
UPAYA MENDAPATKAN AGENS BIOKONTROL PENYAKIT LAYU TOMAT *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *LYCOPERSICI* MELALUI EKSPLORASI DAN UJI POTENSI PGPR ISOLAT BAKTERI *PSEUDOMONAS* SPP.

I Ketut Widnyana

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Mahasaraswati Denpasar

email: ketutwidnyana@yahoo.com

Abstract

In this experiment the rhizosphere of several plants were explored to obtain Pseudomonas spp. A total of ninety soil samples were collected from rhizosphere of maize, peanuts, tomatoes, peppers, squash vines, ferns, onions, kale, and vanilla in all districts and cities of Bali Island. Bacteria were isolated from the rhizosphere soil using a culture media namely, King B agar. King B agar allows the production of fluoresceine (or pyoverdine), a yellow-green pigment that fluoresces under ultraviolet light in certain strains of Pseudomonas. Twenty-two Pseudomonas isolates that produced characteristic pigment from light green to bluish green in the media were obtained. The twenty-two isolates were KB1, KB2, KB4, KB16, KB19, KB24, KB29, KB30, KB32, KB33, KB34, KB36, KB46, KB49, KB61, KB67, KB68, KB69, KB71, KB77, KB78, and KB80. The bacterial isolates were further tested for pathogenicity using tobacco as an indicator plant. Twelve Pseudomonas isolates KB1, KB16, KB19, KB24, KB32, KB33, KB34, KB36, KB49, KB61, KB69 and KB77 were pathogenic while ten isolates KB2, KB4, KB29, KB30, KB46, KB67, KB68, KB71, KB78 and KB80 were non-pathogenic. This result will be subsequently used for evaluation of the induction of resistance in vanilla. Based on the results of the evaluation of isolates as a biological control potential with PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), the isolates from Pseudomonas KB2, KB68 and KB 80 were shown to have the capability to increase growth of indicator plants 14% higher than controls. The study indicated that Pseudomonas were potent as biological control for Fusarium oxysporum F.SP. lycopersici that wilt disease of tomato.

Keywords : exploration, isolation, *Pseudomonas* spp., pathogenicity, PGPR

1. Pendahuluan

Tanaman tomat merupakan komoditas hortikultura yang sangat potensial untuk dikembangkan, karena mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi dan potensi ekspor yang besar. Daerah sentra produksi tomat di Indonesia tersebar di beberapa Propinsi, antara lain di Jawa Barat, Sumatera Utara, Jawa Tengah, Jawa Timur dan Bali. Rata-rata produksi tomat di Indonesia pada tahun 1999 – 2003 mencapai 574.153 ton/tahun dengan rata-rata produktivitas 12 ton/ha (Anonimus, 2002). Nilai ini masih jauh di bawah rata-rata produktivitas tomat di negara maju seperti Amerika Serikat yang dapat mencapai 39 ton/ha. Salah satu faktor yang menghambat peningkatan produksi tomat adalah adanya penyakit yang sering menyerang tanaman tomat yaitu penyakit layu *Fusarium* (Cook dan Baker, 1983).

Penyakit layu *Fusarium* pada tanaman tomat disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, merupakan penyakit penting pada tanaman tomat dan telah mengakibatkan kerusakan yang besar pada berbagai daerah penghasil tomat di dunia (Wibowo, 2005). Di Indonesia penyakit ini baru mendapat perhatian pada tahun 1970 an, dimana telah menimbulkan kerugian yang cukup besar. Tercatat intensitas penyakit ini mencapai 16,7% di Lembang - Jawa Barat dan 10,25% di Malang - Jawa Timur (Semangun, 2007).

Penyakit layu *Fusarium* dapat menyebabkan kematian pada pembibitan tomat segera setelah muncul gejala pertama, sedangkan pada tanaman dewasa, tanaman akan layu dan mati tiba-tiba apabila dalam infeksi yang berat dan cuaca yang menguntungkan bagi patogen (Agrios, 2005). Penyakit ini sangat merugikan terutama bagi varietas

tomat yang rentan dan pertanaman tomat di daerah yang beriklim panas dengan suhu rata-rata 28°C (Walker, 1957).

Hasil survey yang peneliti lakukan pada awal bulan Februari 2011 di sentra-sentra penanaman tomat di Bali, diantaranya desa Kembang Merta, desa Perean, desa Baturiti kecamatan Baturiti Kabupaten Tabanan menunjukkan bahwa serangan penyakit layu *Fusarium* selalu ada pada setiap lahan penanaman tomat terutama pada fase generatif dengan persentase serangan antara 10 – 15%.

