

Potensi Bakteri Endofit dari Batang Panili Sehat sebagai Agen Pengendali Hayati *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* Penyebab Busuk Batang Panili

NI WAYAN SUNITI

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali 80232
Email : sunitiwayan@gmail.com

ABSTRACTS

The potential of Endophytic Bacteria from Shoot of healthy Vanilla for Biological Control Agenst of *Fuxarium oxysporum* f. sp. *vanilla*. The aim of the research was to determine in-vitro inhibitory of endophytic bacteria from healthy stem of vanilla against stem rot dideases caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* The research was conducted in Phythopatology Laboratory and green house Fakulty of Agiculture from January to August 2014. The results showed that 50 isolates of endophytic bacteria can be isolated from Tabanan and Badung regency. Antagonistic test results from 50 isolate of endophytic bacteria found the six isolates of endophytic bacteria has potential as antagonists against *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* namely Endophytic Tabanan 1 (T1), T7, T13, Endophytic Badung 28 (B28), B30 and B41. In-vitro test showed endophytic bacteria isolate T1 has the highest inhibition to the *F. oxysporum* f.sp.*vanillae* growth by 87%. Results of the research in Greenhouse, endophytic bacteria isolate T1 can stimulate the growth of shoots and capable of protecting plants from vanilla stem rot diseases with the lowest attack percentage of 32%

Keywords : Endophytic bacteria, inhibition, Fusarium oxysporum , vanilla (Vanilla planifolia)

PENDAHULUAN

Panili (*Vanilla planifolia* Andrew) mempunyai nilai ekonomi tinggi karena memiliki banyak manfaat antara lain : sebagai bahan penyegar makanan, minuman, obat-obatan, kosmetik dan parfum. Sebagai bahan makanan, panili digunakan untuk pengharum kue, es krim, coklat dan sebagainya. Panili Indonesia mempunyai keunggulan, karena kadar vanilannya lebih tinggi yaitu 2.7 persen dibandingkan dengan panili yang berasal dari Negara lain. Dalam

usaha peningkatan produksi panili banyak faktor penghambat, salah satunya adalah penyakit busuk batang panili yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f,sp. *vanillae*.

Berbagai usaha pengendalian penyakit busuk batang yang telah dilakukan sampai saat ini seperti penggunaan pupuk buatan, rotasi tanaman, pemberoan tanah, perlakuan fungisida, zat pengatur tumbuh ternyata belum sepenuhnya dapat mengatasi permasalahan tersebut. Penanggulangan penyakit sebaiknya menggunakan metode

dan bahan yang tidak menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, komoditas budidaya serta konsumen. Usaha pengendalian penyakit tanaman, terutama patogen tular tanah dengan pemanfaatan mikroba antagonis sudah mulai dikembangkan walaupun masih pada percobaan di rumah kaca (Tombe *et. al.*, 1987). Beberapa isolat *Trichoderma* sp. telah diuji daya hambatnya terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. Demikian pula *Pseudomonas fluorescens* yang diisolasi dari jenis bawang-bawangan efektif terhadap *F. oxysporum* f. sp. (Nurawan *et al.*, 1995). Sejumlah bakteri endofitik diketahui mempunyai potensi yang nyata dalam mengikat N₂ di udara dan menghasilkan zat pemacu pertumbuhan (IAA) serta mempunyai kemampuan untuk menetap di jaringan tanaman yang memungkinkan bakteri endofitik dapat digunakan sebagai agens biokontrol terhadap patogen tanaman (Susilowati *et. al.*, 2003). Keberhasilan pemanfaatan mikroba antagonis ditentukan oleh kemampuannya beradaptasi dan bersaing dengan patogen tular tanah yang populasinya tinggi di lapang.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat jenis bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* penyebab busuk batang panili dari tanaman panili sehat

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penyakit Tanaman dan di Rumah Kaca, Fakultas Pertanian Universitas Udayana Denpasar mulai Januari - Agustus 2014. Kegiatan penelitian meliputi persiapan jamur patogen *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*,

isolasi bakteri endofit, uji daya hambat bakteri endofit pada media PDA, dan uji daya hambat bakteri endofit di tingkat rumah kaca. Untuk penelitian di Rumah Kaca menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 6 perlakuan isolate bakteri endofit dan 2 kontrol (kontrol sehat dan kontrol sakit) dengan 5 ulangan sehingga didapat 40 unit percobaan. Tiap unit percobaan ditanami 5 buah stek panili sehingga dibutuhkan 200 buah stek panili

