decarboxylase lysine, pemanfaatan glucose, hydrolysis ONPG, hydrolysis urea, dan pemanfaatan citrate (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Hasil identifikasi Rizobakteri yang berasal dari rizosfer kacang tanah

Karakterisasi Biokimia	A. <i>baumannii</i> Isolat KTGA3	K. <i>pneumoniae</i> Isolat KTNA2	K. <i>pneumoniae</i> Isolat KTGA1	S. <i>Maltophilia</i> Isolat KTTA4
Decarboxylase Lysine	+	+	+	+
Decarboxylase Ornithine	-	-	-	-
Produksi H ₂ S	-	-	-	+
Pemanfaatan Glucose	+	+	+	-
Pemanfaatan Mannitol	-	-	-	-
Pemanfaatan Xylose	-	-	+	-
Hydrolysis ONPG	+	+	+	+
Produksi Indole	-	-	-	-
Hydrolysis Urea	-	+	+	-
Produksi Acetoin	-	-	+	+
Pemanfaatan Citrate	+	+	+	-
Produksi TDA	-	-	-	-
Mencairkan Gelatin	-	-	+	-
Pemanfaatan Malonate	-	-	+	-
Pemanfaatan Inositol	-	-	+	-
Pemanfaatan Sorbitol	-	-	+	-
Pemanfaatan Rhamnose	-	-	+	-
Pemanfaatan Sucrose	-	-	+	-
Pemanfaatan Lactose	-	-	+	-
Pemanfaatan Arabinose	-	-	+	-
Pemanfaatan Adonitol	-	-	+	-
Pemanfaatan Raffinose	-	-	-	-
Pemanfaatan Salicin	-	-	+	-
Dihydrolase Arginine	-	-	-	-
Reduksi Nitrate	+	+	+	+

3.2 Uji Daya Hambat Rizobakteri terhadap *F. oxysporum f.sp. lycopersici* secara *in vitro*

Pengujian isolat rizobakteri memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan luas koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* jika dibandingkan dengan luas koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kontrol. Pengamatan luas koloni jamur dilakukan dari 1 hari setelah inokulasi (HSI) –5HSI. Luas koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* perlakuan KTNA2 pada 5HSI memiliki luas koloni yang paling kecil yaitu sebesar 123,57mm, lalu KTTA4 sebesar 187,94mm, KTGA3 sebesar 279,79mm, dan terakhir KTGA1 sebesar 329,90mm (Tabel 3.2).

Semakin kecil luas koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tentu semakin besar persentase daya hambat rizobakteri terhadap jamur seperti pada Tabel 3.2. Persentase daya hambat rizobakteri isolat KTTA4, KTGA3, KTGA1, dan KTNA2 pada hari ke-5 sebesar 73,21%, 77,26%, 84,29%, dan 89,98% (Tabel 3.2). Keempat isolat tersebut menunjukkan konsistensinya dalam menekan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dari 1HSI - 5HSI. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambatan antara isolat rizobakteri dengan patogen *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Tabel 3.2 Luas koloni jamur *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, Persentase daya hambat, dan Biomassa jamur secara *in vitro*

Perlakuan	Luas koloni jamur (mm ²) 5HSI	Persentase daya hambat 5HSI*) (%)	Biomassa jamur (g)**)
Kontrol	1227,54a	0,00c	0,047a
KTNA2	123,57c	89,98a	0,000b
KTTA4	329,90b	73,21b	0,000b
KTGA1	187,94bc	84,29ab	0,000b
KTGA3	279,79bc	77,26b	0,000b

Keterangan: nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsin ($\sin^{-1} \sqrt{(Y/100)}$)*) dan akar ($\sqrt{(X + 0,5)}$)**)

Keberhasilan pengendalian hayati terhadap penyakit tanaman ditentukan oleh mekanisme penghambatan dari agensi hayatinya. Mekanisme penghambatan yang umumnya dijumpai pada agensi hayati adalah siderofor, antibiosis, persaingan, mikoparasitisme, PGPR, ketahanan terimbas, enzim, dan toksin (Soesanto, 2008). Menurut Yamamoto, dkk. (1994) acinetobactin merupakan siderofor dari *A. baumannii*. Liu, dkk. (2007) melaporkan bahwa *A. baumannii* LCH001 yang diisolasi dari batang tanamankayu manis yang sehat dapat menghambat pertumbuhan beberapa jamur fitopatogenik seperti *Cryphonectria parasitica*, *Glomerella glycines*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium graminearum*, *Botrytis cinerea*, dan *Rhizoctonia solani*. Nandhini, dkk. (2012) melaporkan bahwa *Klebsiella sp.* yang diisolasi dari tanaman tomat selain produksi IAA juga menghasilkan siderofor, hidrogen sianida

