

---

**JURNAL METAMORFOSA**  
*Journal of Biological Sciences*  
ISSN: 2302-5697  
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

---

**POTENSI *Bacillus* sp. B3 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL PENYAKIT LAYU BAKTERI YANG DISEBABKAN OLEH *Ralstonia* sp. PADA TANAMAN CABAI (*Capsicum annuum* L.)**

**POTENTIAL *Bacillus* sp. B3 AS BIOCONTROL AGENT OF BACTERIAL WILT CAUSED BY *Ralstonia* sp. ON CHILI (*Capsicum annuum* L.) PLANT**

**Diah Kharismawati Djereng\*, Retno Kawuri, Yan Ramona**

*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Kampus Bukit Jimbaran, Universitas Udayana*

*\*Email: diah04djereng@gmail.com*

## INTISARI

Tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia. Kebutuhan cabai setiap tahun mengalami peningkatan, sedangkan produksinya sangat rendah, salah satu penyebab menurunnya produksi cabai adalah adanya gangguan penyakit layu bakteri, yang disebabkan oleh *Ralstonia* sp. Untuk menanggulangnya, maka perlu dikembangkan metoda biokontrol yang lebih aman dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi patogen *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai, serta untuk mengetahui efektivitas kultur *Bacillus* sp. B3 pada percobaan skala rumah kaca dalam menghambat bakteri *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai. Djereng dkk. (2016), melaporkan *Bacillus* sp. B3 yang diisolasi dari produk CustomBio mampu menghambat *Ralstonia* sp. secara *in vitro*. Isolat *Ralstonia* sp. diisolasi dengan *Plating Method* menggunakan media selektif *Sucrosa Peptone Agar* (SPA) kemudian dilakukan uji Postulat Koch dan bakteri yang didapat dilakukan Uji pewarnaan Gram, uji Gula-gula, uji katalase, uji sitrat, dan hasil disesuaikan dengan buku identifikasi bakteri dari Holt *et. al.* (1994). Rancangan penelitian yang digunakan pada uji skala rumah kaca adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan parameter yang diukur meliputi lebar daun, panjang daun, panjang akar, tinggi batang, dan diameter batang. Data pengukuran dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey taraf signifikan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *Ralstonia* sp. berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari tanaman cabai dengan gejala layu bakteri. Isolat *Bacillus* sp. B3 mampu menghambat penyakit layu bakteri pada tanaman cabai dengan penurunan insiden infeksi sebesar  $\pm 100\%$  (100% *survive*), relatif terhadap kontrol (pot yang diinokulasi dengan patogen saja) pada percobaan skala rumah kaca selama 4 minggu.

*Kata kunci: Bacillus sp.3 (B3), biokontrol, Capsicum annuum L., Ralstonia sp.*

## ABSTRACT

The chili plant (*Capsicum annuum* L.) is one of horticultural commodities cultivated by farmers in Indonesia. Needs chili each year has increased, while the production is very low, one cause of the declining production of chili is a disturbance of the bacterial wilt, caused by *Ralstonia* sp. To overcome this, it is necessary to develop a biocontrol method that is safe and environmentally friendly. The study aims to isolate and identify the pathogen *Ralstonia* sp. in chili plant, and to investigate the effectiveness

of *Bacillus* sp. B3 a scale greenhouse trials in inhibiting bacteria *Ralstonia* sp. on chili plant. Djereng et al. (2016), reported the *Bacillus* sp. B3 isolated from CustomBio product able to inhibit *Ralstonia* sp. in vitro. Isolates of *Ralstonia* sp. Method Platting isolated by using selective media sucrose Peptone Agar (SPA) and then tested the Koch's postulates and bacteria obtained do Gram stain test, test Confectionery, catalase test, citrate test, and the results adjusted for bacterial identification books from Holt et al. (1994). The research design used on greenhouse scale test is a randomized block design (RAK) with the parameters measured include leaf width, leaf length, root length, plant height, stem diameter. Data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA), followed by Tukey's test significance level of 5%. The results showed that the bacterium *Ralstonia* sp. were isolated and identified from chili plants with symptoms of bacterial wilt. Isolates of *Bacillus* sp. 3 (B3) could inhibit bacterial wilt disease in chili with a reduced incidence of infection  $\pm$  100% (100% survival), relative to controls (pots were inoculated with the pathogen) on a scale greenhouse trials for 4 weeks.

**Keywords:** *Bacillus* sp., biocontrol, *Capsicum annuum* L., *Ralstonia* sp.

## PENDAHULUAN

Tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik atau BPS (2011), pada tahun 2009 produksi cabai di Indonesia mencapai 7,04 ton/ha, sedangkan pada tahun 2010 produksi cabai di Indonesia hanya mencapai 3,83 ton/ha. Kebutuhan cabai setiap tahun mengalami peningkatan, sedangkan produksinya sangat rendah bila dibandingkan dengan peningkatan kebutuhan yang mencapai 18% tiap tahun (Ratulangi, 2004).