Persiapan Jamur Patogen (*Fusarium oxysporum* f.sp.*vanillae*)

Jamur patogen diisolasi dari batang tanaman panili terinfeksi. Batang terinfeksi dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dicuci lagi dengan air steril, kemudian dipotong melintang di antara bagian yang sehat dengan yang sakit sepanjang 1 cm. Setiap potongan dicelupkan pada alkohol 70% kemudian 8 potongan diletakkan pada media PDA dalam piring Petri. Potongan batang diinkubasi dalam media PDA pada suhu ruang selama 4-5 hari. Setelah tumbuh jamur patogen dimurnikan dengan cara memindahkan sebanyak 3 kali dengan menggunakan cork borer pada media PDA baru.

Isolasi Bakteri Endofitik

Batang panili sehat diambil kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dibilas dengan air steril kemudian dicelupkan ke dalam alkohol 70 persen selama 10 detik. Setelah itu batang dipotong melintang dengan ukuran 1 cm. Dua buah piring Petri yang sudah berisi media PDA yang dicampur Propineb sebagai anti jamur disiapkan untuk isolasi bakteri endofit. Potongan batang panili ditempelkan terlebih dahulu pada piring Petri pertama, kemudian baru

dipindahkan pada piring Petri kedua selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Bakteri endofit yang tumbuh pada piring Petri ke 2 dimurnikan dan disimpan pada media PDA miring dalam tabung reaksi.

Uji Daya Hambat Bakteri Endofit terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. vanilla pada Media PDA.

Piring Petri steril diisi 20 ml PDA yang masih encer, kemudian dibiarkan sampai padat. Isolat bakteri endofit dan

patogen diambil dengan menggunakan cork borer ditumbuhkan bersama pada media yang sama dengan jarak antara bakteri endofit dengan jamur patogen adalah 3 cm lalu diselotif dan diinkubasi pada suhu ruang. Jamur pathogen yang ditumbuhkan sendiri digunakan sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan setiap hari dan dihentikan setelah koloni kontrol memenuhi piring Petri. Masing-masing koloni jamur diukur dimeternya. Untuk menentukan daya hambat bakteri antagonis terhadap jamur patogen adalah sebagai berikut:

$$\text{Daya Hambat} = \frac{\text{Diameter koloni kontrol} - \text{Diameter koloni perlakuan}}{\text{Diameter koloni kontrol}} \times 100 \%$$

Pengujian Daya Hambat Bakteri Endofitik terhadap Serangan *F.oxysporum* f.sp. vanilla pada Bibit Panili di Rumah Kaca

Batang panili sehat dipotong dua ruas sebagai bibit, ujung bibit dipotong agak meruncing untuk mengurangi kelembaban. Suspensi bakteri endofit disiapkan dengan cara melarutkan biakan murni bakteri dengan aquades steril sebanyak 10 ml, larutan bakteri di sheker untuk membuat larutan bakteri homogeny. Batang bagian bawah direndam dalam suspensi bakteri endofit selama 10 jam. Pada masing-masing kantong plastik yang telah berisi 600 g tanah steril ditanami 5 stek bibit panili yang telah direndam dalam suspensi bakteri. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 6 perlakuan isolate bakteri endofit dan 2 kontrol (kontrol sehat dan kontrol sakit) dengan 5 ulangan sehingga didapat 40 unit percobaan. Tiap unit percobaan ditanami 5 buah stek panili

sehingga dibutuhkan 200 buah stek panili. Adapun masing-masing perlakuan tersebut adalah:

- T1 : Perlakuan dengan suspensi isolat T1
- T7 : Perlakuan dengan suspensi isolat T7
- T13 : Perlakuan dengan suspensi isolat T13
- B28 : Perlakuan dengan suspensi isolat B28
- B30 : Perlakuan dengan suspensi isolat B30
- B41 : Perlakuan dengan suspensi isolat B41
- K0 : Kontrol sehat (tanpa direndam suspensi bakteri dan tanpa jamur pathogen)
- K1 : Kontrol sakit (perlakuan dengan suspensi jamur *F. oxysporum* f.sp.vanillae)