(HCN) dan asam salisilat.Hassouna, dkk. (1998) melaporkan bahwa *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, dan *K. pneumoniae* dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Rhizoctonia solani*, dan *Pythium sp.* yang menyerang tanaman timun secara *in vitro*. Kamil, dkk. (2007) melaporkan *Bacillus licheniformis*, *B. Thuringiensis* dan *S. maltophilia* secara *in vitro* efektif menekan pertumbuhan *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phasiolina*, *Fusarium culmorum*, *Pythium sp.*, *Alternaria alternata* dan *Sclerotium rolfsii*.*S. maltophilia* menghasilkan siderofor berupa maltophilin, juga dilaporkan menghasilkan enzim protease ekstraseluler yang dapat mengendalikan *Pythium ultimum* pada rizosfer tanaman gula bit,dan mampu menginduksi ketahanan bawang merah terhadap hawar daun bakteri (Jakobi, dkk., 1996; Dunne, dkk. 1997;Ernita,dkk.2010).

3.3 Biomassa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Biomassa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada perlakuan rizobakteri berbeda nyata dengan biomassa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kontrol. Adanya perlakuan rizobakteri mempengaruhi bobot *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Tabel 3.2). Biomassa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* kontrol pada waktu 14HSI sebesar 0,047g sedangkan pada perlakuan rizobakteri sebesar 0g. Sehingga dengan adanya inokulasi rizobakteri *A. baumannii* isolat KTGA3, *K. pneumoniae* isolat KTGA1 dan KTNA2, serta *S. maltophilia* isolat KTTA4 secara efektif mampu mempengaruhi bobot biomassa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

3.4 Pengaruh Rizobakteri terhadap Persentase Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Tomat di Lapangan dan Populasi Akhir *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dalam Tanah

Uji antagonis secara *in vivo* dilakukan setelah diperoleh isolat rizobakteri yang berpotensi menekan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro*. Berdasarkan hasil analisis statistik terhadap persentase penyakit layu fusarium di lapangan antara perlakuan dengan kontrol sakit, serta antara kontrol sehat dengan kontrol sakit menunjukkan berbeda nyata (Tabel 3.3). Persentase penyakit layu fusarium pada kontrol sakit sebesar 22,5%, pada perlakuan rizobakteri KTNA2, KTTA4, dan KTGA3 sebesar 5% dan pada perlakuan rizobakteri KTGA1 dan kontrol sehat sebesar 0%. Pada perlakuan KTGA1 diduga rizobakteri mampu memanfaatkan eksudat akar tanaman tomat dan mampu beradaptasi dengan baik di perakaran tanaman tomat sehingga rizobakteri isolat KTGA1 dapat menekan terjadinya penyakit di lapangan.

Penghitungan populasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dalam tanah dilakukan pada saat akhir pengamatan tanaman layu di lapangan (17 MST).Berdasarkan hasil analisis statistik populasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dalam tanah pada perlakuan rizobakteri dengan kontrol sakit berbeda nyata (Tabel 3.3). Populasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dalam tanah pada perlakuan KSK sebesar $12,33 \times 10^4$ cfu/g tanah.

Sedangkan pada KTNA2, KTTA4, KTGA3, dan KTGA1 masing-masing sebesar $5,67 \times 10^4$ cfu/g tanah, $5,00 \times 10^4$ cfu/g tanah, $4,33 \times 10^4$ cfu/g tanah, dan $3,33 \times 10^4$ cfu/g tanah. Menurut Semangun (2001) jamur *Fusarium* dapat bertahan lama di tanah hingga 10 tahun dalam bentuk klamidospora.

Tabel 3.3 Persentase penyakit layu Fusarium di lapangan dan populasi akhir *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Perlakuan	Persentase penyakit layu Fusarium*) (%)	Populasi akhir (10^6 cfu/g tanah)**)
KSH	0b	0c
KSK	22,5a	12,33a
KTNA2	5b	5,67b
KTTA4	5b	5,00b
KTGA1	0b	3,33b
KTGA3	5b	4,33b

Keterangan: nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsin ($\sin^{-1} \sqrt{(Y/100)}$)*) dan akar ($\sqrt{(X + 0,5)}$)**)