Salah satu penyebab menurunnya produksi cabai adalah adanya gangguan penyakit yang menyerang tanaman sejak disemaikan sampai dipanen. Gangguan penyakit pada tanaman cabai sangat kompleks, baik pada musim hujan maupun musim kemarau. Bahkan dapat menyebabkan kerugian yang cukup besar dan menurunnya mutu cabai (Duriat, 2009).

Penyakit yang umum menyerang tanaman cabai adalah layu bakteri, yang disebabkan oleh *Ralstonia* sp. (Fegan and Prior, 2005). Selain tanaman cabai, patogen ini juga dapat menginfeksi tanaman tomat (Aspiras dan de la Cruz, 1985), kentang (Gunawan, 1995), tembakau (Arwiyanto, 1998), jahe (Mulya et al., 2000), pisang (Sumardiyono et al., 2001), dan nilam (Nasrun et al., 2007). Data survei Agustus 2015 ke petani di Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar, Bali, menunjukkan bahwa

selain layu bakteri, tanaman cabai juga banyak diserang oleh hama seperti nematoda.

Untuk menanggulangi penyakit tanaman, khususnya cabai dan tanaman tomat, petani sangat tergantung pada pestisida kimia. Penggunaan pestisida kimia yang berkesinambungan dalam waktu lama dengan konsentrasi berlebih akan meninggalkan residu berbahaya di dalam tanah dan menyebabkan berbagai dampak negatif pada lingkungan (Brimer dan Boland, 2003).

Untuk mengurangi efek negatif senyawa pestisida kimia, maka perlu dikembangkan metoda alternatif yang lebih aman dan ramah lingkungan untuk mengendalikan penyakit tanaman. Salah satu metoda yang banyak dikembangkan adalah pemanfaatan musuh alami dari patogen tanaman (metoda biokontrol) (Irianto, 2003; Muliani et al., 2003; Widanarni et al., 2003). Berbagai spesies mikroba, seperti dari genus *Bacillus*, telah banyak dipakai dalam pengendalian masalah penyakit tanaman (Chrisnawati dkk, 2009).

*Bacillus* spp seperti *Bacillus* sp. strain 1324-92, mempunyai kemampuan mengendalikan penyakit *take-all* pada akar gandum yang disebabkan oleh *Gaeumannomyces graminis* dan busuk akar yang disebabkan *Pythium irregulare* dan *P. ultimum* (Dai-Soo Kim et al., 1997). Selanjutnya Arwiyanto dan Hartana (1999), mengemukakan bahwa perendaman akar tembakau dalam suspensi *Bacillus* sp. ( $10^8$  cfu/mL) selama 30 menit mampu menekan

perkembangan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia* sp.

*Bacillus* juga dilaporkan sebagai bakteri penginduksi ketahanan tanaman dan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Schipper *et al.*, 1987). Berbagai jenis probiotik tanah telah berkembang dan beredar di lapangan sebagai upaya untuk mewujudkan pertanian yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Wujudnya bervariasi dari yang berupa cairan sampai berbentuk tablet. Salah satu produk yang telah banyak beredar di lapangan adalah CustomBio-BiotaMax.

CustomBio-BiotaMax adalah probiotik alami dan organik untuk tanah yang merupakan hasil dari sebuah program pengembangan dan penelitian secara ekstensif di Amerika Serikat. Produk ini mengandung bakteri dan jamur menguntungkan yang berperan dalam membantu tanaman untuk tumbuh lebih besar dan lebih baik. (Biosystem Group, 1992).

Djereng dkk. (2016), melaporkan bahwa *Bacillus* sp. B3 yang diisolasi dari produk CustomBio mampu menghambat *Ralstonia* sp. secara *in vitro*. Pengkajian produk ini sebagai salah satu komponen teknologi pupuk hayati sangat penting untuk didalami, karena produk CustomBio ini belum banyak diujikan untuk penanggulangan penyakit tanaman di Bali. Walaupun mengandung mikroba yang banyak dan lengkap, kemampuan mikroba-mikroba tersebut masih perlu dikaji, karena kondisi lingkungan di Bali sangat berbeda dengan

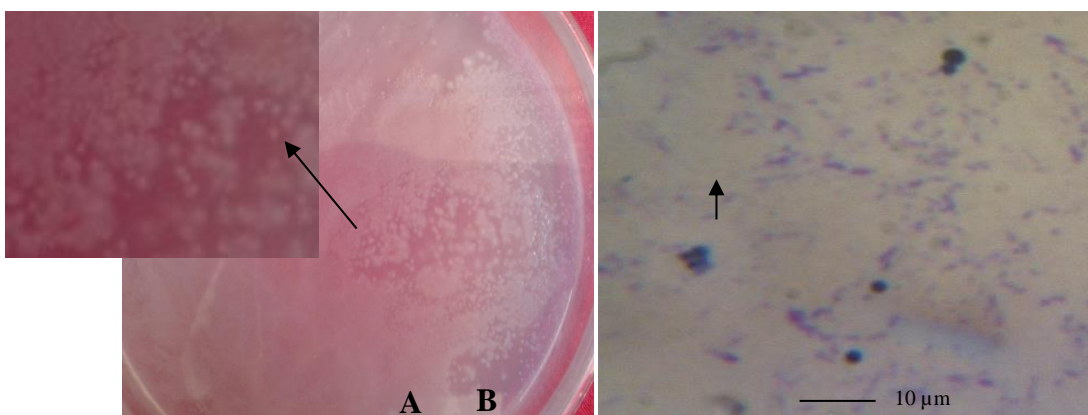
kondisi lingkungan di Amerika dimana produk ini dikembangkan untuk pertama kalinya. Berdasarkan pada latar belakang tersebut maka pada penelitian ini diuji efektivitas *Bacillus* sp. B3 untuk menanggulangi penyakit layu bakteri pada tanaman cabai di Bali.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi patogen *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai, serta untuk mengetahui efektivitas kultur *Bacillus* sp. B3 pada percobaan skala rumah kaca dalam menghambat bakteri *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai.