Pengendalian penyakit layu *Fusarium* belum berhasil dengan baik karena patogen bersifat tular tanah dan dapat bertahan lama di dalam tanah tanpa adanya tanaman inang, sehingga rotasi tanaman menjadi tidak efektif. Pengendalian penyakit dengan mengaplikasikan fungisida sintetis ke dalam tanah hanya dapat menekan penyakit layu *Fusarium* untuk beberapa bulan saja (Alabouvette *et al.*, 1996), selain itu penggunaan fungisida sintetis secara terus-menerus juga dapat menyebabkan munculnya populasi patogen yang lebih tahan dan juga akan mencemari lingkungan (Freeman *et al.*, 2002).

Berbagai upaya telah dilakukan dalam pengendalian penyakit layu fusarium, diantaranya penggunaan benih sehat, rotasi tanaman, tumpang sari dan dengan pestisida (fungisida), tetapi tidak selalu memberikan hasil yang memuaskan. Alternatif lain untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium* adalah dengan memanfaatkan mikroba agen pengendali hayati. Pengendalian dengan cara ini dilaporkan cukup efektif dan belum ada yang melaporkan timbulnya ketahanan jamur patogen terhadap agen pengendali hayati (Freeman *et al.*, 2002).

Upaya untuk mengurangi penggunaan pupuk dan pestisida sintetis sangat perlu dilakukan dalam menuju pertanian berkelanjutan yang ramah lingkungan. Belakangan ini perhatian mulai tertuju pada sumber daya biologi dalam meningkatkan kesehatan (ketahanan) tanaman, melalui peran mikroba tanah yang bermanfaat. Mikroba yang bersifat menguntungkan bagi tanaman, seperti rizobakteri dari kelompok *Pseudomonas* spp. dapat berfungsi sebagai penyubur, sebagai sarana pengendali hayati patogen tanaman dan mampu meningkatkan ketahanan tanaman (*induced systemic resistance* (ISR) (McMilan, 2007).

Rizobakteri adalah kelompok bakteri dengan

habitat daerah perakaran tanaman (*rizosphere*) yang telah banyak diteliti dan terbukti dapat meningkatkan kesuburan tanah, meningkatkan ketahanan tanaman dan dapat menekan patogen tanaman. Rizobakteri berperan secara langsung sebagai pupuk biologis dan stimulan biologis dengan memproduksi hormon tumbuh tanaman seperti IAA (*indol acetic acid*) , *gibberelin* , *cytokinin*, *ethylene*, melarutkan mineral, dan secara tidak langsung juga berfungsi mencegah mikroorganisme patogen melalui pembentukan *siderophore*, dan antibiotik (McMilan, 2007; Sarma *et al.*, 2009).

Diantara rizobakteria yang diteliti dan telah banyak mendapat perhatian adalah bakteri *Pseudomonas* spp. yang mampu membentuk *siderophore* yang bersifat antagonis terhadap patogen. Penggunaan Rizobakteri ini pada akar tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman atau melindungi tanaman dari penyebaran patogen tumbuhan dan hama. Rizobakteri *Pseudomonas* spp. memberikan efek positif dengan menempati permukaan jaringan akar tanaman dan memberikan senyawa-senyawa yang menguntungkan bagi tanaman. Beberapa dari bakteri ini masuk lebih jauh lagi ke dalam jaringan dan menjadi endofitik tanpa menyebabkan kerusakan atau perubahan morfologi dalam tanaman (Rosenblueth dan Romero, 2006).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas* spp. dapat meningkatkan hasil dan melindungi tanaman gandum dari patogen *Phyrium* spp. melalui perlakuan benih (Weller dan Cook, 1986); melindungi tanaman kacang tanah dari patogen layu dan akar *Sclerotium rolfsii* (Ganesan dan Gnanamanickam, 1987) dan kacang polong dari patogen *F. oxysporum* f.sp. *fisi* dan *Phyrium ultimun* (Benhamou *et al.*, 1996); dapat menginduksi ketahanan tanaman mentimun terhadap serangan patogen *Colletotrichum orbiculare* melalui perlakuan pada akar benih (Wei *et al.*, 1991).