Setelah berumur 1 minggu masing-masing perlakuan diberikan suspensi jamur *F. oxysporum* f.sp. vanillae sebanyak 5 ml kecuali kontrol sehat (K0). Pengamatan dilakukan setiap hari selama 60 hari atau sampai bibit pada kontrol sakit menunjukkan gejala terserang penyakit busuk batang 100

% atau tanaman mati. Variabel yang diamati meliputi : 1) persentase serangan, yang dapat dihitung dengan rumus $P = A/B \times 100 \%$ dimana P = persentase serangan, A= jumlah tanaman sakit, dan B = jumlah tanaman yang digunakan. 2) Panjang akar panili, diukur dari pangkal akar sampai ujung akar pada umur tanaman 60 hari. 3) Panjang tunas panili, diukur dari pangkal sampai ujung tunas. 4) Berat kering oven akar panili, akar dipotong-potong lalu dioven pada suhu 60 C sampai beratnya konstan. 5) Berat kering oven tunas panili, tunas dipotong-potong dioven 60 C sampai beratnya konstan. Data dianalisis ragam dengan uji F dan pemisahan nilai tengah menggunakan uji jarak berganda Duncant. Semua pengujian menggunakan taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri dari batang panili sehat yang berasal dari Kabupaten Tabanan dan Badung ditemukan sebanyak 50 isolat bakteri endofit. Setelah diuji secara in-vitro kemampuan daya hambatnya terhadap jamur patogen *F. oxysporum* terdapat hanya 6 isolat bakteri endofit terdiri dari : 3 isolat yang berasal dari Kabupaten Tabanan yaitu isolat Tabanan no 1 (T1), isolat Tabanan no.7 (T7) dan isolat Tabanan no. 13 (T13) dengan daya hambat masing-masing 87, 33 dan 69 %. Tiga isolat lainnya berasal dari Kabupaten Badung yaitu isolat Badung no.28 (B28), isolat Badung no. 30 (B30) dan solat Badung no. 41 (B41) dengan daya hambat masing-masing 76, 28 dan 47 %. Dari data ini dapat diketahui bahwa daya hambat tertinggi ditunjukkan oleh isolat T1 dengan daya hambat 87 % (Tabel 1)

Tabel 1. Daya hambat isolat bakteri endofit terhadap jamur *F.oxysporum* f.sp. vanilla pada media PDA

Perlakuan (isolat)	Diameter koloni patogen (cm)	Daya hambat (%)
Kontrol (<i>F.oxysporum</i>)	9.00	0
T1	1.20	87.00
T7	6.00	33.00
T13	2.75	69.00
B28	2.20	76.00
B30	6.50	28.00
B41	4.75	47.00

Persentase serangan *Fusarium oxysporum* f. sp. vanillae di Rumah Kaca pada tanaman panili 60 hari setelah inokulasi

Hasil pengamatan selama 60 hari menunjukkan bahwa perlakuan T1 (Isolat Tabanan 1) memberikan pengaruh terbaik yaitu dengan persentase serangan terendah yaitu 32 % , diikuti oleh T7 yaitu 36 % berbeda tidak nyata dengan perlakuan T13 dan B28 dengan persentase serangan masing-masing 44 % tetapi berbeda nyata dengan perlakuan B30 ; B41 dan kontrol sakit dengan persentase serangan masing-masing 56 ; 80 dan 100 %. Rendahnya

persentase serangan pada perlakuan T1 dan T7 karena bakteri endofitik menghasilkan senyawa metabolit ekstraseluler yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *F. oxysporum* f.sp. vanillae seperti : HCN (asam cyanida), senyawa fenol (salicylic acid) dan antibiotika seperti : phenazin-1 carboxylate. Tanaman yang tidak diberi isolat endofit (kontrol sakit) paling cepat menunjukkan kelayuan yaitu 10 hari setelah inokulasi patogen. Pada saat 60 hari setelah inokulasi patogen seluruh tanaman kontrol mati dan mengering (Tabel 2)

Tabel 2. Persentase serangan *F. oxysporum* f.sp. vanillae pada masing-masing perlakuan 60 hari setelah inokulasi patogen di Rumah Kaca

Perlakuan Isolat	Persentase serangan (%)
K0 (kontrol sehat)	0 d
T1	32 c
T7	36 c
T13	44 bc
B28	44 bc
B30	56 b
B41	80 a
K1 (kontrol sakit)	100 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap perlakuan berbeda tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%