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jumlah isolat rizobakteri yang diisolasi dari rizosfer kacang tanah sebanyak 61 isolat, sedangkan yang memiliki daya hambat terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro* ada 4 isolat yaitu isolat KTGA1 dan isolat KTGA3 dari Gianyar, isolat KTNA2 dari Negara, dan isolat KTTA4 dari Tabanan. Hanya 2 isolat yang mampu teridentifikasi dengan persentase probabilitas >90% yaitu isolat KTTA4 sebagai *Stenotrophomonas maltophilia* dengan persentase probabilitas sebesar 98,73%, dan isolat KTGA1 sebagai *Klebsiella pneumoniae* dengan persentase probabilitas sebesar 99,86%.
2. Persentase daya hambat rizobakteri *K. pneumoniae* isolat KTNA2 sebesar 89,98%, *K. pneumoniae* isolat KTGA1 sebesar 84,29%, *A. baumannii* isolat KTGA3 sebesar 77,26% dan *S. maltophilia* isolat KTTA4 sebesar 73,21% pada uji daya hambat terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro*.
3. Persentase penyakit layu fusarium di lapangan pada perlakuan rizobakteri *K. pneumoniae* isolat KTGA1 dan kontrol sehat sebesar 0%, Perlakuan rizobakteri *A. baumannii* isolat KTGA3, *K. pneumoniae* isolat KTNA2, dan *S. maltophilia* isolat KTTA4 sebesar 5%, dan kontrol sakit sebesar 22,5%.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pemanfaatan rizobakteri yang diisolasi dari rizosfer kacang tanah sebagai pengendali *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman tomat di dataran tinggi mengingat tempat penelitian berada di dataran rendah, serta dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kestabilan isolat rizobakteri tersebut dalam menekan terjadinya layu Fusarium di lapangan. Isolat KTGA3 dan isolat KTNA2 disarankan untuk diidentifikasi secara molekuler sehingga dapat dipastikan spesies bakteri tersebut.

Daftar Pustaka

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology 5th ed. New York: Academic Press.
- Anonim. 2011. Rhizosphere. <http://www.agriinfo.in> (diakses 11 Juni 2013).
- Dunne, C., J. J. Crowley., Y. Moenne-locooz., D. N. Dowling., F. J. de Bruijn., dan F. O'Gara. 1997. Biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas maltophilia* W81 is mediated by an extracellular proteolytic activity. *Microbiology* 143: 3291-3931.
- Ernita, M., N. Suharty., dan Nasrun. 2010. Karakterisasi dan Respon Fisiologis Bawang Merah yang Diinduksi Rizobakteri Indigenus. *Jurnal Embrio* 3(2): 110-116.
- Hassouna, M. G., Mohammad, A. M. El-S., dan Hossam, M. A. S. 1998. Biocontrol of soil-borne plant pathogens attacking cucumber (*Cucumis sativus*) by rhizobacteria in a Semiarid environment. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 12:345-357.
- Jakobi, M., G. Winkelmann., D. Kaiser., C. Kempter., G. Jung., G. Berg., dan H. Bahl. 1996. A New Antifungal Compound Produced by *Stenotrophomonas maltophilia* R3089. *J.Antibiotics* 49(11): 1101-1104.
- Jos, M., Raaijmakers., Timothy C., Paulitz., Christian S., Claude A., dan Yvan M. 2009. The Rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil* 321: 341-361.
- Kamil, Z., M. Rizk., M. Saleh., dan S. Moustafa. 2007. Isolation and identification of rhizosphere soil chitinolytic bacteria and their potential in antifungal biocontrol. *Global J Mole Sci*, 2: 57-66.
- Khalimi, K., dan G. N. A. S. Wirya. 2009. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria untuk Biostimulants Dan Bioprotectents. *Ecotropic* 4(2): 131-135.
- Liu, C. H., X. Chen., T. T. Liu., B. Lian., Y. Gu., V. Caer., Y. R. Xue., dan B. T. Wang. 2007. Study of The Antifungal Activity of *Acinetobacter baumannii* LCH001 invitro and identification of its antifungal components. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 76: 459- 466.
- Nandhini, S., V. Sendhilvel., dan S. Babu. 2012. Endophytic Bacteria from Tomato and Their Efficacy Against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, The Wilt Pathogen. *Jbiopest*, 5(2): 178-185.
- Semangun, H. 2001. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

- Simatupang, D. S. 2008. Berbagai Mikroorganisme Rizosfer Pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Pusat Kajian Buah-buahan Tropika (PKBT) IPBDesa Ciomas, Kecamatan Pasirkuda, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Skripsi. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Soesanto, L. 2008. Pengantar pengendalian hayati penyakit tanaman. Jakarta: PT RajaGrafindo Persada.
- Yamamoto, S., N. Okujo., dan Y. Sakakibara. 1994. Isolation and Structure Elucidation of Acinetobactin, a Novel Siderophore from *Acinetobacter baumannii*. *Arch Microbiol.* 162: 249-254.