

**UJI EFEKTIVITAS RIZOBAKTERI SEBAGAI ANTAGONIS
Sclerotium rolfsii PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BATANG PADA
TANAMAN KACANG TANAH (*Arachis hypogea* L.)**

Ni Kadek Desy Andya Dewi¹, Dewa Ngurah Suprpta², dan Khamdan Khalimi^{2*)}

¹Program Magister Bioteknologi Pertanian, Program Pascasarjana
Universitas Udayana

²Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana

*)Corresponding author: khamdankhalimi@yahoo.com

Abstract

Groundnut (*Arachis hypogea* L.) is one of important commodities in Indonesia, however the production of groundnut is still relatively low which is partly because of the plant disease i.e. stem rot disease caused by *Sclerotium rolfsii*. Rhizobacteria is one of the solutions to be used as the biological control agent against *S. rolfsii*. The aim of this study is to know the effectiveness of rhizobacteria to control stem rot disease caused by *S. rolfsii*. The results the study showed that among 130 isolates of rhizobacteria tested against *S. rolfsii*, 11 isolates showed inhibitory activity, and among them one isolate, BjTk11 from exposed the highest inhibitory activity (96.09%) against *S. rolfsii*. On a green house experiment, treatment with formula of isolate BjTk 11 at doses of 5 g, 10 g, 15 g and 20 g per polybag effectively controlled the pre emergence damping off (disease incidence = 0%) while the disease incidence on control was 23.5%. No post emergence damping off symptom was observed on groundnut treatment with formula of isolate BjTk11, while the disease incidence on control was 75%. The number of sclerotia in soil of control was 79/gram of soil which is obviously higher than those of treatments. The mode of action the rhizobacteria isolates BjTk11 in inhibiting the growth of *S. rolfsii* is through antibiosis where the rhizobacteria produce the antifungal compound Butanediol, R - (-) - 1,2-propanediol, 2,3-Butanediol, Isopropyl Alcohol, Acetic acid, anhydride with formic Acid, 2-bromohexane, 4,5-Diamino-6-hydroxypyrimidine, 4H-Pyran-4-one, 3-hydroxy-2-methyl and Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. The presence of these compounds probably closely related to the inhibitory activity against *S. rolfsii*.

Keywords: Groundnut, stem rot disease, *Sclerotium rolfsii*, rhizobacteria

I. Pendahuluan

Kacang tanah (*Aracis hypogea* L.) adalah salah satu komoditas pertanian utama di Indonesia. Indonesia harus mengimpor sekitar 30% dari total permintaan kacang tanah, karena produksi dalam negeri tidak dapat memenuhi permintaan domestik. Berdasarkan data yang ditunjukkan oleh Badan Statistik Indonesia (2016), produksi kacang tanah pada tahun 2012 adalah 712.857 ton, turun menjadi 605.449 pada tahun 2015. Salah satu penyebabnya adalah terjadinya penyakit tanaman. Salah satu penyakit yang paling hancur adalah penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii* (Rani, 2017). Adiver (2003) melaporkan bahwa serangan *S. rolfsii* pada kacang tanah mengakibatkan 25-50% kehilangan hasil, yang akan sangat berbahaya bagi petani.

Pestisida kimia biasanya digunakan untuk mengendalikan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *S. rolfsii*. Penggunaan pestisida kimia buatan dapat membahayakan ekosistem karena akumulasi bahan kimia aktif yang sulit terurai oleh mikroorganisme.

Mengendalikan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *S. rolfsii* dapat dilakukan dengan menggunakan rizobakteria yang diklasifikasikan ke dalam *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Rizobakteria adalah bakteri yang hidup dan berkembang di sekitar tanaman yang dapat bermanfaat bagi tanaman. Ini bekerja dalam menyediakan nutrisi untuk tanaman dan mobilisasi nutrisi pada tanaman. Salah satu mekanisme rizobakteria dalam melindungi tanaman adalah menginduksi resistensi sistemik sehingga keberadaan infeksi pathogen dapat dihambat dan tidak mengganggu pertumbuhan tanaman. Resistensi sistemik yang diinduksi tergantung pada kolonisasi sistem root oleh rhizobakteria. Kolonisasi rhizobakteria dapat terjadi melalui stek benih atau penambahan suspensi rhizobakteria ke dalam tanah setelah transplantasi.

Rhizobakteria dapat ditemukan di rizosfer tanaman yang dikaitkan dengan akar tanaman yang bertindak sebagai bakteri antagonis seperti *Bacillus* spp., dan *Pseudomonas fluorescens*. Menurut Sumartini, rhizobakteria 2011 yang berasal dari rizosfer tanaman kacang lebih efektif dalam mengendalikan jamur *S. rolfsii* sebagai penyebab busuk batang pada tanaman kacang tanah. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas dari rizobakteria dalam mengendalikan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh jamur *S. rolfsii* pada kacang tanah.

2. Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida dan di Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Udayana dari bulan Desember 2017 sampai dengan bulan Juni 2018.

2.2 Pelaksanaan Penelitian

Isolat Rhizobacteria dan isolat *S. rolfsii* disediakan oleh Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Uji in vitro dilakukan di Laboratorium Biopestisida, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana, sedangkan uji in vivo dilakukan di rumah kaca Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Analisis molekuler 16S rRNA dilakukan di Genetika Science Indonesia, Jakarta, dan analisis senyawa antijamur dilakukan di Laboratorium Forensik POLDA Bali. Sebanyak 130 isolat rhizobacteria diuji aktivitas daya hambat terhadap *S. rolfsii* pada media PDA. Isolat dengan daya hambat tertinggi dipilih dan digunakan untuk pengujian lebih lanjut seperti identifikasi molekuler, uji efektivitas pada tanaman kacang tanah di rumah kaca, menganalisis senyawa antijamur menggunakan metode GC-MS. Data dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Varians*). Apabila uji F menunjukkan pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolat Rizobakteri yang Bersifat Antagonis dan Daya Hambat terhadap Jamur *S. rolfsii*

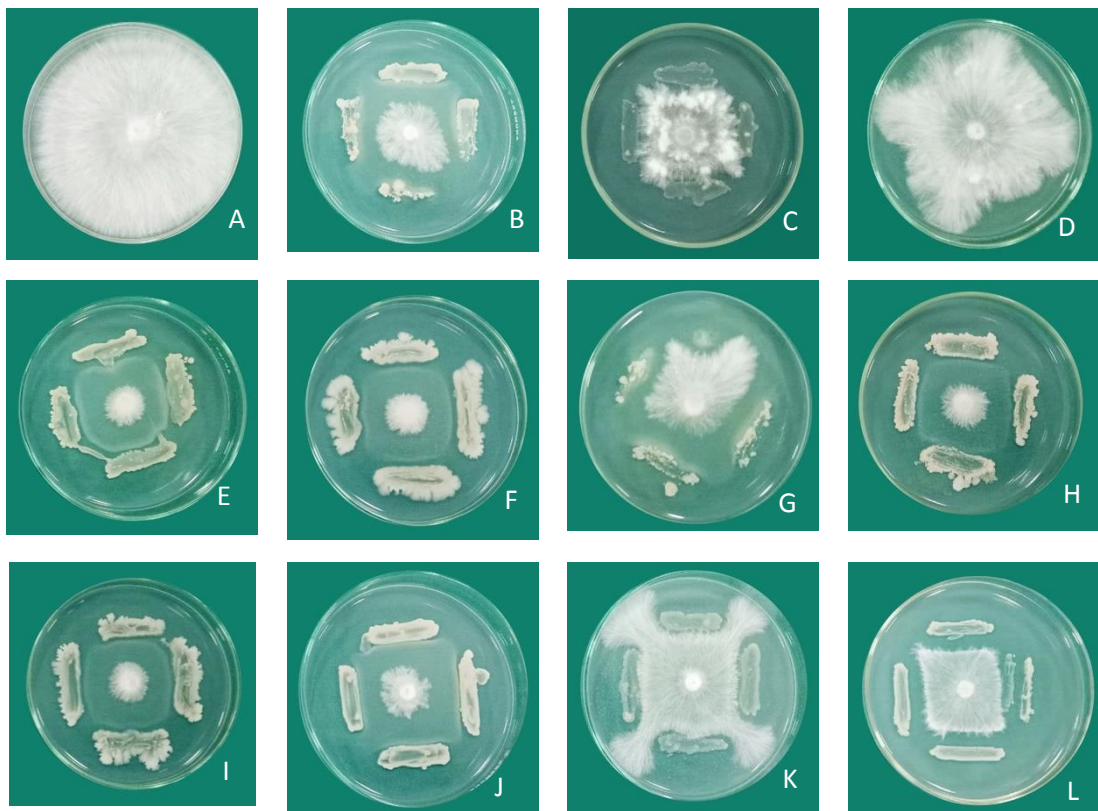
Hasil penelitian menunjukkan bahwa di antara 130 isolat rizobakteri diuji terhadap *S. rolfsii*, 11 isolat menunjukkan adanya daya hambat terhadap jamur tersebut. Isolat tersebut adalah isolate BjTk11, Rend11, BJB11, MjSg79, MjSg25, BcBd33, MjSg21, BjOR4, BIBd14 dan MwBd19. Terdapat satu isolate yang memiliki daya hambat paling tinggi mencapai 96,09% terhadap *S. rolfsii* yaitu isolate BjTk11.

Table 1 Daya hambat rizobakteri terhadap jamur *S. rolfsii*

No.	Isolat	Diameter kolonijamur <i>S.rolfsii</i> (mm ²)	DayaHambat(%)
1.	BjTk11	200a*)	96.09
2.	Rend11	256.67ab	94.98
3.	BjB11	271.33ab	94.70
4.	MwBd11	311.67bc	93.91
5.	MjSg79	346c	93.24
6.	MjSg25	712d	86.08
7.	BcBd33	1051e	79.46
8.	MjSg21	1520.33f	70.28
9.	BjOR4	2177.33g	57.44
10.	BIBd14	3928.33h	23.21
11.	MwBd19	4316.33i	15.63
12.	Control	5116.0000j	0

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

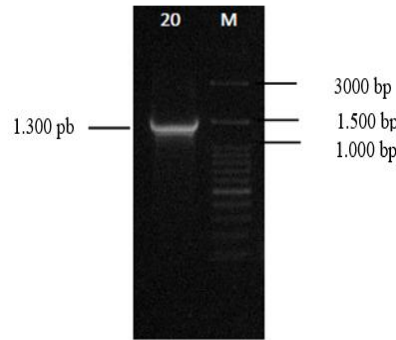
Menurut Fernando et al. (2005), mekanisme penghambatan tersebut adalah dengan menghasilkan antibiotik, toksin, siderofor, serta hidrogensianida (HCN). Kemampuan rizobakteri dalam menghasilkan senyawa antibiotic untuk menghambat pertumbuhan patogen juga telah dilaporkan beberapa peneliti. Reddy (2014) menyatakan bahwa spesies bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. Mampu menekan pertumbuhan pathogen tanaman dengan memproduksi senyawa antibiotik yang bersifat antijamur. Sarvani dan Reddy (2013) menyatakan bahwa sebanyak 7 isolat bakteri *Bacillus* sp. mampu memproduksi siderofor dan hidrogensianida (HCN) ketika diuji kemampuan antagonisnya terhadap jamur *S. rolfsii* secara in vitro. Menurut Ramyasmruthi et al. (2012), enzimitik yang dihasilkan mikroba mampu mendegradasi dinding sel jamur dengan cara memecah ikatan dari senyawa polimer, seperti: kitin, selulosa, hemiselulosa, dan protein.



Gambar 1. Aktivitas penghambatan beberapa rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada media PDA umur 3 hari setelah inokulasi. (A) Control (B) cultured with isolate MjSg25, (C) MjSg21, (D) MwBd19, (E) Rend11, (F) BJB11, (G) B1Bd14, (H) BJTk11, (I) MwBd11, (J) MjSg79, (K) BJO4, (L) BcBd33

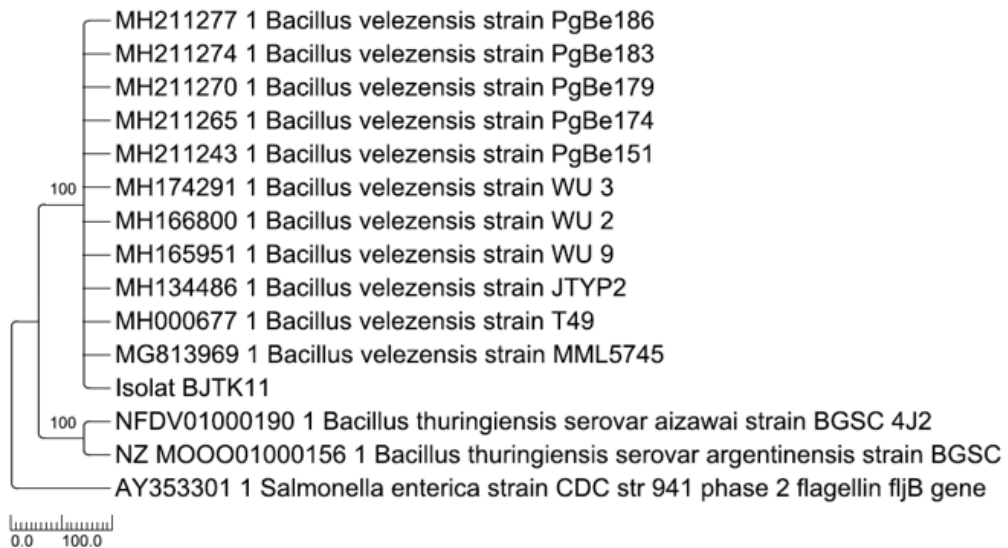
a. *Identifikasi molekuler Rizobakteri Isolat BjTk11*

Amplifikasi PCR dengan menggunakan 16S rRNA dengan 16S primers (63F 5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3 ' dan 1387R (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3 ') dan panjang produk DNA adalah ± 1,300 pb (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil PCR dari rizobakteri isolat BjTk11

Hasil analisis pohon pilogeni dengan menggunakan metode Maximum Parsimony (MP) dengan 1,000 kali ulangan menunjukkan bahwa rizobakteri isolat BjTk11 adalah *Bacillus velezensis*, (Gambar 3). Dharmayanti (2011) menyatakan bahwa untuk cabang dalam topologi filogenetik dapat diprediksi signifikan jika set data yang di-resampled harus diulang (misalnya > 70%) dalam memprediksi cabang yang sama.



Gambar 3. Analisis Filogeni dari isolat BjTk11

3.3 *Uji efektivitas formula rizobakteri isolat BjTk11 untuk mengendalikan Penyakit Busuk Batang pada Kacang Tanah di RumahKaca*

Pada percobaan rumah kaca, perlakuan dengan formula isolate BjTk 11 dengan dosis 5 g, 10 g, 15 g dan 20 g per polybag secara efektif mengendalikan

redaman kemunculan pra-kejadian (insiden penyakit = 0%) sementara insiden penyakit pada control adalah 23,5%. Tidak ada gejala kemunduran pasca kemunculan yang diamati pada perlakuan kacang tanah dengan formula isolat BjTk11, sedangkan kejadian penyakit pada control adalah 75%.

Dosis (gram/tanaman)	<i>Pre-</i> <i>emergencerebahkecambah</i> (%)	<i>Post</i> <i>emergencerebahkecambah</i> (%)
0 (K+)	32.25 a	80 a
0 (K-)	0 b	0 b
5	0 b	0 b
10	0 b	0 b
15	0 b	0 b
20	0 b	0 b

Cara kerja rhizobacteria mengisolasi BjTk11 dalam menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* adalah melalui antibiotik di mana rizobakteria isolate BjTk11 setelah dianalisis dengan GC-MS menghasilkan senyawa antijamur Butanediol, R - (-) - 1,2-propanediol, 2,3-Butanediol, Isopropyl Alkohol, Acetic asam, anhidrida dengan Asam format, 2-bromoheksana, 4,5-Diamino-6-hidroksifrimidin, 4H-Pyran-4-one, 3-hidroksi-2-metil dan Sikotrisiloksan, hexamethyl-. Kehadiran senyawa-senyawa ini mungkin terkait erat dengan aktivitas penghambatan terhadap *S. rolfsii*.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat Rhizobacteria BjTk11 secara efektif menghambat pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit busuk batang pada kacang tanah dengan aktivitas penghambatan sebesar 96,09% pada media PDA.
2. Formula BjTk11 dengan dosis 5 hingga 20 gram per pot, secara efektif menekan gejala penyakit akar batang pada kacang tanah.
3. Isolate BjTk11 diidentifikasi sebagai *Bacillus velezensis*
4. Mekanisme isolat rhizobacteria BjTk11 dalam menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* adalah melalui antibiotik dengan memproduksi senyawa antijamur seperti Butanediol, R - (-) - 1,2-propanediol, 2,3-Butanediol, Isopropyl Alkohol, Acetic asam, anhidrida dengan Asam format, 2-bromoheksana, 4,5-Diamino-6-hydroxypyrimidine, 4H-Pyran-4-one, 3-hydroxy-2-methyl dan Cyclotrisiloxane, hexamethyl.

4.2 Saran

Adapun saran dalam penelitian ini adalah perlu dilakukan uji lapangan perlu dilakukan untuk mengetahui efektivitas formula isolat BjTk11 untuk mengendalikan npenyakit busuk batang pada kacang tanah dalam kondisi lapangan.

Daftar Pustaka

- Adiver S.S. 2003. Influence of Organic Amendments and Biological Components on Stem Rot of Groundnut. National Seminar on Stress Management in Oilseeds For Attaining Self Reliance in Vegetable Oil Indian Society of Oilseeds Research, Directorate of Oilseeds Research, Hyderabad. January 28 -30, pp. 15-17.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T. and Samiyappan, R. 2002. Induction of defence related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici. *Plant and Soil*. 239, 55-68
- Rani, R. A. 2017. STEM ROT OF GROUNDNUT INCITED BY SCLEROTIUM ROLFII SACC. AND IT'S MANAGEMENT - A REVIEW. *International Journal of Agricultural Science and Research* . 7: 327-338
- United State Department of Agriculture Natural Resources Conservation <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=ARHY&display=31>
- USDA-FAS. 2010. United States Department of agricultural service groundnut area, yield, and production. [<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>] date of accessed on June, 22nd 2018
- Reddy, P.P. 2014. Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection. India: Springer.
- Sarvani, B. and Reddy, R.S. 2013. In vitro Screening of Native Bacillus Isolates for Plant Growth Promoting Attributes. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*. 4 (2): 298-303.