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri *Pseudomonas* spp yang mampu menginduksi ketahanan tanaman tomat, sehingga diperoleh cara yang mudah, murah dan berwawasan lingkungan dalam mengendalikan penyakit layu *Fusarium*. Dengan demikian dapat memberikan sumbangan dalam pengembangan fitopatologi melalui konfirmasi potensi *Pseudomonas* spp. dalam menginduksi ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit layu *Fusarium*

2. Materi dan Metode

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, autoclav, plastik, laminar air flow, sentrifuge, saringan millipore 0,45 mm MILLEX^o-HA, haemocytometer, handcounter, dan encase. Bahan-bahan yang digunakan adalah alkohol 70%, spiritus, aluminium foil, media selektif King's B, PDA (potato dextrosa agar), PPGA (potato pepton glukosa agar), PD Broth, larutan MgSO₄.7H₂O 0,1 M, 2,6-Dichloronicotinicacid, campuran tanah kompos steril, tanah

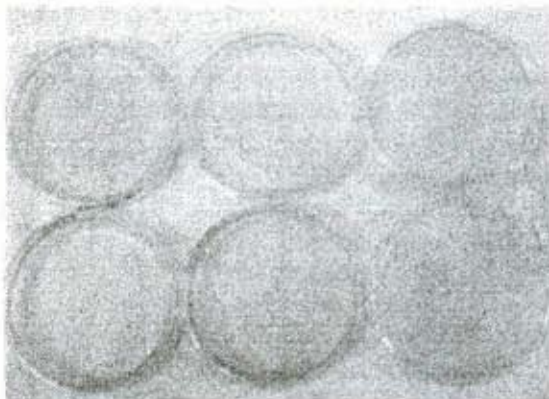
rizosfer berbagai tanaman, stek tanaman panili, dan aquadest.

b. Pengambilan sampel tanah dari berbagai rizoosfer tanaman

Sampel tanah seberat 10 g yang diduga mengandung bakteri *Pseudomonas* spp diambil dari rizoosfer berbagai tanaman seperti jagung, kacang tanah, tomat, cabe, ketela rambat, pakupakuan, dan bawang merah dari 9 (sembilan) kabupaten dan kota di Bali. Jumlah sampel tanah ditentukan berjumlah 90 sampel yang mewakili masing-masing wilayah kabupaten dan kota. Hasil pengambilan sampel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Sampel Tanah Rizosfer Berdasarkan Level Ketinggian Tempat pada Seluruh Kabupaten/ Kota di Bali.

No	Kabupaten/kota	Jumlah sampel pada level ketinggian			Total
		rendah	Menengah	Tinggi	
1	Karangasem	4	4	5	13
2	Klungkung	5	5	-	10
3	Buleleng	4	3	4	11
4	Bangli	-	4	5	9
5	Kota Denpasar	7	-	-	7
6	Badung	3	4	5	12
7	Gianyar	3	3	4	10
8	Tabanan	4	4	4	12
9	Jembrana	3	3	-	6
Total		33	30	27	90



Gambar 1. Warna Koloni bakteri pada media selektif King's B yang dipilih untuk direisolasi dalam mendapatkan isolat murni *Pseudomonas* spp



Gambar 2. Koloni bakteri *Pseudomonas* spp. yang terpilih (22 buah dari 90 sampel tanah rizosfer) yang direisolasi dalam media PPGA

c. *Isolasi bakteri Pseudomonas spp dari sampel tanah rizoosfer dengan media selektif King's B*

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran yaitu : sepuluh gram tanah dari rizosfer dilarutkan dalam 90 ml air steril dan dikocok dengan pengocok mekanis selama 30 menit. Dibuat larutan yang homogen dari masing-masing sampel dan diencerkan sampai 10^{-6} . Bakteri yang ada pada suspensi tersebut diisolasi pada medium King's B Agar, sebanyak 1 ml larutan tersebut ke dalam 10 ml media King's B (Gells dan Schippers, 1983). Setelah 2 hari diinkubasikan pada suhu 28°C, koloni bakteri yang muncul dimurnikan pada medium yang sama dan dipilih yang menghasilkan pigmen hijau terang atau hijau kebiruan (fluorescens) (Noveriza et al., 2000).

