

Uji Antagonistik Beberapa Rizobakteri terhadap *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kacang Tanah

NYOMAN RAI KUNTALINI
KHAMDAN KALIMI *)
NI MADE PUSPAWATI

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana

*)Corresponding author at: Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali

Email : KhamdanKhalimi@yahoo.com

ABSTRACT

Antagonistic Test of Some Rhizobacteria Against *Sclerotium rolfsii* Sacc. Causes Damping Off Disease in Peanut Plant

Damping-off disease is one of the important diseases on peanut plants caused by the fungi *Sclerotium rolfsii* Sacc. Control which is currently only with synthetic pesticides, which many negative impacts on ecosystems and humans. The many negative effects of pesticides would require alternative more environmentally friendly control. One alternative that can be recommended is the use of rhizobacteria which acts as a biological agent.

The results showed that there were some rhizobacteria that effectively inhibit the growth of *S. rolfsii* Sacc. the inhibition test *in vitro* with the highest inhibition in the treatment of *K. pneumoniae* isolates KCX1GRA by 94.9% when compared with controls at 3 days after inoculation observation. Rhizobacteria filtrate tested *in vitro* showed that the treatment of the filtrate concentration of 10% - 20% on respectively filtrate rhizobacteria able to inhibit the growth of fungus *S. rolfsii* Sacc. Treatment of the filtrate rhizobacteria isolates 20M2 and KCX1GRA concentration of 20% -50% able to kill the fungi *S. rolfsii* Sacc., while the filtrate rhizobacteria isolates KCBS and Pi1 concentration of 30% -50% are also able to kill the fungi *S. rolfsii* Sacc. In the glass house study, the treatment was able to suppress rhizobacteria disease incidence in peanuts from 92% to 8% -10% compared with the control treatment was 92% at 6 weeks after planting observation.

Keywords: *rhizobacteria, biological agents, and S. rolfsii* Sacc.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Sclerotium rolfsii Sacc. merupakan patogen penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah. Jamur ini bersifat polifag, yaitu dapat menyerang

bermacam-macam tanaman (Ferreira and Boley, 2006). Penyakit busuk batang merupakan salah satu penyakit penting dan sering kali menyebabkan kehilangan hasil yang tinggi pada pertanaman kacang tanah. Patogen ini juga bersifat tular tanah (*soil borne*) dimana pengendalian pada tanah yang telah terkontaminasi sulit untuk dilakukan dan mampu bertahan hidup di dalam tanah dalam waktu yang lama.

Pengendalian yang selama ini dilakukan adalah dengan menggunakan pestisida sintetis. Menurut Suprapta (2005) penggunaan pestisida sintetis bisa berdampak buruk terhadap ekosistem, akibat akumulasi bahan-bahan kimia aktif yang sulit terurai oleh mikroorganisme di alam. Banyaknya dampak negatif pestisida sintetis tentu memerlukan alternatif pengendalian yang lebih ramah lingkungan pada lahan pertanian. Upaya untuk mengurangi penggunaan pestisida sintetik akhir-akhir ini banyak mendapat perhatian karena adanya permintaan produk pertanian yang sehat dan aman bagi konsumen. Salah satu cara yang dapat direkomendasikan dan merupakan salah satu alternatif pengendalian adalah penggunaan rizobakteri yang berperan sebagai agens hayati.

Laboratorium Biopestisida Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana telah memiliki 20 jenis rizobakteri yang berasal dari akar rumput teki di lumpur lapindo, rizosfer kacang tanah, kacang kedelai, sereh, alang-alang, dan padi yang diisolasi di berbagai lokasi di Bali. Rizobakteri tersebut adalah *Pausteurella multocida* Mimo; *Shigella* spp. Pi1; *Serratia marcescens* biogpi Pi4; *Klebsiella pneumonia* KTNA2; *Serratia marcescens* KDDPA2; *Acinetobacter baumannii* KTG3; *Aeromonas hydrophila* KTBLT2; *Aeromonas hydrophila* 20M14; *Aeromonas hydrophila* PA16; *Enterobacter gergoviae* Pi8; *Yersinia rohdei* 20M2; *Serotrophomonas maltophilia* KTTA4; *Klebsiella pneumoniae* GSA6; *Serratia liquefaciens* AL2TT; *Klebsiella pneumonia* KCX1GRA; *Enterobacter agglomerans* CHD3; *Bacillus subtilis* Biop1; *Bacillus subtilis* Biop2; *Pseudomonas fluorescens* KCBS; *Aeromonas hydrophila* KDTBA1.