## BAHAN DAN METODE

Sampel tanaman cabai yang diduga terinfeksi oleh *Ralstonia* sp. diperoleh di Desa Buah, Kecamatan Payangan, Gianyar, Bali. Isolasi bakteri *Ralstonia* sp. dilakukan dengan metode pengenceran (*Plating Method*) menggunakan media selektif *Sucrose Peptone Agar* (SPA). Penanaman sampel dilakukan secara *pour plate* pada media (SPA) dengan faktor pengenceran  $10^{-2}$  dan  $10^{-3}$ . Koloni yang tumbuh pada media SPA dimurnikan dengan cara *streak for single colony* pada media SPA (Engelbrecht, 1994).

Isolat *Bacillus* sp.3 (B3) telah diisolasi oleh Djereng dkk., (2016) (Gambar 1) dari produk CustomBio. Uji efektivitas kultur *Bacillus* sp. terhadap *Ralstonia* sp. di *Green house* Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.



Gambar 1. Karakter makroskopis dan mikroskopis B3. (A) Koloni B3 berumur 24 jam pada media NA; (B) Karakter mikroskopis bentuk *bacill* dan Gram positif. Perbesaran 1000x dengan Mikroskop Cahaya (Yazumi) (Djereng dkk., 2016)

Isolat murni *Ralstonia* sp. dilakukan uji Postulat Koch pada tanaman cabai, menggunakan bibit tanaman cabai berumur 1 bulan yang memiliki 4-5 daun, dipilih jenis cabai yang seragam sebagai kontrol dan perlakuan. Tahap pertama, kultur bakteri *Ralstonia* sp. yang telah diperbanyak, diinokulasikan kembali pada media NB selama 1x24 jam pada suhu 37°C, setelah itu kekeruhan disetarakan dengan standar Mcfarland 5% ( $1 \times 10^8$  sel/mL). Tahap kedua, menginokulasi 5 mL suspensi bakteri *Ralstonia* sp. ke pangkal akar tanaman cabai. Diamati perkembangan gejala klorosis, morfologi akar, dan layu tanaman cabai selama 14 hari. Kemudian dibandingkan dengan gejala penyakit layu yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia* sp. Isolat yang diduga *Ralstonia* sp. diidentifikasi secara makroskopis dengan mengamati bentuk koloni, tekstur koloni, bentuk tepi koloni, elevasi serta warna koloni dan secara mikroskopis mengamati bentuk sel bakteri, pewarnaan Gram, Uji katalase, Uji Gula-gula, dan Uji penggunaan sitrat.

Perlakuan kultur *Bacillus* sp. B3 terhadap *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai dilakukan dengan memasukkan suspensi bakteri dengan kepekatan populasi bakteri  $1 \times 10^8$  sel/mL dengan menggunakan jarum inokulasi pada pangkal akar bibit cabai. Masing-masing perlakuan yang terdiri dari 6 perlakuan yaitu pemberian *Ralstonia* sp. 5 mL sebagai kontrol negatif, dan Produk CustomBio 5 mL sebagai kontrol positif, perlakuan *Ralstonia* sp. + kultur *Bacillus* sp.3 (B3) 2,5 mL, 5,0 mL, 7,5 mL, dan 10 mL, diulangi 5 kali dengan 3 sub unit (6 x 3 x 5)

dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), sehingga total yang digunakan 90 tanaman cabai. Perkembangan gejala penyakit diamati empat minggu kemudian dengan mencatat waktu muncul gejala penyakit layu bakteri, dan persentase tanaman yang hidup. Rumus yang digunakan :

$$I = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

I = Persentase tanaman yang hidup

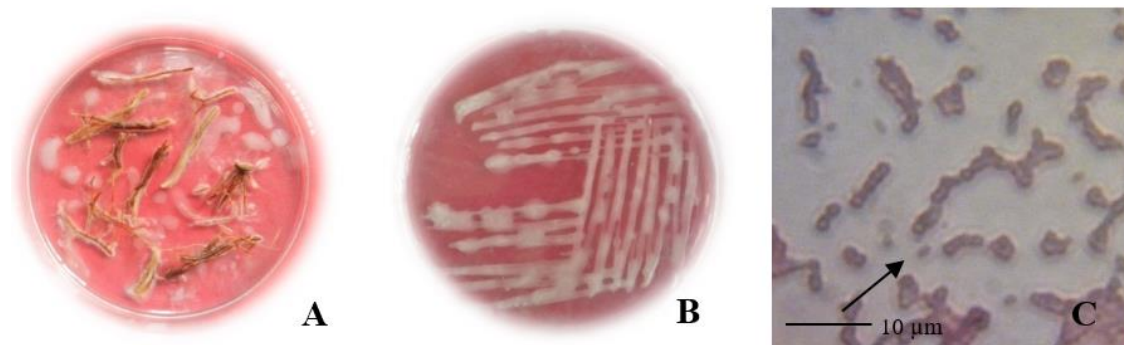
A = Tanaman yang hidup masing-masing perlakuan