Hasil isolasi dengan media King's B Agar disajikan pada Gambar 1 dan 2, serta Tabel 2. Biakan murni bakteri *Pseudomonas spp.* selanjutnya disimpan pada suhu 5 °C dalam larutan 0,1 M MgSO₄.7H₂O steril untuk menjaga viabilitas sel (Suslow dan Schroth, 1982)

d. *Uji patogenitas isolat bakteri Pseudomonas spp. dan potensi sebagai perangsang tumbuh tanaman (PGPR)*

Pengujian patogenitas dan potensi rizobakteri *Pseudomonas spp.* sebagai perangsang tumbuh tanaman (PGPR) dilakukan di rumah kaca, diawali dengan menyiapkan media tanam untuk tanaman indicator (tembakau). Media tanam dibuat dari campuran tanah dan kompos (2:5) yang sudah dioven untuk meminimalkan kontaminasi. Pengovenan media tanam dilakukan selama 2 jam pada minimal 60°C. Media tanam yang sudah dioven dimasukkan ke dalam polybag masing-masing sebanyak 4 kg.

Uji patogenitas dilakukan dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam jaringan daun dengan cara menyuntikan jarum halus diameter 0,4 mm diantara kedua epidermis daun, selanjutnya tekan suntikan untuk memasukan suspensi bakteri sehingga suspensi bakteri masuk ke dalam epidermis daun tanpa merusak epidermis daun. Adanya zoning (bagian tampak kebasahan) pada daun yang terisi

Tabel 2. Hasil isolasi tanah rizoosfer pada media selektif King's B Agar yang menghasilkan warna hijau terang sampai hijau kebiruan.

No	Kode sampel	Warna koloni pada media King's B	Jenis rizosfer
1	KB1	Hijau kebiruan	Kangkung
2	KB2	Hijau kekuningan	Kacang tanah
3	KB4	Hijau terang	Vanili
4	KB16	Hijau kebiruan	Tomat
5	KB19	Hijau kebiruan	Bawang
6	KB24	Hijau keningan	Paku
7	KB29	Hijau kebiruan	Paku
8	KB30	Hijau kekuningan	Vanili
9	KB32	Hijau terang	Ubi jalar
10	KB33	Hijau kekuningan	Ubi jalar
11	KB34	Hijau kebiruan	Kacang tanah
12	KB36	Hijau kekuningan	Ubi jalar
13	KB46	Hijau kebiruan	Ubi jalar
14	KB49	Hijau kekuningan	Tomat
15	KB61	Hijau terang	Jagung
16	KB67	Hijau kebiruan	Cabe
17	KB68	Hijau kebiruan	Kacang tanah
18	KB69	Hijau terang	Kangkung
19	KB71	Hijau kebiruan	Kangkung
20	KB77	Hijau kebiruan	Jagung
21	KB78	Hijau terang	Tomat
22	KB80	Hijau kekuningan	Kangkung

suspensi bakteri berarti cara memasukan suspensi bakteri sudah benar. Selanjutnya daun tembakau diberi label dan diinkubasi selama 24-48 jam. Reaksi dinyatakan positif bila terbentuk gejala nekrotik pada jaringan daun (pada daerah zoning).

Konsentrasi dari bakteri *Pseudomonas* spp. yang digunakan adalah 10^9 cfu/ml dan dilarutkan dalam larutan 0,1 M $MgSO_4$, dimana sebelumnya bakteri ditumbuhkan selama 24 – 48 jam pada media *King's B* agar dalam suhu kamar. Inokulasi bakteri *Pseudomonas* spp. untuk mengetahui potensi sebagai *Plant Growth Promoting Rizobakteria* (PGPR) dilakukan melalui penyiraman pada polybag percobaan. Penyiraman dengan suspensi bakteri *Pseudomonas* spp. dilakukan pada saat penanaman tembakau yaitu pada 7 HSS (hari setelah semai) dalam polybag.

Parameter yang diamati adalah gejala yang timbul akibat uji patogenitas bakteri *Pseudomonas* spp pada daun tanaman indicator (tembakau), tinggi tanaman tembakau (diukur dari permukaan tanah sampai ujung daun tertinggi)