Hasil penelitian Mahartha (2013) menunjukkan bahwa ada beberapa dari rizobakteri tersebut memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan patogen *Fusarium oxysporum* secara *in vitro*, sehingga sangat memungkinkan untuk digunakan dalam mengendalikan patogen tular tanah lainnya seperti *S. rolfsii* Sacc. yang merupakan salah satu patogen penting pada tanaman kacang tanah. Usaha untuk mendapatkan rizobakteri yang dapat digunakan sebagai agens hayati terhadap penyakit rebah kecambah tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang seleksi rizobakteri yang potensial sebagai agens hayati terhadap penyakit rebah kecambah pada tanaman kacang tanah.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah bagaimana efektivitas 20 jenis rizobakteri tersebut dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro* dan menekan persentase penyakit rebah kecambah pada kacang tanah secara *in vivo*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas 20 jenis rizobakteri tersebut dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro* dan menekan persentase penyakit rebah kecambah pada kacang tanah secara *in vivo*.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Desember 2013 sampai April 2014. Penelitian secara *in vitro* dilakukan di Laboratorium Biopestisida. Sedangkan penelitian secara *in vivo* di rumah kaca Kebun Percobaan, Fakultas Pertanian Universitas Udayana di Jl. Pulau Moyo 16X, Denpasar Selatan.

2.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kacang tanah, isolat jamur *S. rolfsii* Sacc. diperoleh dari koleksi Laboratorium Biopestisida Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana, rizobakteri sebanyak 20 jenis yaitu *P. multicolon* Mimo; *S. serogroups A, B* dan *C* Pi1; *S. marcescens* biogpi Pi4; *K. pneumonia* KTNA2; *S. marcescens* KDDPA2; *A. baumannii* KTG3; *A. hydrophila* KTBLT2; *A. hydrophila* 20M14; *A. hydrophila* PA16; *E. gergoviae* Pi8; *Y. rohdei* 20M2; *S. maltophilia* KTTA4; *K. pneumoniae* GSA6; *S. liquefaciens* AL2TT; *K. pneumonia* KCX1GRA; *E. agglomerans* CHD3; *B. subtilis* Biop1; *B. subtilis* Biop2; *P. floescens* KcBs; *A. hydrophila* KDTBA1, formulasi rizobakteri, kentang, sukrosa, agar, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB), Polymer Penyimpan Air (PPA), aquades, pupuk kompos, dan sekam.

Alat yang digunakan adalah labu *erlenmeyer*, cawan Petri, tabung reaksi, gelas ukur, pipet mikro, *cover glass*, *deck glass*, *microscope slides*, *autoclave*, oven, pinset, sendok, kompor gas, api bunsen, panci, alat sentrifugasi, membran Millipore 0,45 µm, timbangan digital, jarum ose, pisau, gunting, *shaker*, *laminar flow cabinet*, penjepit, *counter*, saringan, kain kasa, tissue, *aluminium foil*, kapas, masker, polibag ½ kg, alat tulis, kertas kalkir, kertas millimeter blok, kamera digital, kertas buram, dan kertas label.

2.3 Metode Pelaksanaan

2.3.1 Peremajaan jamur *S. rolfsii* Sacc. dan rizobakteri

Jamur *S. rolfsii* Sacc. yang digunakan untuk penelitian ini merupakan jamur patogen yang sudah dibuktikan patogenisitasnya terhadap tanaman kacang tanah dengan postulat Koch. Jamur *S. rolfsii* Sacc. dibiakkan dalam cawan Petri yang

berisi media PDA dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Hasil biakan tersebut akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Peremajaan 20 jenis rizobakteri sebagai agens hayati dilakukan dengan membiakkan kembali isolat rizobakteri yang telah ada di laboratorium pada media PDA baru yang ditambah dengan 200 μ nystatin. Biakan ini diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang dan siap digunakan.

