

M E T A M O R F O S A
Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**Antagonis *Pseudomonas fluorescens* indogenous terhadap *Ralstonia solanacearum* pada
Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum*)**

**Antagonist of Indogenous *Pseudomonas fluorescens*
against *Ralstonia solanacearum* in Tomato (*Lycopersicon esculentum*)**

Armaleni*, Nasril Nasir, Anthoni Agustien

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Andalas University

**Email: armaleni03@gmail.com*

INTISARI

Tomat (*Lycopersicon esculentum*) adalah salah satu tanaman sayuran terpenting di Sumatera Barat. Di provinsi ini, tomat ditanam di daerah dataran tinggi Solok, Padang Panjang, Tanah Datar dan Bukittinggi. Setiap tahun, meningkatnya permintaan tanaman ini berasal dari provinsi lain di Sumatra dan Jawa. Peluang ini merangsang aktivitas agribisnis tomat di Sumatera Barat, namun tanaman tersebut mati karena penyakit layu bakteri yang paling parah yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*. Tujuan dari penelitian ini untuk memilih antagonis *Pseudomonas fluorescens* sebagai agen kontrol biologis terhadap *R. solanacearum*. Kandidat antagonis *P. fluorescens* dikumpulkan dari tomat yang sakit dengan gejala *R. solanacearum* di beberapa perkebunan tomat di Sumatera Barat. Studi antagonis dilakukan Maret hingga Juli 2016 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Masing-masing kandidat yang dikumpulkan untuk menemukan karya antagonis, dan ditumbuhkan antagonis dengan *R. solanacearum* pada media *Nutrient Agar*. Hasil penelitian menemukan bahwa terdapat 16 isolat *P. fluorescens* yang terjadi. Kemampuan antagonis terbaik di antara para kandidat adalah dari Pfi dengan zona diameter 4,95 cm.

Kata kunci: tomat, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas fluorescens*, agen kontrol biologi, Pfi

ABSTRACT

Tomato (*Lycopersicon esculentum*) is one of the most important vegetable crops produce in West Sumatra. In this province, tomato are cultivated at highland regions of Solok, Padang Panjang, Tanah Datar and Bukittinggi. Annually, the increasing demand of this crop comes from other provinces in Sumatra and Java. This opportunity stimulate tomato's agribusiness activity in West Sumatra. However, the crop succumb to the most destroyed bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*. The aims of this study to select antagonist *Pseudomonas fluorescens* as a biological control agent against *R. solanacearum*. The candidates of antagonist *P. fluorescens* were collected from diseased tomato with *R. solanacearum*'s symptom in several tomato's plantations in West Sumatra. Study of the antagonist was conducted from March to July 2016 at the Laboratory of Microbiology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Andalas University. To find the antagonist work, each of the collected candidate was grown opposite *R. solanacearum* on Nutrient Agar medium. The result found that there were 16 isolates of *P. fluorescens* occurred. The best antagonist ability amongst the candidates was from Pfi with diameter zone was 4.95 cm.

Keywords: tomato, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas fluorescens*, biological control agent, Pfi

PENDAHULUAN

Tomat (*Lycopersicon esculentum*) merupakan tanaman sayuran dalam famili Solanaceae. Tomat mengandung nilai gizi yang baik terutama pada vitamin A dan vitamin C, serta tomat dapat dikonsumsi dalam bentuk segar maupun olahan. Permintaan konsumen akan buah tomat semakin meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk dan peningkatan kesadaran pentingnya nilai gizi serta tumbuhnya berbagai industri pengolahan tomat (Nurjanani, 2011). Berdasarkan laporan Badan Pusat Statistik (BPS) Indonesia pada tahun 2011, produksi tomat sedikit mengalami kenaikan dari 891.616 ton pada tahun 2010 menjadi 950.385 ton. Salah satu penyebab sedikitnya produksi buah tomat di Indonesia adalah karena serangan penyakit dari *R. solanacearum*. Pengendalian yang telah dilakukan terhadap penyakit layu *R. solanacearum* antara lain adalah penggunaan varietas tahan hama dan penyakit, pergiliran tanaman dan penggunaan antibiotik, namun hasilnya belum memuaskan (Semangun, 1989).