B = Total tanaman masing-masing perlakuan (Lelliot and Stead, 1987).

Pengolahan data dilakukan secara kuantitatif yaitu dengan menghitung lebar daun, panjang daun, panjang akar, tinggi batang, dan diameter batang setelah perlakuan *Bacillus* sp. 3 (B3) pada percobaan skala rumah kaca selama 4 minggu dengan menggunakan *Analysis of Varian* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Tukey taraf signifikan 5 % karena hasil ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan.

## HASIL

Hasil isolasi bakteri penyebab layu pada tanaman cabai diperoleh dari tanaman yang mengalami gejala layu bakteri. Morfologi isolat bakteri tersebut secara makroskopis dan mikroskopis serta uji katalase, uji gula-gula, uji sitrat, ditampilkan pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. (A) Koloni *Ralstonia* sp. yang diisolasi dari akar tanaman cabai dengan gejala layu bakteri (B) Isolat murni *Ralstonia* sp. pada media SPA. (C) Struktur mikroskopis bentuk *bacill* dan Gram negatif. Perbesaran 1000x dengan Mikroskop Cahaya (Yazumi)

Tabel 1. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis serta uji katalase, uji gula-gula, uji Sitrat bakteri penyebab layu bakteri pada cabai

No	Karakteristik	Keterangan
1	Warna koloni	Putih susu
2	Tekstur koloni	Berlendir / Mengkilap
3	Bentuk koloni	Tidak beraturan
4	Tepi koloni	Tidak rata
5	Elevasi	Cembung
6	Pewarnaan Gram	Negatif
7	Bentuk sel	Batang / <i>Bacill</i>
8	Ukuran sel	0,51-0,63 $\mu\text{m}$
9	Sitrat	Positif
10	Glukosa	Negatif
11	Mannitol	Negatif
12	Inositol	Negatif
13	Sorbitol	Negatif
14	Rhamnosa	Negatif
15	Sukrosa	Negatif
16	Melibiosa	Negatif
17	Amygdalin	Negatif
18	Arabinosa	Negatif
19	Katalase	Positif



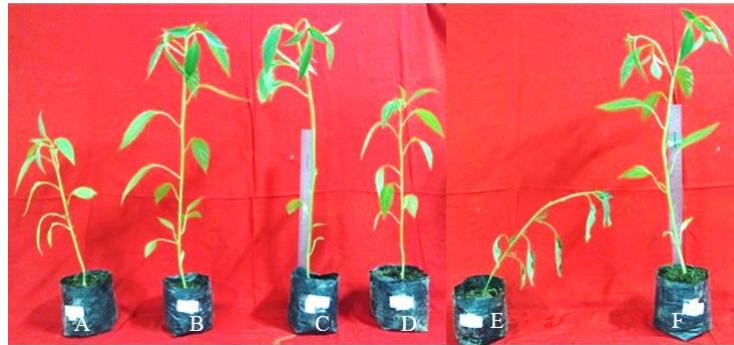
Gambar 2. Hasil positif uji Postulat Koch (1) Tanaman cabai pada uji postulat koch berumur 10 hari (2) Tanaman cabai pada uji postulat koch berumur 14 hari; A. kontrol. B. perlakuan suspensi *Ralstonia* sp.

Hasil Postulat Koch, menunjukkan isolat *Ralstonia* sp. mampu menunjukkan gejala layu bakteri pada tanaman cabai sehat (Gambar 2).

Dalam percobaan skala rumah kaca, isolat *Bacillus* sp. B3 menunjukkan hasil yang konsisten dengan yang ditunjukkan dalam uji *in vitro* (Djereng dkk., 2016). Semua tanaman pada pot percobaan yang diinokulasi dengan *Bacillus* sp. B3 (A, B, C, dan D) tidak menunjukkan gejala penyakit layu disebabkan oleh *Ralstonia* sp. Bahkan dalam beberapa kasus, tanaman yang diinokulasi dengan isolat ini mengalami peningkatan pertumbuhan. Sementara itu, pot

yang hanya diinokulasi dengan patogen saja (E) mengalami gejala penyakit layu dan mengalami kematian pada akhir pengamatan. Pertumbuhan yang sangat baik pada kontrol positif (F) menunjukkan bahwa kombinasi isolat antagonis *Bacillus* isolat B1, B2, B3, B4 tidak bersifat patogen terhadap tanaman cabai.