2.3.2 Uji daya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro*.

Pengujian daya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Uji daya hambat dilaksanakan untuk mengetahui isolat mana yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. Uji daya hambat dilakukan dengan cara menginokulasikan jamur *S. rolfsii* Sacc. di tengah-tengah cawan Petri yang telah berisi media PDA kemudian menginokulasikan isolat bakteri pada 4 sisi mengapit jamur masing-masing berjarak 2 cm dari jamur *S. rolfsii* Sacc. Sebagai kontrol digunakan jamur *S. rolfsii* Sacc. yang diinokulasikan di tengah- tengah cawan Petri yang telah berisi media PDA. Setiap isolat rizobakteri dibuat dengan tiga kali ulangan.

Luas koloni jamur *S. rolfsii* Sacc. ditentukan dengan menggunakan kertas milimeter blok dan kertas kalkir. Koloni jamur dari masing-masing perlakuan di gambar dalam kertas kalkir dan dihitung luasnya dengan kertas milimeter blok. Persentase daya hambat rizobakteri terhadap jamur *S. rolfsii* Sacc. ditentukan dengan rumus:

$$\text{Daya Hambat} = \frac{\text{Luas Koloni Kontrol} - \text{Luas Koloni Perlakuan}}{\text{Luas Koloni Kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots 1$$

2.3.3 Uji daya hambat filtrat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro*

Sebanyak 4 rizobakteri hasil uji *in vitro* yang memiliki kemampuan daya hambat tertinggi dibiakkan pada media PDYB. Media PDYB terdiri dari 200 gr kentang, 2 gr NPK, 1 gr yeast extract, dan 5 gr sukrosa. Semua bahan di *fill up* menjadi 1000 ml dan di sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121⁰ c dengan tekanan 1,5 atm (atmosfer) selama 20 menit. Media PDYB dibuat untuk masing-masing isolat rizobakteri yang akan digunakan sebagai perlakuan. Setelah dingin, masing – masing media PDYB ditambahkan 1 ml suspensi rizobakteri sesuai dengan jenisnya. Selanjutnya kultur rizobakteri tersebut dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 14 hari. Selanjutnya, kultur disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 15 menit. Supernatan disaring menggunakan membran

Millipore 0,45 μm (Nihon Millipore Ltd.Yonezawa). Kemudian filtrat kultur diuji daya hambatnya terhadap koloni jamur *S. rolfsii* Sacc. pada cawan Petri.

Pengujian daya hambat filtrat terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. dilakukan dengan beberapa konsentrasi yaitu: 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Untuk mendapatkan konsentrasi 10% tersebut diperoleh dengan menuangkan 1 ml filtrat ke dalam cawan Petri dan menambahkan 9 ml media PDA. Setelah campuran PDA dan filtrat memadat, kemudian jamur *S. rolfsii* Sacc. yang telah dibiakkan pada cawan Petri diambil dan dipisahkan dengan menggunakan *cork borer* diameter 5 mm, kemudian menggunakan jarum *ose* isolat jamur tersebut diletakkan tepat di bagian tengah cawan Petri. Kultur jamur tanpa filtrat disiapkan sebagai kontrol. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar $\pm 27,5 - 29,5^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari hingga jamur pada kontrol memenuhi cawan Petri. Luas koloni jamur *S. rolfsii* Sacc. ditentukan dengan menggunakan kertas milimeter blok dan kertas kalkir. Koloni jamur dari masing – masing perlakuan di gambar dalam kertas kalkir dan dihitung luasnya dengan kertas milimeter blok. Pengamatan dilakukan setiap hari. Perhitungan luas koloni dan persentase daya hambat filtrat sama seperti metode pada uji daya hambat rizobakteri.

2.3.4 Pembuatan inokulum *S. rolfsii* Sacc.

Pembuatan inokulum bertujuan untuk menyediakan jamur patogen yang akan diinokulasikan pada media tanam saat uji *in vivo* serta membantu jamur *S. rolfsii* Sacc. beradaptasi dengan lingkungannya. Pembuatan media untuk inokulum dilakukan dengan cara merebus 500 gr kentang yang telah dikupas dan dicuci bersih hingga setengah lunak. Selanjutnya tambahkan 800 gr tepung gandum, 20 gr sukrosa, 14 gr agar-agar. Selanjutnya campur semua bahan dan rebus hingga kentang benar-benar lunak dan semua bahan tercampur rata hingga menjadi bubur kentang. Selanjutnya bubur kentang di sterilasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Setelah dingin bubur kentang dimasukan pada cawan Petri di dalam *Laminar Flow*. Selanjutnya diinokulasikan jamur *S. rolfsii* Sacc. di atas bubur kentang dan diinkubasi dalam suhu ruang $\pm 27,5^{\circ}\text{C} - 29,5^{\circ}\text{C}$ hingga jamur tumbuh memenuhi cawan Petri. Setelah jamur tumbuh memenuhi cawan Petri, maka jamur tersebut bisa digunakan untuk pengujian secara *in vivo*.

