

Uji Keefektifan Ekstrak Beberapa Biji Tanaman untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri Bercak Daun (*Xanthomonas campestris*) pada Tanaman Tomat

DELVIANA PANJAITAN
I KETUT SUADA*⁾
MADE SRITAMIN

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali
Email: ketutsuada@yahoo.com

ABSTRACT

Effectiveness Test of Some Plant Seeds Extract to Inhibit the Growth of Spotting Leaf Bacteria (*Xanthomonas campestris*) on Tomato Plant.

The *X. campestris* bacterium is very harmful to tomato plant because the bacteria able to attack the plant seedling up to full grown stage. This bacterium not only attack the root, but also infect the leaves, fruits and stems. Utilization of botanical pesticides to inhibit the pathogen becomes one alternative option to be recommended. The control method has selective activity and safe for the ecosystem. The purpose of this study is to determine the ability of some plant seeds extract in inhibiting the growth of *X. campestris* the causal agent of leaf spot on tomato plants. Rose apple seed extract contains phyto-pesticide that can be used to inhibit the growth of leaf spot caused by *X. campestris*. The minimum inhibitory concentration of the extract was at a concentration of 0.312% with the diameter of inhibition zone of 8 mm. It was expected that rose apple seed extract may be used as an alternative substance to inhibit the growth of bacterium *X. campestris* bacterium of tomato plants.

Key words: plant seeds extract and Xanthomonas campestris.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Xanthomonas campestris merupakan penyebab bercak daun yang sangat merugikan karena dapat menyerang tanaman tomat mulai dari fase bibit sampai dewasa. Bakteri ini tidak hanya menyerang daun, melainkan juga dapat menginfeksi akar, buah, dan batang. Serangan *X. campestris* menjadi salah satu pembatas yang menyebabkan terjadinya penurunan produksi tomat.

Aplikasi fungisida kimia sintesis untuk mengendalikan bakteri *X. campestris* sudah banyak dilakukan namun serangan bakteri patogen ini masih menjadi kendala dalam usaha budidaya tanaman tomat. Di sisi lain, penggunaan pestisida kimia sintesis secara berkepanjangan juga dapat mengancam ekosistem. Penggunaan pestisida kimia juga dapat meninggalkan residu yang berbahaya bagi

mikroorganisme nonpatogen. Soesanto (2008) melaporkan bahwa penggunaan pestisida secara terus-menerus dalam jumlah yang besar dapat mengakibatkan matinya musuh alami dan menimbulkan resistensi patogen. Oleh karena itu perlu diupayakan cara lain yang lebih aman.

Penggunaan pestisida nabati dapat menjadi alternatif untuk mengurangi penggunaan fungisida kimia sintesis. Pestisida nabati merupakan upaya jangka pendek untuk mengatasi masalah hama dengan cepat. Pestisida nabati bersifat ramah lingkungan karena bahan ini mudah terdegradasi di alam, sehingga aman bagi manusia maupun lingkungan. Pestisida nabati juga tidak mengakibatkan dampak samping, namun dapat menyelamatkan musuh-musuh alami (Untung, 1993). Pestisida nabati merupakan produk alam dari tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, kulit, dan batang yang mempunyai kelompok metabolit sekunder atau senyawa bioaktif (Anonim, 1994). Dalam penelitian ini, salah satu sumber bahan pestisida yang diskriming untuk menekan *X. campestris* adalah ekstrak biji-bijian dari tanaman di lingkungan sekitar yang mudah di dapat.

2. Bahan dan Metode

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana yang dilaksanakan dari bulan Maret 2013 sampai dengan September 2013.