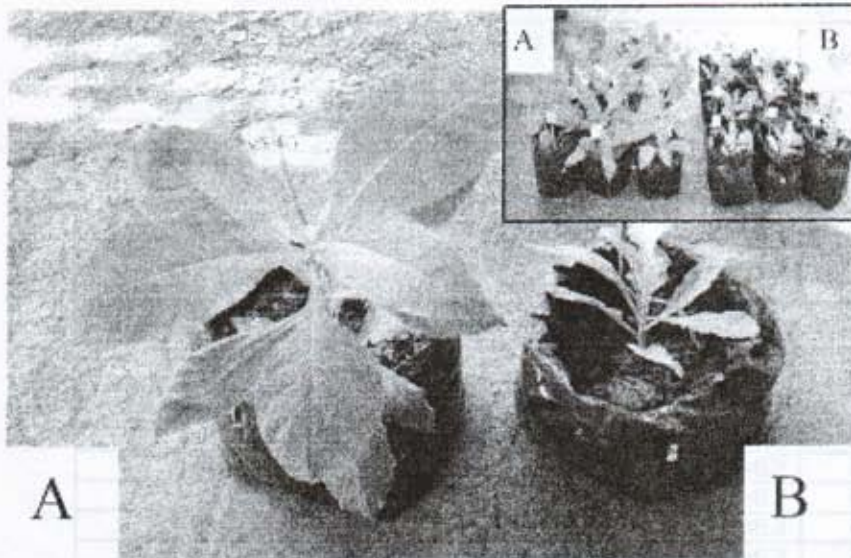
Gambar 3. Gejala nekrosis pada daun tembakau akibat inokulasi bakteri *Pseudomonas* spp dalam uji patogenitas

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

a. Uji patogenitas isolat bakteri *Pseudomonas* spp.

Dari hasil Uji patogenitas ini didapatkan Isolat yang bersifat patogenik antara lain : KB1, KB16, KB19, KB24, KB32, KB33, KB34, KB36, KB49, KB61, KB69,



Gambar 4. Penampilan pertumbuhan tanaman tembakau yang normal (A) dengan pertumbuhan yang kerdil (B) akibat inokulasi dari isolat *Pseudomonas* spp.

Tabel 3. Hasil Uji Parogenitas Isolat Bakteri *Pseudomonas* spp. pada Tanaman Tembakau

No	Kode sampel	Warna koloni pada King's B	Gejala hasil uji patogenitas pada Tembakau	Keterangan
1	KB1	Hijau kebiruan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
2	KB2	Hijau kekuningan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih
3	KB4	Hijau terang	Tanaman tumbuh cukup baik, tidak ada bercak	dipilih
4	KB16	Hijau kebiruan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
5	KB19	Hijau kebiruan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
6	KB24	Hijau keuningan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
7	KB29	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih
8	KB30	Hijau kekuningan	Tanaman tumbuh cukup baik tanpa gejala serangan	dipilih
9	KB32	Hijau terang	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
10	KB33	Hijau kekuningan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
11	KB34	Hijau kebiruan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
12	KB36	Hijau kekuningan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
13	KB46	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih
14	KB49	Hijau kekuningan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
15	KB61	Hijau terang	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
16	KB67	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih
17	KB68	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih
18	KB69	Hijau terang	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
19	KB71	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh cukup baik tanpa gejala serangan	dipilih
20	KB77	Hijau kebiruan	Daun agak kekuningan , ada bercak dan tanaman kerdil	tidak dipilih
21	KB78	Hijau terang	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih
22	KB80	Hijau kekuningan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	dipilih

dan KB77 (Tabel 3). Gejala pada daun nampak berupa becak basah memanjang berwarna coklat, daun berwarna terang kekuningan (Gambar 3) dan diikuti dengan pertumbuhan tanaman yang terhambat (Gambar 4). Gejala yang muncul dari uji patogenitas 22 buah isolat bakteri *Pseudomonas* spp. pada tanaman tembakau terdapat pada Tabel 4.

Sepuluh isolat bakteri lainnya bersifat non patogenik sehingga akan digunakan untuk

pengujian selanjutnya yaitu induksi ketahanan pada tanaman panili. Kesepuluh isolat bakteri *Pseudomonas* spp non patogenik adalah KB2, KB4, KB29, KB30, KB46, KB67, KB68, KB71, KB78, dan KB80. (Tabel 5) Selanjutnya isolat bakteri *Pseudomonas* spp. non patogenik yang diperoleh disimpan pada suhu 5 °C dalam larutan 0,1 M MgSO4.7H2O steril untuk menjaga viabilitas sel.