Tabel 2 menunjukkan proteksi tanaman cabai oleh isolat *Bacillus* sp. B3 setelah diinokulasi dengan patogen saja (pot E), campuran antagonis dan patogen (pot A,B,C, D) dan antagonis saja (pot F) dalam percobaan skala rumah kaca.



Gambar 3. Tanaman cabai 1 bulan setelah perlakuan; A) *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 2,5 mL; B) *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 5 mL; C) *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 7,5 mL; D) *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 10 mL; E) *Ralstonia* sp. 5 mL; F) *Bacillus* sp. (B1, B2, B3, B4) 5 mL

Tabel 2. Persentase tanaman cabai yang hidup (perlakuan kultur *Bacillus* sp. B3 terhadap *Ralstonia* sp.)

Perlakuan	Waktu			
	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV
Kontrol (-) / E	100%± 0,00	100%± 0,00	60 % ± 5,00	0% ± 0,00
Kontrol (+) / F	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00
2,5 mL/ A	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00
5,0 mL / B	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00
7,5 mL/ C	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00
10 mL/ D	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00	100%± 0,00

Keterangan : Nilai-nilai ± standar deviasi yang tertera pada Tabel 2 merupakan rata-rata dari 5 ulangan. Nilai-nilai yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata (P<0.05), setelah dilakukan uji ANOVA.

Tabel 3. Rata-rata lebar daun tanaman cabai yang diukur pada minggu ke 1-4

No	Perlakuan	Rata-rata lebar daun (cm)			
		Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
1.	A	1,40 ± 0,15 b	1,70 ± 0,15 d	2,50 ± 0,15 c	2,92 ± 0,16 b
2.	B	2,15 ± 0,15 a	2,93 ± 0,06 a	3,20 ± 0,13 a	3,36 ± 0,11 a
3.	C	1,60 ± 0,15 b	2,41 ± 0,08 bc	2,92 ± 0,18 ab	3,24 ± 0,08 ab
4.	D	2,20 ± 0,15 a	2,60 ± 0,12 b	2,87 ± 0,12 b	3,10 ± 0,06 ab
5.	E	2,10 ± 0,23 a	2,20 ± 0,14 c	2,00 ± 0,12 d	0,00 ± 0,00 c
6.	F	2,20 ± 0,14 a	2,50 ± 0,17 b	3,04 ± 0,06 ab	3,40 ± 0,22 a

Tabel 4. Rata-rata panjang daun tanaman cabai yang diukur pada minggu ke 1-4

No	Perlakuan	Rata-rata panjang daun (cm)			
		Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
1.	A	6,00 ± 0,22 a	7,02 ± 0,12 a	7,94 ± 0,11 a	8,02 ± 0,19 d
2.	B	5,50 ± 0,43 b	7,60 ± 0,15 b	9,06 ± 0,11 b	9,38 ± 0,16 b
3.	C	5,30 ± 0,15 b	7,32 ± 0,14 cd	9,20 ± 0,16 b	9,70 ± 0,15 b
4.	D	6,30 ± 0,15 a	7,10 ± 0,15 d	8,05 ± 0,14 c	8,62 ± 0,08 c
5.	E	6,00 ± 0,07 a	7,20 ± 0,11 d	5,40 ± 0,15 d	0,00 ± 0,00 e
6.	F	5,50 ± 0,15 b	7,51 ± 0,09 bc	7,98 ± 0,11 c	10,28 ± 0,46 a

Keterangan : <sup>A)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 2,5 mL, <sup>B)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 5 mL, <sup>C)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 7,5 mL, <sup>D)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 10 mL, <sup>E)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL, <sup>F)</sup> = *Bacillus* sp.(B1, B2, B3, B4) 5 mL. \*Nilai pada tabel 3 & 4 merupakan rata-rata dari 5 ulangan ± standar deviasi. Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama merupakan nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata (P>0,05) berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata (P<0,05).

Tabel 5. Rata-rata panjang akar tanaman cabai yang diukur pada minggu ke 4

No	Perlakuan	Rata-rata panjang akar (cm)
1.	A	18,92 ± 2,11 c
2.	B	23,10 ± 0,67 ab
3.	C	20,46 ± 0,59 bc
4.	D	20,70 ± 0,68 bc
5.	E	10,12 ± 2,24 d
6.	F	24,92 ± 1,09 a

Tabel 6. Rata-rata tinggi dan diameter batang tanaman cabai yang diukur pada minggu ke 4

No	Perlakuan	Rata-rata tinggi batang (cm)	Diameter batang (cm)
1.	A	42,40 ± 4,88 d	0,31 ± 0,01 d
2.	B	54,10 ± 2,36 ab	0,53 ± 0,04 b
3.	C	52,10 ± 2,13 bc	0,57 ± 0,06 ab
4.	D	46,00 ± 1,58 cd	0,41 ± 0,02 c
5.	E	27,86 ± 5,02 e	0,00 ± 0,00 e
6.	F	59,68 ± 1,18 a	0,62 ± 0,03 a

Keterangan : <sup>A)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 2,5 mL, <sup>B)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 5 mL, <sup>C)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 7,5 mL, <sup>D)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL + *Bacillus* sp. 10 mL, <sup>E)</sup> = *Ralstonia* sp. 5 mL, <sup>F)</sup> = *Bacillus* sp.(B1, B2, B3, B4) 5 mL. \*Nilai pada tabel 5 & 6 merupakan rata-rata dari 5 ulangan ± standar deviasi. Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama merupakan nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata ( $P < 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Hasil yang tercantum pada Tabel 1, hal tersebut menyebutkan bahwa bakteri yang diisolasi dari tanaman cabai teridentifikasi sebagai *Ralstonia* sp., sejalan dengan yang dilaporkan oleh Ray (2010) bahwa *Ralstonia* sp. dapat tumbuh pada media *Sucrose Peptone Agar* (SPA), dengan koloni berbentuk tidak beraturan, elevasi sedikit cembung, berlendir, berwarna cream susu, permukaannya mengkilat, dan ditinjau dari fisiologinya *Ralstonia* sp. berbentuk *bacil* dengan ukuran 0,5-0,7  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan karakteristik tersebut yang ditegaskan dengan karakteristik yang tercantum dalam buku *Bergey's Manual of Determinatif Bacteriologi* dan seperti yang dilaporkan oleh Ray (2010), maka bakteri yang diisolasi dalam penelitian ini terkonfirmasi teridentifikasi sebagai genus *Ralstonia*.

Gejala layu bakteri pada tanaman cabai ditandai oleh adanya gejala layu eksternal berupa perubahan warna daun, kemudian diikuti dengan merunduknya tangkai daun yang mengalami busuk basah dan kelayuan menyeluruh pada tanaman yang bersifat permanen. Menurut Cahyono (1998), tanaman yang terserang

penyakit layu bakteri menunjukkan gejala, seperti tangkai-tangkai daun akan tampak merunduk kemudian layu dan akhirnya tanaman akan mati.

Pada Tabel 2 terlihat jelas bahwa tanaman yang diinokulasikan dengan bakteri *Bacillus* sp. B3 (perlakuan A, B, C, dan D) bersama-sama dengan patogen menunjukkan pertumbuhan normal sampai akhir penelitian. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat bakteri antagonis dapat menekan pertumbuhan patogen sehingga tidak menimbulkan gejala penyakit pada tanaman cabai. Jika dibandingkan dengan tanaman cabai yang hanya diinokulasi dengan patogen saja, hasil yang ditunjukkan oleh perlakuan kombinasi antagonis dan patogen berbeda nyata secara statistik pada taraf nyata  $p < 0,05$  (Tabel 3, Tabel 4, Tabel 5, Tabel 6), setelah ditumbuhkan selama 4 minggu. Secara umum tampak pada Gambar 3 bahwa tanaman yang diinokulasi dengan *Bacillus* sp. B3 dengan konsentrasi yang meningkat, menunjukkan laju pertumbuhan yang lebih baik. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* yang dipakai dalam penelitian ini dapat menginduksi tanaman cabai. Hal serupa juga pernah dilaporkan oleh Tutupary *et al.* (2004), yang menyatakan bahwa

*Bacillus* yang digunakan dalam pengendalian penyakit layu dapat memacu pertumbuhan tanaman pisang. Marwiyah (2009) juga melaporkan bahwa beberapa isolat antagonis dapat merangsang pertumbuhan tanaman dengan cara menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman, seperti *indole acetic acid* (IAA).

Hasil pengukuran lebar dan panjang daun yang dilakukan pada minggu ke 1-4 ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Tanaman yang diinokulasi *Bacillus* sp. B3 menunjukkan peningkatan lebar daun dan panjang daun pada setiap minggu, hal ini menunjukkan tanaman mengalami pertumbuhan yang cukup pesat. Dalam pertumbuhan, proses pembelahan sel akan terjadi secara aktif melalui proses mitosis (Juwono, 2002). Dalam proses pembelahan, sel-sel akan membutuhkan unsur posfat dalam jumlah besar untuk replikasi kromosom atau DNA (Soeng, 2009). Berdasarkan pada Tabel 3 dan Tabel 4, maka dapat diduga (walaupun perlu dibuktikan lebih lanjut) bahwa isolat antagonis yang dipakai dalam penelitian ini mempunyai kemampuan untuk melarutkan posfat dari dalam tanah sehingga tersedia dalam jumlah yang cukup bagi tanaman. Beberapa isolat *Bacillus* pernah dilaporkan mempunyai kemampuan ini, seperti yang dilaporkan oleh Suliasih (2007). Menurut Hilda *dkk.* (2000), bahwa mikroba pelarut fosfat umumnya juga mengeluarkan berbagai macam asam organik seperti asam formiat, asetat, propionat, laktat, glikolat, fumarat dan suksinat. Asam-asam organik tersebut dapat membentuk khelat (kompleks yang stabil) dengan kation Al, Fe atau Ca yang mengikat P, sehingga tersedia bagi tanaman untuk diserap Johansson *et al.* (2004).