2.3.5 Pembuatan formulasi rizobakteri dalam bentuk formula gel

Isolat rizobakteri yang akan diuji kemampuannya dalam menekan persentase penyakit rebah kecambah secara *in vivo* adalah empat isolat rizobakteri yang memiliki persentase daya hambat tertinggi terhadap *S. rolfsii* Sacc. pada pengujian secara *in vitro*. Langkah pertama dalam pembuatan formula gel adalah perbanyakan rizobakteri dalam media PDYB. Media PDYB dibuat untuk masing-masing isolat rizobakteri yang akan digunakan sebagai perlakuan. Setelah dingin, masing-masing

media PDYB ditambahkan 1 ml suspensi rizobakteri sesuai dengan jenisnya. Kedua, sebanyak 20 gr polimer penyimpan air untuk masing – masing rizobakteri ditambah dengan 250 ml media PDYB yang sudah ditumbuhi rizobakteri sesuai jenisnya. Setelah \pm 2 jam, media PDYB tersebut akan diserap oleh polimer penyimpan air menjadi gel dan gel siap digunakan.

2.3.6 Uji efektifitas rizobakteri dalam menekan persentase penyakit rebah kecambah pada tanaman kacang tanah di rumah kaca

Ada beberapa tahapan dalam melakukan uji efektivitas rizobakteri dalam menekan persentase penyakit rebah kecambah pada tanaman kacang tanah di rumah kaca. Pertama, sebelum disemai benih kacang tanah direndam dalam air hangat selama 24 jam. Selanjutnya benih ditiriskan di atas tissue basah dan diinkubasi selama 24 jam. Benih yang sudah berkecambah akan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Kedua adalah persiapan media tanam. Media tanam terdiri dari tanah, sekam dan pupuk kompos. Selanjutnya bahan-bahan tersebut diaduk rata. Media tanam yang telah tercampur dimasukkan ke dalam polibag ukuran 0.5 kg. Polibag tersebut diletakkan di meja rumah kaca yang telah disiapkan sebelumnya. Media tanam selanjutnya dilubangi sedalam 5 cm. Lubang pada media tanam selanjutnya diinokulasikan 5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc. per polibag. Inokulasi inokulum *S. rolfsii* Sacc. dilakukan bersamaan saat penyemaian benih dan pengaplikasian formulasi bakteri. Untuk perlakuan rizobakteri, lubang yang berisi 5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc. ditambahkan 5 gr formula gel sesuai dengan jenis rizobakteri yang akan diuji.

Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Setiap perlakuan terdiri dari 10 polibag pada tiap ulangan dan setiap polibag berisi satu benih kacang tanah. Sehingga jumlah seluruh tanaman adalah : perlakuan x ulangan x jumlah tanaman = $5 \times 5 \times 10 = 250$ tanaman. Perlakuan yang akan diuji yaitu:

KT = kontrol (5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc.)

TA = 5 gr formula gel rizobakteri isolat A + 5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc.

TB = 5 gr formula gel rizobakteri isolat B + 5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc.

TC = 5 gr formula gel rizobakteri isolat C + 5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc.

TD = 5 gr formula gel rizobakteri isolat D + 5 gr inokulum *S. rolfsii* Sacc.

Parameter yang akan diamati adalah persentase penyakit rebah kecambah di rumah kaca. Pengamatan dilakukan setiap hari yaitu dengan menghitung jumlah tanaman yang terinfeksi dan jumlah tanaman sehat. Rumus persentase penyakit menurut Sudarma (2001) adalah sebagai berikut:

Keterangan : P = Persentase penyakit
a = jumlah tanaman yang terinfeksi / perlakuan
b = total jumlah tanaman / perlakuan

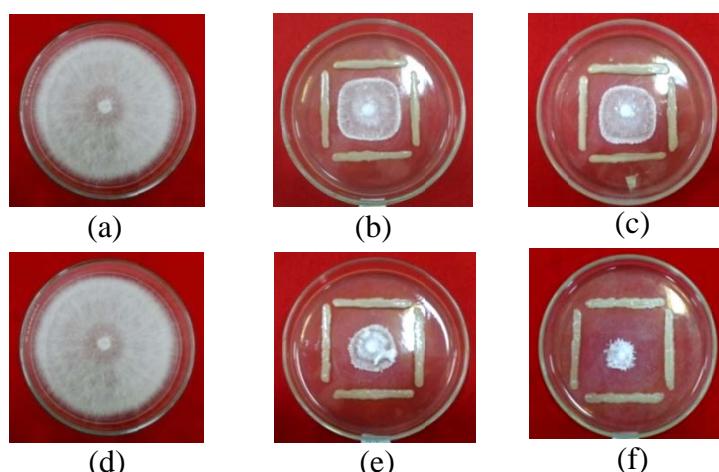
2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analisi of Varians*). Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Duncan taraf 5%.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Uji daya hambat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara in vitro

Berdasarkan hasil uji daya hambat dari 20 jenis rizobakteri, terdapat 8 jenis rizobakteri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc., dan secara efektif mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. (Tabel 1). Persentase daya hambat optimum terjadi pada pengamatan 3 HSI dengan persentase daya hambat tertinggi ditunjukkan perlakuan *K. pneumoniae* isolat KCX1GRA sebesar 94,9%, diikuti perlakuan *Shigella* spp. isolat Pi1 sebesar 92,97%, perlakuan *Y. rohdei* isolat 20M2 sebesar 92,55%, dan perlakuan *P. fluorescens* isolat KCBS sebesar 85,04% (Tabel 2). Empat jenis rizobakteri yang memiliki kemampuan daya hambat tertinggi ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil daya hambat 4 rizobakteri tertinggi terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfssii* Sacc. pada pengamatan 3 HSI.

Keterangan: (a) (d) Kontrol *S. rolfsii* Sacc.; (b) *P. fluorescens* isolat KCBS dan *S. rolfsii* Sacc.; (c) *Y. rohdei* isolat 20M2 dan *S. rolfsii* Sacc.; (e) *Shigella* spp. isolat Pi1 dan *S. rolfsii* Sacc.; (f) *K. pneumoniae* isolat KCX1GRA dan *S. rolfsii* Sacc.

Tabel 1. Uji Daya Hambat 20 Jenis rizobakteri

Perlakuan	Daya Hambat Terhadap <i>S. rolfsii</i> Sacc.	Persentase Daya Hambat (%)
<i>P. multicola</i> isolat Mimo	-	-
<i>Shigella</i> spp. isolat Pi1	+	92,97
<i>S. marcescens</i> biogpi isolat Pi4	-	-
<i>K. pneumoniae</i> isolat KTNA2	+	79,59
<i>S. marcescens</i> isolat KDDPA2	-	-
<i>A. baumanii</i> isolat KTG3	-	-
<i>A. hydrophila</i> isolat KTBLT2	+	53,95
<i>A. hydrophila</i> isolat 20M14	-	-
<i>A. hydrophila</i> isolat PA16	-	-
<i>E. gergoviae</i> isolat Pi8	-	-
<i>Y. rohdei</i> isolat 20M2	+	92,55
<i>A. hydrophila</i> isolat KDTBA1	-	-
<i>S. maltophilia</i> isolat KTTA4	-	-
<i>B. subtilis</i> isolat Biop3	-	-
<i>B. subtilis</i> isolat Biop2	+	75,1
<i>P. fluorescens</i> isolat KCBS	+	85,04
<i>K. pneumoniae</i> isolat GSA6	-	-
<i>S. liquefaciens</i> isolat AL2TT	-	-
<i>K. pneumoniae</i> isolate KCXIGRA	+	94,9
<i>E. agglomerans</i> isolat CHD3	+	77,05

Keterangan : (-) negatif = tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. (+) positif = mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc.