Tabel 4. Pengaruh inokulasi bakteri *Pseudomonas* spp. terhadap tinggi tanaman indikator/tembakau (cm)

No	Perlakuan	Pengamatan minggu ke							
		I		II		III		IV	
1	KB1	4.00	a	7.05	ef	10.00	f	13.00	bcdefg
2	KB2	4.10	a	9.95	a	17.05	a	21.90	a
3	KB4	3.95	a	9.80	a	15.15	cde	16.90	abcde
4	KB16	4.05	a	5.85	g	7.05	h	9.05	efghi
5	KB19	3.95	a	5.35	gh	6.00	hij	3.60	i
6	KB24	4.05	a	7.00	f	9.35	f	9.95	defghi
7	KB29	3.80	a	9.70	a	15.65	bcde	19.75	abc
8	KB30	4.15	a	8.95	abc	14.95	e	18.90	abc
9	KB32	4.15	a	4.55	hi	5.05	ij	5.20	ghi
10	KB33	3.85	a	5.20	ghi	6.15	hij	8.05	fghi
11	KB34	3.90	a	5.70	g	8.20	g	9.75	defghi
12	KB36	3.70	a	5.75	g	9.80	f	13.15	bcdef
13	KB46	3.95	a	8.05	cde	16.15	abcd	18.10	abc
14	KB49	3.90	a	5.75	g	6.35	h	4.00	i
15	KB61	3.95	a	5.25	ghi	6.20	h	4.00	i
16	KB67	4.10	a	9.05	abc	15.10	de	20.15	ab
17	KB68	4.10	a	9.45	ab	16.25	abc	21.70	a
18	KB69	3.90	a	7.65	def	9.10	fg	12.20	cdefgh
19	KB71	4.05	a	9.05	abc	15.80	bcde	18.90	abc
20	KB77	4.05	a	4.30	i	4.95	j	4.80	hi
21	KB78	3.95	a	8.55	bcd	15.60	bcde	17.00	abcd
22	KB80	4.10	a	9.05	abc	16.35	ab	23.00	a
23	KONTROL	4.00	a	8.95	abc	14.7	e	18.95	abc
	BNT 0.01		0.468		1.031		1.142		7.394

Keterangan : huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang tidak nyata dalam taraf uji BNT 0.01.

b. Uji Potensi sebagai perangsang tumbuh tanaman (PGPR)

Data pada Tabel 4 menunjukkan pengaruh inokulasi bakteri *Pseudomonas* spp terhadap pertumbuhan tanaman tembakau pada pengamatan minggu I sampai minggu IV setelah inokulasi. Minggu I menunjukkan perlakuan inokulasi bakteri *Pseudomonas* spp memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap pertumbuhan tanaman tembakau. Namun setelah minggu II, II dan IV perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P \geq 0.01$). pada minggu IV perlakuan KB2 tidak berbedanya dengan KB4, KB29, KB30, KB46, KB67, KB68, KB 71, KB78, dan KB80, dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya.

3.2 Pembahasan

Isolasi bakteri *Pseudomonas* spp. yang dilakukan dengan pengambilan tanah pada bagian perakaran berbagai tanaman memberi petunjuk bahwa keberadaan bakteri tersebut tidak tergantung dari jenis tanamannya. Bakteri *Pseudomonas* spp tidak saja terdapat pada rizosfer Solanaceae, tetapi juga terdapat pada kacang-kacangan, paku, vanili

dan ubi jalar. Hal ini berarti bahwa bakteri *Pseudomonas* tersebar pada berbagai rizosfer tanaman dan tidak terbatas pada jenis tanaman yang dipilih sebagai sampel dalam pengambilan tanah rizosfer.

Penggunaan media selektif seperti King's B Agar, sangat membantu dalam mempercepat proses isolasi. Media ini memudahkan dalam hal pemilihan isolat karena pada media ini 3 jenis bakteri *Pseudomonas* akan mengekspresikan dirinya dengan warna hijau terang sampai hijau kebiruan, sehingga cukup sebagai langkah awal dalam proses identifikasi bakteri selanjutnya. Bakteri *Pseudomonas* yang menunjukkan warna hijau terang sampai hijau kebiruan adalah *P. Fluorescens*, *P. putida*, dan *P. Aeroginosa.*, yang mana ketiga jenis *Pseudomonas* ini sudah terbukti mempunyai potensi dalam menginduksi ketahanan berbagai jenis tanaman. Sebanyak 90 buah sampel dari berbagai rizosfer tanaman yang tersebar di 8 Kabupaten dan 1 Kota di Bali setelah diisolasi, hanya 22 buah isolat yang menunjukkan warna hijau terang sampai hijau kebiruan atau sekitar 24,4% dari keseluruhan sampel. Mengikuti apa yang telah dilakukan oleh peneliti-