Perlakuan *Bacillus* sp. B3 pada tanaman cabai juga berpengaruh nyata pada panjang akar tanaman cabai yang diukur pada minggu ke 4 (Tabel 5). Inokulasi isolat *Bacillus* sp. B3 pada tanaman cabai berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap pertambahan panjang akar. Jika dibandingkan dengan kontrol (pot yang hanya diinokulasi dengan patogen saja (E)), panjang akar rata-rata yang terukur pada perlakuan umumnya lebih panjang (Tabel 5). Panjang akar yang teramati pada penelitian ini proporsional dengan volume kultur *Bacillus* sp. B3 yang

diberikan. Fenomena ini juga dapat diduga sebagai akibat dari aktivitas *Bacillus* sp. yang dipakai dalam penelitian ini untuk melarutkan posfat dari dalam tanah seperti yang dilaporkan oleh Bacon dan Hinton (2007).

Selain melalui aktivitas melarutkan posfat, aktivitas isolat yang dipakai dalam penelitian ini dalam menghasilkan hormon tumbuh, seperti IAA juga diduga sebagai penyebab peningkatan kecepatan pertumbuhan akar tanaman cabai di dalam tanah. Alasan ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Vasudevan *et al.* (2002) dan Khalid *et al.* (2004), yang menyatakan bahwa beberapa spesies *Bacillus* dapat menghasilkan senyawa yang merangsang pembentukan akar lateral dan meningkatkan jumlah akar untuk memperluas bidang penyerapan unsur hara.

Kecenderungan terjadinya pertumbuhan juga teramati pada hasil pengukuran tinggi dan diameter batang tanaman cabai yang ditampilkan pada Tabel 6 *Bacillus* sp. yang tergolong dalam *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) menghasilkan senyawa-senyawa/hormon yang mampu memicu pertumbuhan tanaman Khalid *et al.* (2004). Selain auksin, *Bacillus* juga mampu menghasilkan hormon pertumbuhan seperti sitokinin yang berperan sebagai zat pengatur tumbuh, terutama sebagai zat yang mendorong terjadinya pembelahan sel (sitokinesis) pada jaringan meristem tanaman (Folk, 1957).

Pemberian kultur *Bacillus* sp. B3 pada tanaman cabai sebagai kontrol positif (F) menunjukkan hasil yang paling baik. Hal ini diduga bakteri-bakteri *Bacillus* sp. yang terdapat pada suspensi tersebut bersifat sinergis atau saling menunjang. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Whipps (2001), yang menyatakan bahwa perlakuan bakteri dapat ditingkatkan dengan cara mengkombinasikan beberapa strain bakteri yang memiliki mekanisme yang berbeda tetapi saling menunjang. Fenomena ini menunjukkan bahwa bakteri pada produk Custombio yang terdiri dari 5 jenis spesies *Bacillus*, memang menunjukkan mekanisme yang saling sinergis dan dapat dijadikan alternatif sebagai probiotik alami bagi tanah. Munif (2001), juga melaporkan bahwa kombinasi antara *Enterobacter* spp. MK42 dengan *P. putida* MT16 lebih efektif dalam



menekan *Meloidogyne incognita* pada tomat jika dibandingkan dengan *P. putida* MT16 yang diaplikasikan secara tunggal.

## KESIMPULAN

Bakteri *Ralstonia* sp. berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari tanaman cabai dengan gejala layu bakteri. *Bacillus* sp.3 (B3) mampu menghambat penyakit layu bakteri pada tanaman cabai dengan penurunan insiden infeksi sebesar  $\pm 100\%$  (100% survive), relatif terhadap kontrol (pot yang diinokulasi dengan patogen saja) pada percobaan skala rumah kaca selama 4 minggu. Dengan dilakukannya penelitian yang berkenaan dengan penggunaan bakteri *Bacillus* sp. B3 yang diisolasi dari produk CustomBio, maka diharapkan dapat dipakai sebagai metoda alternatif bagi petani untuk mengendalikan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai di Bali.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto, T. 1998. Pengendalian secara Hayati Penyakit Layu Bakteri pada Tembakau. *Laporan Riset Unggulan Terpadu IV* (1996–1998). Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi. Jakarta.
- Arwiyanto, T. dan I. Hartana. 1999. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau, Percobaan rumah kaca. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 5(1): 50–59.
- Aspiras, R. B. and A. R. de La. Cruz. 1985. Potential Biological Control of Bacterial Wilt in Tomato and Potato with *Bacillus polymyxa* FU6 and *Pseudomonas fluorescens*. *Proceedings of an International Workshop PCARRD*, Philippines 8-10 October 1985. pp. 89-92.
- Bacon C.W., and Hinton D. M. 2007. *Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility*. Plant-Associated Bacteria. Springer. Netherlands.
- Badan Pusat Statistik, 2011. *Produksi Cabai Meningkat, Bawang Merah Turun*. <http://jaringnews.com/ekonomi/sektor-riil/19896/bps-produksi-cabai-meningkat-bawang-merah-turun.html>.
- Biosystem. 1992. *Maximise Your Yields with Biological Soil Enhancement*. Jakarta.
- Brimmer, T. A. and Boland, G. J. 2003. A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. *Agr Ecosyst Environ* (100) pp. 3–16.
- Cahyono B., 1998. *Tomat (Budidaya dan Analisa Usaha Tani)*. Kanisius. Yogyakarta.
- Chrisnawati, Nasrun dan Triiwidodo. A. 2009. Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Nilam Menggunakan *Bacillus* spp dan *Pseudomonas fluoresen*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. Bogor. Vol, 15.(3): 116-123.
- Dai-Soo Kim, R. J. Cook, and D. M. Weller. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology* (87): 551– 558.
- Djereng, D. K., R. Kawuri, Y. Ramona. 2016. Potential *Bacillus* sp. as biocontrol agent of bacterial wilt *Ralstonia solanacearum* in vitro. *Proceeding and Enchancing Academic Collaboration Throught ASEA-UNINET Scientific Meeting. ASEAN European Academic University Network and Udayana University, Bali*. 15 Februari 2016. hal. 183-187.
- Duriat, A.S. 2009. *Pengendalian Penyakit Kuning Keriting Pada Tanaman Cabai Kecil*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Bandung. (5): 43-45.
- Engelbrecht M. C. 1994. Modification of a semi-selective medium for the isolation and quantification of *Pseudomonas solanacearum*. *ACIAR Bacterial Wilt Newsletter* 10: 3-5.
- Fegan, M. and Prior, P. 2005. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex” in: *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. Pages 449-461
- Gunawan, O. S. 1995. Pengaruh mikroorganisme antagonis dalam mengendalikan bakteri layu *Pseudomonas solanacearum* pada tanaman kentang. *Risalah Kongres*