Pengaruh Isolat Bakteri Endofit terhadap Pertumbuhan Tanaman di Rumah Kaca

Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan akar tanaman terpanjang terdapat pada perlakuan B41 (Bakteri endofit Badung dengan panjang 14.24 cm dan berat kering tertinggi yaitu 0.39 g. Data ini menunjukkan isolat bakteri endofit

tersebut mungkin menghasilkan zat pemacu pertumbuhan akar. Perlakuan isolat T1 (Isolat bakteri endofit Tabanan 1) dan isolate B28 (Isolat bakteri endofit Badung 28) dapat merangsang pertumbuhan tunas panili dengan panjang tunas masing-masing 8.10 cm dan 7.18 cm dengan berat kering tunas masing-masing 1.42 g dan 1.08 g (Tabel 3),

Data ini menunjukkan kemungkinan bakteri endofit tersebut dapat menambah sumbangan Nitrogen yang diperlukan dalam pembentukan sel-sel baru seperti asam amino, enzim, vitamin sebagai penyusun khlorofil yang dapat memacu pertumbuhan

tunas (Rismunandar, 1990). Hasil penelitian ini didukung juga oleh penelitian Sudana (2003) yang menyatakan bahwa beberapa mikroba antagonis hasil isolasi dari tanaman pisang sehat dapat merangsang pertumbuhan tanaman.

Tabel 3. Panjang akar, berat kering akar, panjang tunas dan berat kering tunas tanaman panili pada saat 60 hari setelah inokulasi pathogen di Rumah Kaca

Perlakuan	Panjang akar (cm)	Berat kering akar (g)	Panjang tunas (cm)	Berat kering tunas (g)
Kontrol sehat	6.26 bc	0.24 b	2.58 d	1.14 a
T1	3.32 cd	0.14 c	8.10 a	1.42 a
T7	2.40 d	0.03 d	3.48 cd	0.42 b
T13	6.60 b	0.18 bc	2.54 d	0.50 b
B28	8.80 b	0.27 b	7.18 a	1.08 a
B30	8.56 b	0.17 c	4.02 bc	0.39 b
B41	14.24 a	0.39 a	4.88 b	0.56 b
Kontrol sakit	1.2 e	0.02 d	1.3 e	0.02 c

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada uji Duncant pda taraf nyata 5%

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 50 isolat bakteri endofit yang ditemukan terdapat 6 isolat bakteri yang memiliki daya hambat yaitu T1, T7, T13, B28, B36 dan B41. Dari 6 isolat tersebut Isolat T1 (Isolat Bakteri Endofitik Tabanan 1) menghasilkan daya hambat tertinggi pada media PDA yaitu 87 % , mempunyai kemampuan merangsang pertumbuhan tunas panili dengan tunas terpanjang yaitu 8.10 cm dan mempunyai kemampuan paling tinggi melindungi tanaman panili dari serangan *F.oxysporum*

f.sp. vanillae dengan persentase serangan terendah pada pembibitan panili di Rumah Kaca yaitu sebesar 32 %.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada teman-teman yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini. Kepada ketua Lab.Penyakit Tumbuhan kami berterimakasih yang sebesar-besarnya atas segala fasilitas yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

NI WAYAN SUNITI: Potensi Bakteri Endofit dari Batang Panili Sehat sebagai Agen Pengendali...

- Nurawan, A., M. Tombe, Sukanto and M. Oniki. 1993. Effect of Soil Amendment with Eugenol, Clove Leaf and Charcoal on Disease Occurance of Vanilla Stem Rot Strengthening Reasech n Disease of Industrial Crops in Indonesia ATA-380 JICA-Balitra: Annual Report no 2 : p 67-70
- Rismunandar, 1990. Bertanam Panili. Penebar Swadaya. Jakarta. 90 hal.
- Sudana, M. 2003. Aktifitas Antagonistik Beberapa Mikroba terhadap Penyakit Layu Pisang yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp.cubence Agritrop. Vol.22. No.3 hal.114-118
- Suilowati, D.N., R. Saraswati, Elsanti dan Erny Yuniarti. 2003. Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik dan Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung. Prosiding Indobiogen.
- Tombe, M. 1994. Studies on the Stem Rot Diseases of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) Thesis Phd. of Agriculture Hokkaido University 195 p
- Tombe, M. dan D. Sitepu. 1987. Penyakit Panili di Indonesia. Edisi Khusus Littro. III(2): 103-108.