2.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji tanaman cabai, jambu air, jambu biji, kelor, mengkudu, pepaya, dan semangka. Bakteri *X. campestris* diisolasi dari daun, batang, buah tanaman tomat yang menunjukkan gejala bercak bakteri. Bahan lain adalah antracol, media Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB) aquades, alkohol 70%, dan metanol. Alat yang digunakan adalah labu Erlenmeyer, cawan Petri, tabung reaksi, gelas ukur, pipet mikro, *shaker*, *laminar air flow cabinet*, dan evaporator.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Persiapan Inokulum Bakteri Patogen

Bagian tanaman yang terinfeksi *X. campestris* dibersihkan dengan air mengalir kemudian dicuci dengan aquades, dipotong-potong dengan ukuran 1cm x 1cm, direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian dikeringkan dengan tissue steril. Potongan bahan tersebut dimasukkan dalam cawan Petri yang berisi media NA dan antijamur antarcol. Bakteri yang tumbuh, disubkultur untuk mendapatkan biakan murni *X. campestris*.

2.3.2 Penyiapan Ekstrak Biji Tanaman

Biji tanaman yang disiapkan dibersihkan menggunakan air mengalir. Biji tersebut dikeringanginkan selama 3 hari tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah kering biji dipotong-potong kecil kemudian diblender sampai kelihatan pecah. Bahan tersebut kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol selama 48 jam dengan pengocokan 5 rpm. Cairan rendaman disaring kemudian dievaporasi pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm sampai semua pelarut menguap sehingga diperoleh ekstrak kasar.

2.3.3 Uji Efektivitas Ekstrak Biji Menghambat Bakteri *X. campestris* pada media NA

Sebanyak 1 ml suspensi bakteri 2×10^5 CFU dimasukkan ke dalam cawan petri dish kemudian dituang media NA 10 ml yang masih cair. Biakan tersebut digoyang hingga bakteri bercampur rata ke seluruh media. Setelah media beku dibuat lubang dengan diameter 5 mm kemudian diisi ekstrak 30 μ l dengan konsentrasi 0,312, 0,625, 1,25, 2,5, dan 5%. Biakan diinkubasi selama 24 jam dan diukur diameter zona bening yang terbentuk. Kategori daya hambat ditentukan sesuai kategori Davis Stout (Ardiansyah, 2005).

2.3.4 Uji Daya Hambat Ekstrak pada Media Nutrient Broth

Sebanyak 15 ml media NB dimasukkan ke dalam botol uji yang telah diberi 1 ml suspensi bakteri 2×10^5 CFU/ml. Selanjutnya diberi ekstrak sehingga mencapai konsentrasi 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,325, dan 0%. Biakan selanjutnya dikocok dengan kecepatan 5 rpm selama 5 hari. Setelah masa inkubasi tersebut, tiap biakan diambil 1 ml untuk dihitung populasi bakterinya dengan metode cawan tuang. Sampel diencerkan dengan faktor 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dan masing-masing dikulturkan pada media NA kemudian bakteri yang tumbuh dihitung.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Persiapan Nutrient Agar untuk Media Isolasi *X. campestris*

Nutrient agar adalah medium umum untuk uji air dan produk dairy. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, *peptone*, dan agar. NA merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Pembuatan medium NA ini ditambahkan *peptone* agar mikroba cepat tumbuh, karena mengandung banyak N_2 (Dwidjoseputro, 1994). Agar yang digunakan dalam proses ini untuk mengentalkan medium sama halnya dengan yang digunakan pada medium PDA yang juga berperan sebagai media tumbuh yang ideal bagi mikroba (Schlegel, 1993). Agar

dicampur dengan *peptone* dan disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit kemudian disiapkan wadah sesuai yang dibutuhkan.

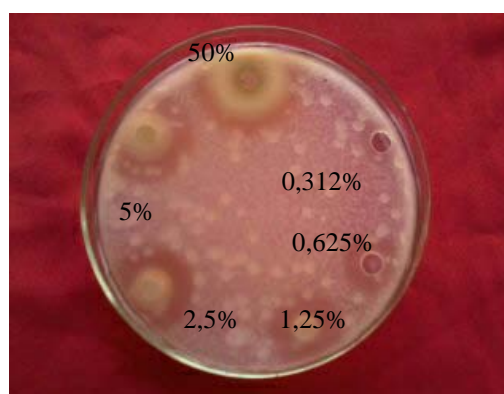
3.2 Pengumpulan Biji Tanaman untuk Ekstrak