Table 5. Isolat bakteri yang dipilih untuk pengujian induksi ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit layu *Fusarium*

No	Kode sampel	Warna koloni media King's B	Gejala hasil Uji patogenitas pada Tembakau	Asal isolat (rizosfer)
1	KB2	Hijau kekuningan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	Kacang tanah
2	KB4	Hijau terang	Tanaman tumbuh cukup baik, tidak ada becak	vanili
3	KB29	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	paku
4	KB30	Hijau kekuningan	Tanaman tumbuh cukup baik tanpa gejala serangan	vanili
5	KB46	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	ubi jalar
6	KB67	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	cabe
7	KB68	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	kacang tanah
8	KB71	Hijau kebiruan	Tanaman tumbuh cukup baik tanpa gejala serangan	kangkung
9	KB78	Hijau terang	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	tomat
10	KB80	Hijau kekuningan	Tanaman tumbuh dengan baik tanpa gejala serangan	kangkung

peneliti sebelumnya maka eksplorasi bisa lebih diarahkan. Penelitian ini tidak bertujuan untuk membandingkan keberadaan bakteri *Pseudomonas* pada masing-masing wilayah, akan tetapi hanya untuk memperkaya jumlah sampel yang diamati agar lebih beragam. Sebab untuk mengetahui pengaruh wilayah membutuhkan penelitian tersendiri.

Penyimpanan isolat bakteri dalam larutan $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dimaksudkan untuk menjaga viabilitas bakteri tetap dalam kondisi yang baik, agar pada saat dibiakkan tetap menunjukkan pertumbuhan koloni yang bagus sehingga diharapkan kemampuannya dalam menginduksi ketahanan tetap terjaga. Dalam memberikan nutrisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* yang telah disimpan dalam waktu yang cukup lama maka digunakan media PPGA (Potato Pepton Glukosa Agar).

Hasil uji patogenitas bakteri *Pseudomonas* spp pada tanaman indikator menunjukkan bahwa pada beberapa isolat dapat menimbulkan bercak basah kecoklatan disertai dengan pertumbuhan tanaman yang merata ataupun disertai dengan menguningnya warna daun sebelah bawah. Pada beberapa isolat lainnya menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan yang lebih baik dari tanaman kontrol. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya potensi bakteri *Pseudomonas* spp sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rizobacteria*) atau bakteri yang dapat memacu pertumbuhan tanaman. Akan tetapi karena dalam penelitian ini tidak diarahkan untuk itu maka pengamatan hanya dibatasi pada adakah diantara isolat *Pseudomonas* spp yang bersifat sebagai patogen pada tanaman indikator. Bila ia menimbulkan penyakit maka isolat tersebut tidak akan dipilih sebagai sarana penginduksi ketahanan tanaman panili. Munculnya gejala penyakit yang dimaksud tidak saja berupa gejala bercak tetapi juga menguning dan terhambatnya pertumbuhan tanaman tembakau.

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilaksanakan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- a. Isolasi dengan media selektif *King's B* Agar mendapatkan 22 buah isolat bakteri *Pseudomonas* spp. dengan ciri menghasilkan pigmen berwarna hijau terang sampai hijau kebiruan pada media tersebut. Ke 22 isolat tersebut adalah : KB2 (kacang tanah), KB4 (vanili), KB16 (tomat), KB19 (bawang), KB24 (paku), KB29 (paku), KB30 (vanili), KB32 (ubi jalar), KB33 (ubi jalar), KB34 (kacang tanah), KB36 (ubi jalar), KB46 (ubi jalar), KB49 (tomat), KB61 (jagung), KB67 (cabe), KB68 (kacang tanah), KB69 (kangkung), KB71 (kangkung), KB77 (jagung), KB78 (tomat), dan KB80 (kangkung).
- b. Pelaksanaan uji patogenitas pada tanaman tembakau (indikator) mendapatkan Isolat yang bersifat patogenik antara lain : KB1, KB16, KB19, KB24, KB32, KB33, KB34, KB36, KB49, KB61, KB69, dan KB77. sedangkan 10 isolat bakteri lainnya (KB2, KB4, KB29, KB30, KB46, KB67, KB68, KB71, KB78, dan KB80) bersifat non patogenik dan akan digunakan dalam penelitian lebih lanjut untuk menginduksi ketahanan tanaman panili terhadap penyakit busuk batang.
- c. Hasil pengujian potensi isolat *Pseudomonas* spp. sebagai PGPR dengan kemampuan meningkatkan pertumbuhan tanaman indikator lebih dari 14% dibanding kontrol adalah isolat KB2, KB 68, dan KB 80.