- Nasional dan Seminar Ilmiah PFI XII*, Mataram. hlm. 473–479.
- Hilda, R and Fraga, R. 2000. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Adv.* (17):319–359.
- Irianto, A., 2003. *Agen Biokontrol Akua-kultur*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Johansson J., Paul L., Finlay R.D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*. 48:1-12.
- Juwono, Juniarto A. Z. 2002. *Biologi sel*. Jakarta: EGC. p 85-918.
- Khalid A., Arshad M., Zahir Z. A. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat (abstract). *App Microb.* 96:473.
- Lelliot, R. A., and D. E. Stead. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. *Methods in Plant Pathology*, British Society for Plant Pathology. *Blackweel Scientific Publications*. (2): 212.
- Marwiyah. 2009. Komposisi media produksi *Pseudomonas stutzeri* dan *Bacillus* sp. LTS40 dan formulasinya untuk agen biokontrol pada tambak udang. (Tesis) Bogor. IPB.
- Muliani, Suwanto, A., Hala, Y. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). *Hayati* (10): 6-11.
- Mulya, K., Supriadi, E.M. Ardhi, S. Rahayu, dan N. Karyani. 2000. Potensi bakteri antagonis dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri jahe. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 6(2): 37–43.
- Munif A. 2001. Studies on the importance of endophytic bacteria for the biological control of the root-knot nematode *meloidogyne incognita* on tomato. *Inaugural-Dissertation*. Institut fur Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich Wilhelms. Universitat Bonn.
- Nasrun dan Y. Nuryani. 2007. Penyakit Layu Bakteri Pada Nilam Dan Strategi Pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. 26(1)
- Ratulangi, M. M. 2004. Control of Sclerotium Wilt Diseases on Soybean by Soil Solarization Eugenia. *Publication of the Australian Centre for International Agricultural Research*. 10(1): 1-7.
- Ryan, K. J., dan Ray, C.G., 2010. *Sherris Medical Microbiology*, 4<sup>th</sup> ed. McGraw
- Schippers, B., B. Lugtenberg, and P. J. Weisbeek. 1987. Plant Growth Control by *Pseudomonas fluorescent*. *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. Pp. 30-34.
- Skoog, Folke. 1957. *Hormon Auksin dan Sitokinin*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Soeng S, Rusmana D, Wargasetia TL. 2009. *Basic Biology of cells : Kapita Seleкта*. Edisi 2. Bandung : Grafika. 113-1282.
- Suliasih dan Rahmat. 2007. Aktivitas Fosfatase dan Pelarutan Kalsium Fosfat oleh Beberapa Bakteri Pelarut Fosfat. *Biodiversitas*. 8(1): 23-26.
- Sumardiyono, C., S. M. Widyastuti., and Y. Assi. 2001. Pengimbasan ketahanan pisang terhadap penyakit layu Fusarium dengan *Pseudomonas fluorescens*. *Prosiding Kongres XVI dan Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Bogor. pp 257-259.
- Tutupary J. M, Wattimena G, Sinaga MS, Aswidinnoor H. 2004. Resistensi plasma nutfah kentang terhadap 3 isolat patogen hawar daun (*Phytophthora infestans*). *Hayati*. 11(2): 47-52.
- Vasudevan P, M. S. Reddy, S. Kavitha, P. Velusamy, R. S. D. Paulraj. 2002. Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. *Current science*. 83:1140-1143.
- Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *journal of experimental botany*. (52):467-511
- Widanarni, Suwanto, A., Sukenda, Lay, B. W. 2003. Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. *Biotropia* (20): 11-23.