Sampel biji tanaman cabai, jambu air, cabai rawit, jambu biji, kelor, mengkudu, pepaya, dan semangka, dicincang dan dikeringanginkan selama 3 hari, setelah kering biji direndam dalam metanol sampai bahan terendam. Setelah terlihat perubahan warna dan cairan berwarna pekat maka hasil rendaman tersebut dievaporasi selama 3 jam sampai didapat ekstrak kasar. Pengenceran ekstrak biji tanaman dimulai dari konsentrasi yang tertinggi hingga konsentrasi yang terendah. Rumus yang digunakan untuk membuat konsentrasi adalah sebagai berikut: $V_1 C_1 = V_2 C_2$

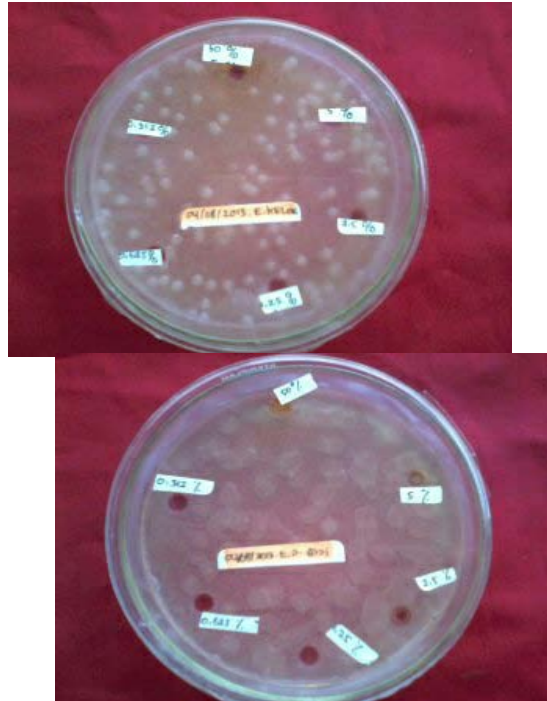
Untuk Konsentrasi 50% diperlukan ekstrak sebanyak 0,1 g kemudian ditambahkan dengan 100 μ l aquades. Selanjutnya untuk konsentrasi 5% diperlukan konsentrasi ekstrak sebanyak 30 μ l dari 50% kemudian ditambahkan 270 μ l aquades, selanjutnya untuk konsentrasi 2,5% diperlukan konsentrasi ekstrak sebanyak 150 μ l dari 5% kemudian ditambahkan dengan 150 μ l aquades, untuk konsentrasi 1,25% diperlukan konsentrasi ekstrak sebanyak 150 μ l dari 2,5% kemudian ditambahkan dengan 150 μ l aquades, sampai dengan konsentrasi 0,625% diperlukan konsentrasi ekstrak sebanyak 150 μ l dari 1,25% kemudian ditambahkan dengan 150 μ l aquades, dan konsentrasi terakhir 0,312% diperlukan konsentrasi ekstrak sebanyak 150 μ l dari 0,625% kemudian ditambahkan dengan 150 μ l aquades.

3.3 Daya Hambat Ekstrak terhadap Bakteri *X. campestris*

Daya hambat ekstrak biji beberapa tanaman pada hari ke tiga setelah inkubasi pada media NA dapat dilihat dengan terbentuknya zona terang disekitar sumur sampel. Dari tujuh ekstrak yang diuji, hanya ekstrak biji jambu air yang menunjukkan daya hambat terhadap *X. campestris*. Enam ekstrak biji lainnya tidak menunjukkan zona terang (Gambar 2). Zona bening yang terbentuk pada ekstrak biji jambu air menunjukkan adanya daya hambat ekstrak bagi *X. campestris*, yaitu dengan diameter 25 mm pada konsentrasi 5%. Hambatan sebesar itu termasuk sangat kuat menurut kategori Davis Stout (Ardiansyah, 2005), (Gambar 1).