Terhambatnya pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. diduga akibat adanya mekanisme antibiosis terhadap patogen. Menurut Zhang (2004) mekanisme pengendalian yang terjadi secara langsung dapat melalui mekanisme antibiosis, kompetisi, parasitisme dan lisis. *P. fluorescens* mampu mengeluarkan senyawa biosurfaktan yang memiliki aktivitas anti jamur. Sementara senyawa antibiotik yang dihasilkan adalah : phenazine-1-carboxylate, pyoluteorin, pyrrolnitrin, 2,4-diacetylphloroglucinol, phenazine-1-carboxamide, pyocyanine, hidrogen cyanide dan viscosinamide (Haas and Devago, 2005). Bakteri *Klebsiella* sp. dilaporkan mampu menghasilkan siderofor, hidrogen sianida (HCN) dan asam salisilat saat diuji kemampuan antagonisnya terhadap *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* secara *in vitro* (Nandhini *et al.*, 2012). Beberapa strain *K. pneumoniae* dan *Yersinia* sp. juga mampu mendegradasi pektin (Chatterjee *et al.*, 1978).

Tabel 2. Pengaruh Rizobakteri terhadap Pertumbuhan Jamur *S. rolfsii* Sacc.

Perlakuan	Luas Koloni Jamur (mm ²)			Percentase Daya Hambat (%)		
	1 HSI	2 HSI	3 HSI	1 HSI	2 HSI	3 HSI
Kontrol	247,37 a	1046,61 a	3846,5 a	0,00 c	0,00 c	0,00 c
KCBS	94,98 b	346,19 b	575,41 b	61,57 b	61,56 b	85,04 b
20M2	88,31 b	270,44 b	286,43 c	64,55 b	74,03 b	92,55 ab
PI1	113,04 b	255,12 b	270,43 c	54,27 b	75,68 b	92,97 ab
KCXIGRA	44,35 c	101,45 c	196,25 c	82,12 a	90,17 a	94,90 a

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

3.2 Uji daya hambat filtrat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro*

Berdasarkan hasil uji daya hambat filtrat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro* menunjukkan bahwa penggunaan filtrat rizobakteri memberikan pengaruh yang berbeda nyata mulai pengamatan 1 HSI sampai dengan 4 HSI.

Persentase daya hambat filtrat terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. pada pengamatan 4 HSI pada perlakuan *P. fluorescens* isolat KCBS konsentrasi 10% tidak mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* Sacc., konsentrasi 20% menunjukkan persentase daya hambat sebesar 89,33%. Sedangkan pada konsentrasi 30%, 40%, dan 50% jamur *S. rolfsii* Sacc. mengalami kematian (fungitoksik). Perlakuan filtrat *Y. rohdei* isolat 20M2 konsentrasi 10% pada hari yang sama mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* Sacc. sebesar 27,93%. Sedangkan pada perlakuan filtrat konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% jamur *S. rolfsii* Sacc. tidak mampu tumbuh. Perlakuan filtrat *Shigella* spp. konsentrasi 10% menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* Sacc. sebesar 26,2% dan konsentrasi 20% mampu menghambat sebesar 88,47%. Konsentrasi 30%, 40% dan 50% menunjukkan persentase daya hambat sebesar 100% dan jamur mengalami kematian. Perlakuan filtrat *K. pneumoniae* isolat KCX1GRA konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* Sacc. sebesar 34,78% dan untuk konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% kemampuan daya hambat sebesar 100%, dimana jamur *S. rolfsii* Sacc. tidak mampu tumbuh (Tabel 3).

Tabel 3. Persentase Daya Hambat Filtrat Rizobakteri terhadap Jamur *S. rolfsii* Sacc.

Perlakuan	Konsentrasi	Persentase Daya Hambat (%)			
		I HSI	II HSI	III HSI	IV HSI
Kontrol		0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
KCBS	10%	23,02 b	8,84 a	12,71 b	0,00 a
	20%	100,00 c	100,00 b	97,20 c	89,33 b
	30%	100,00 c	100,00 b	100,00 c	100,00 c
	40%	100,00 c	100,00 b	100,00 c	100,00 c
	50%	100,00 c	100,00 b	100,00 c	100,00 c
20M2	10%	15,70 a	8,84 a	42,22 b	27,93 b
	20%	100,00 b	100,00 b	100,00 c	100,00 c
	30%	100,00 b	100,00 b	100,00 c	100,00 c
	40%	100,00 b	100,00 b	100,00 c	100,00 c
	50%	100,00 b	100,00 b	100,00 c	100,00 c
Pi1	10%	73,66 b	53,97 b	51,60 b	26,12 b
	20%	100,00 b	100,00 c	98,09 c	88,85 c
	30%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 d
	40%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 d
	50%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 d
KCX1GRA	10%	78,67 b	73,47 b	62,18 b	34,77 b
	20%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 c
	30%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 c
	40%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 c
	50%	100,00 b	100,00 c	100,00 c	100,00 c

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Data dianalisis setelah ditransformasi ke arcsin ($\sin^{-1} \sqrt{(y/100)}$)

Kemampuan daya hambat filtrat rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. diduga karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa antijamur dan antibiotik. Senyawa antijamur yang dihasilkan berupa enzim kitinase, protease, dan glukanase, dimana tersebut memiliki kemampuan untuk mendegradasi dinding sel jamur patogen. Enzim ekstraseluler telah diketahui sebagai salah satu mekanisme rizobakteri dalam menghambat pertumbuhan patogen (Chernin dan Chet, 2002). Hasil penelitian Zang (2004) melaporkan bahwa enzim ekstraseluler (protease dan selulase) yang disekresikan rizobakteri mampu mendegradasi dinding sel *S. rolfsii* sehingga perkembangan patogen tersebut menjadi terganggu.

3.3 Uji efektifitas rizobakteri dalam menekan persentase penyakit rebah kecambah pada tanaman kacang tanah di rumah kaca

Berdasarkan hasil pengamatan persentase penyakit rebah kecambah pada tanaman kacang tanah di rumah kaca, menunjukkan bahwa penggunaan rizobakteri *P. fluorescens* isolat KCBS, *Y. rohdei* isolat 20M2, *Shigella* spp. isolat Pi1, dan *K. pneumoniae* isolat KCX1GRA memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol (Tabel 4).

Tabel 4. Perkembangan Persentase Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kacang Tanah di Rumah Kaca

Perlakuan	Persentase Penyakit (%)					
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST	5 MST	6 MST
Kontrol	32 a	36 a	44 a	58 a	82 a	92 a
TA (KCBS)	2 b	2 b	6 b	10 b	10 b	10 b
TB (20M2)	2 b	2 b	6 b	10 b	10 b	10 b
TC (Pi1)	2 b	2 b	6 b	8 b	8 b	8 b
TD (KCX1GRA)	2 b	2 b	4 b	6 b	8 b	8 b

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

Persentase penyakit rebah kecambah di rumah kaca semakin meningkat ditiap minggunya. Perlakuan kontrol pada 6 MST menunjukkan persentase persentase penyakit mencapai 92% (Tabel 4). Hal ini akibat dari jamur patogen *S. rolfsii* Sacc. penyebab penyakit rebah kecambah mampu tumbuh dengan baik pada tanaman kacang tanah dan menginfeksi tanaman. Pada perlakuan rizobakteri terjadi peningkatan persentase penyakit namun tidak secepat pada perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa adanya aktivitas antagonis yang terjadi pada perlakuan rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. Mekanisme hambatan yang mungkin terjadi dapat berupa lisis, antibiosis, parasitisme, dan penghambatan di zona tumbuh.

Supriadi (2006) melaporkan kemampuan *P. fluorescens* untuk menekan populasi patogen diasosiasikan dengan kemampuannya untuk melindungi akar dari infeksi patogen tanah dengan cara mengolonisasi permukaan akar, menghasilkan senyawa kimia seperti antijamur dan antibiotik serta kompetisi dalam penyerapan kation Fe dalam tanah. Gohel *et al.*, (2006) melaporkan bahwa enzim kitinolitik (kitinase, protease, dan glukanase) yang dihasilkan oleh rizobakteri mampu melisis dinding sel jamur patogen. Sebagian besar yang termasuk ke dalam bakteri kitinolitik adalah golongan *Streptomyces*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Serratia*, dan *Enterobacter* (Pujiyanto dan Wijanarka, 2004). Rizobakteri *Y. rohdei*, *S. serogroups A, B, and C*, dan *K. pneumoniae* merupakan bakteri yang termasuk ke dalam golongan keluarga

Enterobacteriaceae, hal ini memungkinkan beberapa rizobakteri tersebut mampu menghasilkan enzim yang memiliki kemampuan melisis dinding sel jamur patogen seperti kitinase, protease, dan glukanase sehingga mampu untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* Sacc. dan berdampak pada kemampuannya untuk menginfeksi tanaman.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil uji daya hambat dari 20 jenis isolat rizobakteri terhadap *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro* menunjukkan bahwa, terdapat 4 isolat rizobakteri yang sangat kuat dalam menekan pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. yaitu *P. fluorescens*, *Y. rohdei*, *Shigella* spp., dan *K. pneumoniae* dengan persentase daya hambat yang tinggi pada perlakuan rizobakteri *K.pneumoniae* sebesar 94,9% pada pengamatan 3 HSI.
2. Hasil uji filtrat perlakuan *P. fluorescens*, *Y. rohdei*, *Shigella* spp., dan *K. pneumoniae* mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* Sacc. secara *in vitro* pada filtrat *P. fluorescens* konsentrasi 20%, *Y. rohdei* konsentrasi 10%, *Shigella* spp. konsentrasi 10% dan 20%, dan *K. pneumoniae* konsentrasi 10%. Sedangkan pada perlakuan *P. fluorescens* konsentrasi 30%-50%, *Y. rohdei* konsentrasi 20%-50%, *Shigella* spp. konsentrasi 30%-50%, dan perlakuan *K. pneumoniae* konsentrasi 20%-50% mampu membunuh jamur *S. rolfsii* Sacc.
3. Perlakuan rizobakteri *P. fluorescen*, *Y. rohdei*, *Shigella* spp., dan *K. pneumoniae* mampu menekan penyakit rebah kecambah pada tanaman kacang tanah dengan persentase penyakit secara berturut-turut sebesar 10%, 10%, 8%, 8% dibandingkan dengan kontrol yang mencapai 92%.

4.2 Saran

Saran yang dianjurkan adalah untuk menekan penyakit rebah kecambah pada kacang tanah, konsentrasi filtrat rizobakteri hasil uji secara *in vitro* dan formula gel rizobakteri dapat disarankan untuk aplikasi di lapangan dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kestabilan isolat rizobakteri dalam menekan persentase penyakit rebah kecambah di lapangan.

Daftar Pustaka

- Chatterjee A. K., G. E. Buchanan, M. K. Behrens, and M. P. Starr. 1978. Synthesis and Excretion of Polygaracturonic and Transeliminasein *Erwinia*, *Yersinia*, and *Klebsiella* species. Can J Microbiol, 25: 94-102.
- Chernin, L., and L. Chet. 2002. Microbial enzymes in biocontrol of plant pathogens and pests, p. 171-225. In R. G. Burns and R. P. Dick (ed.), Enzymes in the

- environment: activity, ecology, and applications. Marcel Dekker, New York, N. Y.
- Ferreira, S.A and R.A. Boley. 2006. *Sclerotium rolfsii*. URL: <http://www.extento.edu>. (diakses 26 November 2013).
- Gohel, V., A. Singh, M. Vimal, P. Ashwini, H.S. Chhatpar. 2006. Bioprospecting and Antifugal Potential of Chitinolytic Microorganisms. *Afr. J. Biotechnol* 5(2): 54-72
- Haas, D. and Devago, G.2005."Biological Control Of Soil-Borne Pathogens by *Fluorescens Pseudomonas*". *Nature Reviews Microbiology*.1,1-13.
- Mahartha, K. A. 2013. Uji Efektivitas Rizobakteri sebagai Agen Antagonis terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* Penyebab Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). (Skripsi). Denpasar: Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.
- Nandhini, S., V. Sendhilvel, and S. Babu. 2012. Endophytic Bacteria from Tomato and Their Efficacy Against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, The Wilt Pathogen. *JBipest*, 5(2): 178-185.
- Pujiyanto, S. & Wijanarka. 2004. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Sebagai Media Produksi Enzim Kitinase. *Laporan Penelitian*.
- Suprapta, D.N. 2005. *Pertanian Bali Dipuja Petaniku Merana*. Taru Lestari Foundation.
- Supriadi. 2006. Analisis Risiko Agen Hayati Untuk Pengendalian Patogen Pada Tanaman. *J. Litbang Pertanian* 25: 1-6.
- Zhang, Y. 2004. Biocontrol of sclerotia stem rot of canola by bacterial antagonists and study of biocontrol mechanisms involved (Thesis). Winnipeg. Canada: Departemen of Plant Science. Universitas of Manitoba. URL: <http://mspace.lib.umanitoba.ca/bitstream/1993/121/1/Yilan's+thesis-MSpace.pdf>. (diakses 2 Mei 2014).