Oleh karena itu, penggunaan agen hayati diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif dalam pengendalian penyakit tersebut. Menurut Nesmith dan Jenkins (1985) bakteri *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., dan cendawan *Trichoderma* sp., dapat menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* di media agar. Berdasarkan hal di atas perlu dilakukan penelitian tentang kemampuan dari isolat *Pseudomonas fluorescens* yang berasal dari rizosfer yang berbeda dalam menghambat *R. solanacearum*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode survei dan eksperimen yang dilakukan pada bulan Maret-Juli 2016 di Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA, Universitas Andalas. Alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, spatula, Aluminium foil, autoclave, *Beaker Glass*, jarum ose, pipet tetes, lampu spiritus, pinset, *Drill Glass*, jangka sorong, kamera digital dan alat-alat tulis. Bahan yang digunakan adalah isolat *Pseudomonas fluorescens* hasil isolasi dari

perkebunan tomat yang terinfeksi *R. solanacearum*, kertas cakram steril, kertas label, plastik wrapping. Bahan yang digunakan dalam pembuatan medium King's B adalah Protease pepton, K_2PO_4 , Mg_2SO_4 , gliserin, agar Oxoid. Bahan yang digunakan dalam pembuatan medium *Triphenyl Tetrazolium Salt* (TTC) adalah Pepton, *Casein Hydrolysate*, glukosa, agar oxoid dan TTC. Bahan yang digunakan untuk pembuatan medium Sucrose Pepton Agar (SPA) adalah Sucrose, Pepton, K_2PO_4 , Mg_2SO_4 dan agar Oxoid.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi alat

Alat-alat yang terbuat dari kaca yang digunakan dicuci terlebih dahulu, dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas koran dan mulut wadah ditutup dengan kapas. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu $121^\circ C$, tekanan 1 atm selama 15 menit (Pelczar dan Chan, 1998). Jarum ose dan pinset disterilisasikan dengan mencelupkan ke dalam alkohol 70% dan melakukan pemijaran menggunakan api bunsen.

Pembuatan Medium King's B

Protease pepton ditimbang sebanyak 4 gram, K_2PO_4 0,375 gram, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,375 gram, *gliserin* 3,75 gram, dan agar oxoid sebanyak 3,75 gram, lalu bahan tersebut dimasukkan ke dalam *Beaker Glass* dan ditambahkan aquades steril sampai volume 250 mL. Campuran dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan tutup rapat dengan kapas dan *Aluminium foil*. Sterilisasi di dalam *Autoclave* pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Modifikasi dari Klement *et al.*, 1990). Kemudian dinginkan medium sampai suhu $50^\circ C$, dituangkan ke dalam cawan petri berukuran ± 15 cm sebanyak 12 mL (Hadietomo, 1993).

Pembuatan Medium TTC

Pepton sebanyak 2,5 gram, *Casein Hydrolysate* 1 gram, Glukosa 1,25 gram, agar oxoid sebanyak 3 gram, lalu bahan tersebut dimasukkan ke dalam *Beaker Glass* dan ditambahkan aquades steril sampai volume 250

mL. Campuran dipanaskan sampai mendidih, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi di dalam *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit (modifikasi dari Klement *et al.*, 1990) lalu dinginkan medium sampai suhu 50°C, kemudian tambahkan TTC sebanyak 1 tetes dan aduk dengan menggunakan spatula steril untuk menghomogenkan medium TTC. Selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri berukuran ±15cm sebanyak 12 mL (Hadietomo, 1993).

Peremajaan *Pseudomonas fluorescens* dan *R. solanacearum*.

Isolat *Pseudomonas fluorescens* digoreskan pada cawan petri yang telah berisi medium *King's B*. Inkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Kemudian Isolat *R. solanacearum* yang berada di tabung *ependorf* diambil 1 ose dan digoreskan pada cawan petri yang telah berisi medium TTC. Inkubasi pada suhu kamar selama 48 jam.

Pengenceran *Pseudomonas fluorescens* dan *R. solanacearum*.

Pengenceran *Pseudomonas fluorescens* dilakukan dengan mengambil 1 ose *Pseudomonas fluorescens* dalam cawan petri kemudian dilarutkan ke dalam 9 mL aquades steril dalam tabung reaksi sampai pengenceran 10⁶. Kemudian pengenceran terhadap *R. solanacearum* dilakukan dengan cara sama dengan mengambil 1 ose *R. solanacearum* dalam cawan petri kemudian dilarutkan ke dalam 9 mL aquades steril di dalam tabung reaksi sampai pengenceran 10⁶.

Uji Antagonis *Pseudomonas fluorescens* dengan *R. solanacearum*

Diambil 0,1 mL *R. solanacearum* kemudian ditanamkan pada cawan petri yang telah berisi medium Nutrien Agar dengan metode tebar, diratakan dengan menggunakan *Drill Glass*. Kemudian letakan cakram steril (ukuran ±0,5cm) yang telah ditetesi *Pseudomonas fluorescens* sebanyak 0,1 mL pada bagian tengah cawan petri yang telah

ditebari *R. solanacearum*. Inkubasi selama 48 jam pada suhu kamar.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan menghitung diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

Teknik Analisis Data

Data yang diambil berupa panjang diameter zona hambat yang terbentuk, kemudian disajikan dalam bentuk bentuk deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pseudomonas fluorescens mampu menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*. Hal ini dapat dilihat dari adanya zona hambat di sekitar koloni bakteri *R. solanacearum* (Gambar 1.)



Gambar 1. Zona hambat Pfi terhadap *R. solanacearum*

Diameter zona hambat *Pseudomonas fluorescens* dengan *R. solanacearum* bervariasi dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil yang didapatkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman tomat.

Hasil penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 1 yaitu, bahwa semua isolat *Pseudomonas fluorescens* mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* penyebab penyakit layu pada tomat secara invitro. Dari 12 isolat *Pseudomonas fluorescens* yang digunakan, isolat Pfi yang memiliki diameter zona hambat yang paling besar yaitu 4,95 cm.

Kemampuan *Pseudomonas fluorescens* menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* dipengaruhi oleh antibiotik yang dihasilkan

Pseudomonas fluorescens. *P. fluorescens* menghasilkan 2 antibiotik Chlorinated phenylpyrol yaitu : *Pyroluteorin* dan *Pyrolnitrin*. Antibiotik *Pyrolnitrin* efektif terhadap pertumbuhan *R. solanacearum*, antibiotik ini dapat bertahan 30 hari dalam tanah lembab tanpa kehilangan aktivitasnya (Habazar and Yaherwandi, 2006). Mekanisme yang terjadi antara *Pseudomonas fluorescens* ini bersifat antagonis yaitu peristiwa yang terjadi yang menyebabkan tertekannya aktivitas suatu organisme jika dua atau lebih berada pada tempat yang berdekatan (Semangun, 1996).

Tabel 1. Diameter zona hambat *Pseudomonas fluorescens* dengan *Ralstonia solanacearum* (cm)

Perlakuan	Rerata diameter (cm)
Isolat B	1,23
Isolat C2	1,27
Isolat D	2,40
Isolat E	1,54
Isolat E1	1,31
Isolat G	1,39
Isolat H	1,31
Isolat H2	1,68
Isolat I	4,95
Isolat K	1,02
Isolat M	1,29
Isolat Mb	1,18

Kemampuan *Pseudomonas fluorescens* dalam menghambat *R. solanacearum* juga dipengaruhi oleh kemampuannya dalam menghasilkan siderofor. Menurut Parjono (2008), siderofor yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens* yang mampu mengikat Fe pada lingkungan defisiensi Fe, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan patogen, karena Fe menjadi tidak tersedia bagi patogen.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *R. solanacearum*

penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman tomat (*L. esculentum*). Zona hambat terbesar didapatkan pada isolat Pfi yaitu 4,95 cm.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik (BPS). 2011. *Produksi sayuran dan buah-buahan*. Indonesia.
- Habazar, T dan Yaherwandi. 2006. *Pengendalian hayati hama dan penyakit tumbuhan*. Padang : Universitas Andalas Press.
- Hadietomo, R. S. *Mikrobiologi dasar dalam praktek*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Nesmith WC, Jenkins SF Jr. 1985. Influence of an antagonist and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in tour North Carolina soils. *Phytopatology*.
- Parjono. 2008. *Pseudomonas* sp. sebagai pemacu pertumbuhan dan pengendali hayati fungsi patogen akar tanaman kedelai. *Disertasi online*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Pudjiatmoko. 2008. Pengamatan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat (*Licopersicom esculentum*) di *Greenhouse* dan pengujian agen antagonis. *Laporan masalah khusus penyakit tanaman*.
- Puslitbang Holtikultura. 2004. *Hasil-hasil penelitian holtikultura pelita V*. Jakarta: Badan Litbang Pertanian.
- Semangun. 1989. *Penyakit-penyakit Tanaman Holtikultura di Indonesia*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada
- Semangun. 2006. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
- Suryadi, Y. 2009. Efektivitas *Pseudomonas flouresens* terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tanaman kacang tanah. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika*.
- Supriyono. 2010. Uji kompatibilitas dua agensia hayati *Pseudomonas fluorescens* dan actinomycetes dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara in vitro. *Skripsi online*. Universitas Pembangunan Nasional Veteran.