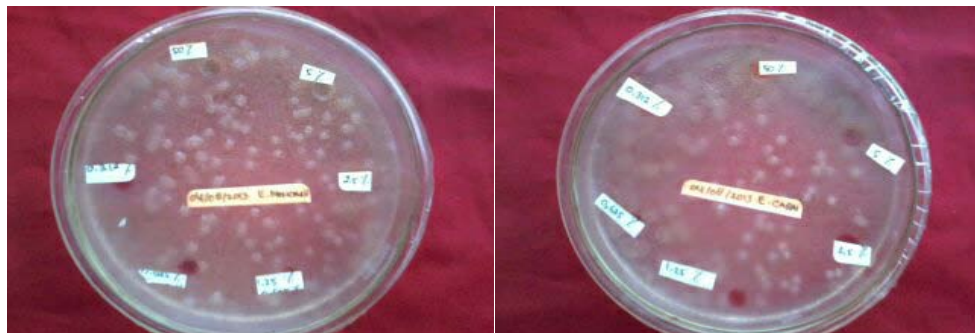


Gambar 1. Zona hambat ekstrak biji jambu air pada berbagai konsentrasi



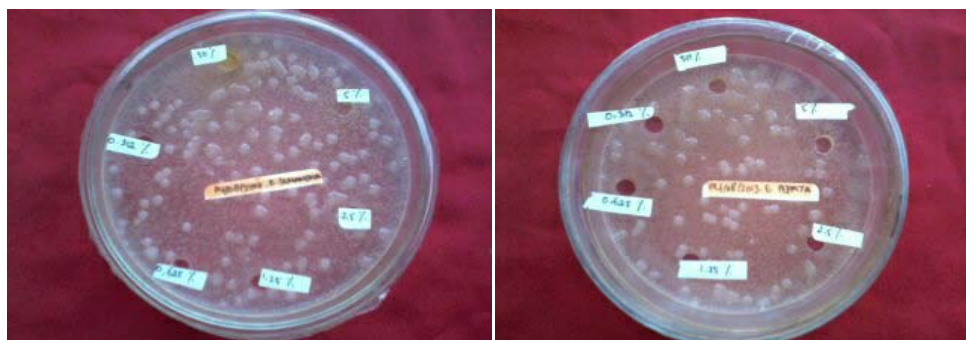
1. Ekstrak biji kelor

2. Ekstrak biji jambu biji



3. Ekstrak biji mengkudu

4. Ekstrak biji cabai



5. Ekstrak biji semangka

6. Ekstrak biji pepaya

Gambar 2. Ekstrak biji tanaman yang tidak menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *X. campestris* pada media NA.

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak beberapa jenis biji tanaman terhadap pertumbuhan bakteri *X. campestris*

Ekstrak biji tanaman	Konsentrasi ekstrak (%)						Rata-rata
	0	0,312	0,625	1,25	2,5	5	
 mm						
Biji Cabai	0	0	0	0	0	0	0
Biji Jambu Air	0	8	10	15	20	25	13
Biji Jambu Biji	0	0	0	0	0	0	0
Biji Kelor	0	0	0	0	0	0	0
Biji Mengkudu	0	0	0	0	0	0	0
Biji Pepaya	0	0	0	0	0	0	0
Biji Semangka	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan: Kategori daya hambat ekstrak menurut Davis Stout. Zona hambat 5 mm= lemah, 6-10 mm= sedang, 11-20 mm= kuat, >20 mm= sangat kuat (Ardiansyah, 2005), (Tabel 3.2)

Efektivitas ekstrak biji jambu air mulai terlihat pada konsentrasi 0,312% dengan diameter zona terang 8 mm dan termasuk dalam kategori sedang, diameter zona terang 10 mm masuk dalam kategori sedang, diameter zona terang 15 mm masuk dalam kategori kuat, diameter zona terang 20 mm masuk dalam kategori kuat, diameter zona terang 25 mm masuk dalam kategori sangat kuat dan diameter zona terang 13 mm masuk dalam kategori kuat.