4.2 Saran

- a. Untuk mengetahui lebih jauh mengenai keberadaan bakteri *Pseudomonas* spp. dalam suatu rizosfer perlu diteliti lebih jauh mengenai aspek biokimia ekosistem rizosfer yang mempengaruhi kehidupan bakteri *Pseudomonas* spp.
- b. Perlu diteliti lebih jauh faktor yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan tanaman ataupun terpicunya pertumbuhan tanaman akibat inokulasi bakteri *Pseudomonas* spp.
- c. Penelitian perlu dilanjutkan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri *Pseudomonas* spp. dalam menginduksi ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Daftar Pustaka

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology. Fifth Edition*. Department of Plant Pathology University of Florida. Elsevier Academic press, London U.K.
- Alabouvette, C., P. Lemanceau, and C. Steinberg. 1996. "Biological control of Fusarium wilts: opportunities for developing a commercial product". In R. Hall (Ed.). *Principles and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens*. pp. 192-212. American Phytopathological Press, St. Paul Minn.
- Anonimus, 2002. *Budidaya Tomat*. Departemen Pertanian, 2002. Source : ID:305, Posted : 29 April 2002
- Benhamou, N., R.R. Belanger, and T.C. Paulitz. 1996. "Induction of differential host responses by *Pseudomonas fluorescens* in Ri T-DNA-transformed pea roots after challenge with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisii* and *Pythium ultimum*". *Phytopathology*, 86. 1174-1185.
- Chet, I. 1993. *Biotechnology in Plant Disease Control*. Wiley & Sons, Inc. Publication. New York, US.
- Cook, R.J., and Baker, K.F. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogen*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Freeman, S., A. Zveibel, H. Vintal, and M. Maymon. 2002. "Isolation of Nonpathogenic Mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for Biological Control of *Fusarium* Wilt in Cucurbits". *Phytopathology*, 92. 164-168.
- Ganesan, P. and S.S. Gnanamanickam. 1987. "Biological control of *Sclerotium rolfsii* sacc. in peanut by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*". *Soil Biology and Biochemistry*, 19. 35-38.
- Geels, F.P., and B. Schippers. 1983. "Reduction of Yield Depressions in High Frequency Potato Cropping Soil after Seed Tuber Treatments with Antagonistic Fluorescent *Pseudomonas* spp". *Journal of Phytopathology*, 108. 207-214.
- McMillan, S., 2007. *Promoting Growth with PGPR*. The Canadian Organic Grower. www.cog.ca. Page 32-34.
- Noveriza, R., K. Mulya, dan D. Manohara. 2000. "Potensi antagonis untuk pengendalian *Phytophthora capsici*". *Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah PFI*. Purwokerto, 16-18 September 1999.
- Rosenblueth, M. and E. Martinez-Romero. 2006. "Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19. 827-837.
- Sarma, M.V., R.K. Saharan., K. Prakash. A, Bisaria, and V.Sahai. 2009. Application of Fluorescent Pseudomonads Inoculant Formulations on *Vigna mungo* through Field Trial. *International Journal of Biological and Life Sciences*, 5. 25-29.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-penyakit tanaman Perkebunan di Indonesia*. Gajah mada University Press. Yogyakarta.
- Suslow, T.V. and M.N. Schroth. 1982. "Rhizobacteria of sugar beets: Effects of seed application and root colonization on yield". *Phytopathology*, 72. 199-206.
- Walker, J.C. 1957. *Plant Pathology. 2nd Ed*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Wei, G, Kloepper, J.W., and Ruzun, S. 1996. "Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth promoting rhizobacteria under field conditions". *Phytopathology*, 86. 221-224.
- Weller D.M., and R.S. Cook. 1986. "Increased growth of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads, and implications of *Pythium* control". *Canadian Journal of Plant Pathology*, 8. 328-334.
- Wei, G, Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1991. "Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria". *Phytopathology*, 81. 1508-1512.
- Wibowo, A. 2005. "Colonization of tomato root by antagonistic bacterial strains to fusarium wilt of tomato". *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 11. 66-76.