3.4 Jumlah Koloni Bakteri pada Media NA dengan Pengenceran

Metode hitungan cawan dilakukan dengan mengencerkan sampel suspensi bakteri ke dalam media nutrient agar (NA). Koloni yang terbentuk pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Dimana jumlah terbaik adalah antara 30 sampai 300 sel mikroba per rotari. Prinsip pengenceran adalah menurunkan jumlah sehingga semakin banyak jumlah pengenceran yang dilakukan, semakin sedikit jumlah mikroba, dimana suatu saat didapat hanya satu mikroba pada satu tabung (Waluyo, 2004).

Larutan yang digunakan untuk pengenceran harus memiliki sifat osmotik yang sama dengan keadaan lingkungan asal mikroba untuk menghindari rusaknya sel, selain itu juga dijaga agar tidak terjadi perbanyakan sel selama pengenceran. Pengenceran yang dilakukan dalam percobaan ini adalah pengenceran decimal yaitu 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Selanjutnya yang diplating dan diamati adalah pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} . Hal ini karena diperkirakan koloni yang dibentuk oleh sampel bakteri berada pada jumlah yang dapat dihitung pada pengenceran tersebut. Selain itu, untuk perhitungan jumlah koloni akan lebih mudah dan cepat jika pengenceran dilakukan secara desimal. Selanjutnya dari tabung ke lima dan ke enam dituang ke dalam cawan petri (penanaman atau plating) dengan media NA secara aseptik. Plating atau penanaman bakteri adalah proses pemindahan bakteri dari medium lama ke medium baru (Dwijoseputro, 1978). Pada penanaman bakteri dibutuhkan kondisi aseptik atau

steril, baik pada alat maupun proses, untuk menghindari kontaminasi, yaitu masuknya mikroba yang tidak diinginkan (Fardiaz, 1993).

Media NA digunakan karena media NA merupakan media yang paling cocok untuk kultur bakteri. Selanjutnya cawan petri diinkubasikan selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Inkubasi dilakukan selama 2 x 24 jam karena jumlah koloni bakteri dapat dihitung langsung oleh kasat mata, (Tabel 2)

Tabel 2. Jumlah koloni bakteri pada berbagai konsentrasi pengenceran ekstrak biji tanaman jambu air

Pengenceran	Konsentrasi ekstrak biji tanaman jambu air %				
	5	2,5	1,25	0,625	0,312
10 ⁻⁴	1354	1579	1785	1789	2530
10 ⁻⁵	1563	1754	1829	2195	2730
10 ⁻⁶	1700	1850	1970	2357	2970

Hal ini dapat dibuktikan bahwa hasil pada pengamatan yaitu semakin kecil konsentrasi ekstrak biji tanaman jambu air semakin besar pertumbuhan bakteri *X. campestris*.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* hanya ekstrak biji jambu air. Ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut dengan konsentrasi terendah yaitu 0,312% dengan diameter zona hambat 8 mm. Hal ini menunjukkan bahwa zat yang terkandung dalam ekstrak biji jambu air sangat efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* penyebab bercak daun pada tanaman tomat.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui zat yang terkandung pada biji dan diharapkan ekstrak biji jambu air dapat menjadi alternatif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* penyebab bercak daun pada tanaman tomat secara *in vivo*.

Daftar Pustaka

- Anonim. 1994. International Agency for Research on Canker (IARC) Cummaries & Evaluations (Acrylamide). <<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol60/m60-11.html>> [22/02/2014]
- Ardiansyah. 2005. Daun beluntas sebagai bahan antibakteri dan antioksidan. Berita IPTEK. Com. Melalui <<http://www.beritaiptek.com/cetak-berita.php?kat=beritaandid=60>> [16/02/2014].
- Dwidjoseputro, D. 1978. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan, Jakarta.

- Dwidjoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan, Jakarta.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Schlegel, G.H. 1993. *General Microbiologi*, Seventh Edition. Cambridge University Press, USA.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Penerbit Raja Grafindo Persada, Jakarta. Hal. 573.
- Untung. 1993. *Pestisida Alami*. (nabati). Jakarta, Erlangga.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang.