

**POTENSI RIZOBAKTERI YANG DIISOLASI DARI RIZOSFER
TANAMAN LEGUMINOSAE UNTUK MENGENDALIKAN
JAMUR *Sclerotium rolfii* PENYEBAB PENYAKIT REBAH
KECAMBAH PADA TANAMAN KEDELAI**

Komang Adi Mahartha¹, Dewa Ngurah Suprpta^{2*)}, dan Gusti Ngurah Alit
Susanta Wirya²

¹Program Magister Bioteknologi Pertanian, Program Pascasarjana Universitas
Udayana

²Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian, Universitas Udayana

*)Corresponding author at : Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali Indonesia
E-mail : biop@dps.centrin.net.id

Abstract

Damping off disease caused by *Sclerotium rolfii* is an important disease of soybean, because soybean plant will die after attacked by pathogen. This pathogen can survive for a long time in the soil by sclerotia form. Some of rhizobacteria isolated from the rhizospheres of Leguminosae plants were known could control soil-borne pathogens. This study aims to test rhizobacteria isolated from the rhizosphere of Leguminosae plants that able to suppress the growth of *S. rolfii*. Total of 11 isolates of 112 isolates rhizobacteria that could be isolated from Leguminosae plants had antifungal activity against *S. rolfii*. Inhibition test of 11 isolates of rhizobacteria against *S. rolfii* showed that three isolates had the highest ability to inhibit the growth of *S. rolfii* namely isolates KtD1, KtD6, and KtB3. This result suggested that three isolates of rhizobacteria tested in this study can be further developed as bio-control agent to reduce the development of damping off disease on soybean.

Keywords: rhizobacteria, Leguminosae plants, damping off, *S. rolfii*

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan salah satu komoditas strategis di Indonesia. Kedelai menjadi tanaman terpenting ketiga setelah padi dan jagung (Danapriatna, 2007). Menurut BPS (2014), produksi kedelai pada tahun 2009 hingga 2013 secara berturut-turut sebesar 974.512 ton, 907.031 ton, 851.286 ton, 843.153 ton, dan 779.992 ton. Data ini menunjukkan bahwa produksi kedelai terus mengalami penurunan. Salah satu faktor yang menyebabkan penurunan produksi kedelai adalah penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh jamur *Sclerotium rolfii*. Penyakit rebah kecambah pada kedelai mampu menyebabkan penurunan hasil mencapai 59% (Akem & Dashiell, 1991).

Pemanfaatan agen hayati untuk mengendalikan serangan jamur *S. rolfii* menjadi pilihan alternatif yang perlu dipertimbangkan. Salah satu cara alternatif yang semakin berkembang ialah dengan memanfaatkan rizobakteri. Rizobakteri

sebagai agen hayati mampu menghasilkan senyawa antijamur seperti: 2,4-*diacetyl phloroglucinol*, enzim kitinase ekstraseluler, dan laminarinase yang dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen. (Mauch *et al.* (1988), Nowak-Thompson *et al.* (1994)).

Tanaman Leguminosae dikenal memiliki keragaman mikroba dalam tanah melalui eksudat akarnya serta dapat memberikan dampak positif untuk pengendalian patogen tular tanah. Menurut Sugiyama dan Yazaki (2012), tanaman Leguminosae menciptakan interaksi simbiosis dengan rhizobia dan jamur mikoriza arbuskular untuk mendapatkan beberapa unsur hara seperti nitrogen dan fosfat. Dalam interaksi ini, *flavonoid* dan *strigolactones* dalam eksudat akar berfungsi sebagai molekul sinyal untuk menciptakan interaksi simbiosis. Penelitian Dey *et al.* (2004) melaporkan bahwa adanya inokulasi isolat *P. fluorescens* PGPR1, PGPR2, dan PGPR4 yang diperoleh dari rizosfer kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.), mampu menekan penyakit jamur patogen tular tanah seperti penyakit busuk kacang tanah yang disebabkan oleh *Aspergillus niger* dan isolat PGPR4 mampu menekan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfii*. Solichatun *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa rizobakteri yang diisolasi dari akar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) mampu menghambat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro* dengan persentase daya hambat terhadap *Klebsiella pneumoniae* isolat KTNA2 sebesar 89,98%, *Klebsiella pneumoniae* isolat KTGA1 sebesar 84,29%, *Acinetobacter baumannii* isolat KTGA3 sebesar 77,26%, dan *Stenotrophomonas maltophilia* isolat KTTA4 sebesar 73,21%.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk menguji rizobakteri yang diisolasi dari rizosfer tanaman Leguminosae yang mampu menekan pertumbuhan jamur *S. rolfii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

2. Bahan dan Metode

2.1 Uji Patogenisitas Jamur *S. rolfii* pada Benih Kedelai

Isolat *S. rolfii* diperoleh dari koleksi Laboratorium Biopestisida, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana dan telah diremajakan di cawan Petri selama 7 hari diinokulasikan pada 120 ml media Potato Dextrose Broth (PDB) di dalam labu Erlenmeyer 250 ml dan diinkubasi selama 10 hari (28-30°C). Sebanyak 120 ml suspensi biakan *S. rolfii* dicampur dengan 600 g campuran tanah dan kompos steril (nisbah 3:1) di dalam nampan plastik yang berukuran 38 x 30 x 7 cm (Malinda *et al.*, 2012). Sebanyak 30 benih kedelai ditanam ke dalam tiap nampan lalu ditutup dengan plastik, sebagai perlakuan (P). Benih yang ditanam ke dalam nampan yang tidak dicampur dengan suspensi jamur patogen tersebut sebagai kontrol (K). Ulangan dilakukan sebanyak tiga kali. Amati tanaman yang terserang rebah kecambah. Reisolasi dilakukan terhadap *S. rolfii* dengan memotong

jaringan pada pangkal batang kecambah yang menunjukkan gejala rebah kecambah, kemudian diinokulasikan pada media Potato Dextrose Agar (PDA). Isolat *S. rolfsii* yang diperoleh dapat digunakan untuk uji selanjutnya.

2.2 Pengambilan Sampel dari Rizosfer Tanaman Leguminosae

Sampel diambil dari 8 (delapan) jenis tanaman Leguminosae yang tumbuh di sekitar Kota Denpasar, Kabupaten Badung, Tabanan, dan Gianyar, seperti: kedelai (*Glycine max* L.), kacang tanah (*Arachis hypogaea*), kacang panjang (*Vigna unguiculata*), lamtoro (*Leucaena leucocephala*), trembesi (*Samanea saman*), putri malu (*Mimosa pudica*), kacang merah (*Vigna angularis*), dan orok-orok (*Crotalaria juncea*). Tanah pada daerah perakaran diambil sebanyak 50-100 g dan dibawa ke laboratorium untuk digunakan pengujian selanjutnya.

2.3 Isolasi Rizobakteri dari Rizosfer Tanaman Leguminosae

Sebanyak 10 g sampel akar dan tanah dimaserasi pada mortal kemudian diencerkan dalam 100 ml *Phosphate Buffered Saline* (PBS). Selanjutnya, dibuat seri pengenceran dengan PBS sampai pengenceran 10^{-4} . Media yang digunakan untuk mengisolasi rizobakteri adalah media *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung 0,5% pepton, 0,3% *beef extract*, 1,5% agar, dan air suling. Media ini ditambah Benomyl (10 g/l) atau Nystatin (20 mg/l) untuk mengurangi pertumbuhan jamur. Koloni rizobakteri lalu dimurnikan pada media NA. (Quintao, 2015).

2.4 Seleksi Rizobakteri sebagai Agen Hayati Jamur *S. rolfsii*

Sebanyak 112 isolat rizobakteri yang diperoleh dari rizosfer 8 jenis tanaman Leguminosae terlebih dulu diujikan dengan jamur *S. rolfsii* pada media PDA. Prachyo *et al.* (2014) menyatakan bahwa jarak pengujian antara rizobakteri dan jamur adalah ± 1 cm. Jika dalam jarak tersebut koloni jamur tumbuh secara tidak normal dan terdapat zona bening, diduga rizobakteri tersebut memiliki aktivitas antijamur. Jika jamur tumbuh normal dan tidak ada zona bening yang muncul, maka rizobakteri tidak memiliki aktivitas antijamur. Biakan kemudian diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu kamar selama dua hari. Isolat rizobakteri yang memiliki aktivitas antijamur akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

2.5 Uji Daya Hambat Rizobakteri terhadap Jamur *S. rolfsii* secara *In Vitro*

Uji daya hambat 11 isolat rizobakteri terhadap pertumbuhan *S. rolfsii* ditentukan dengan metode yang digunakan oleh Parwati *et al.* (2014). Jamur *S. rolfsii* diinokulasikan pada media PDA, kemudian masing-masing isolat bakteri diinokulasikan pada 4 posisi mengapit jamur masing-masing berjarak 2 cm dari tepi cawan Petri. Satu cawan Petri berisi satu isolat bakteri dan jamur *S. rolfsii*. Terdapat 12 perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali. Kemudian, cawan Petri diinkubasi pada suhu kamar. Pengamatan dilakukan terhadap luas koloni jamur *S.*

rolfsii, dengan mencatat luas koloni patogen hingga hari ketiga setelah inkubasi. Luas koloni jamur *S. rolfsii* ditentukan dengan menggunakan kertas milimeter blok dan kertas kalkir. Koloni jamur dari masing-masing perlakuan digambar diatas kertas kalkir dan dihitung luasnya dengan milimeter blok. Penentuan persentase daya hambat rizobakteri antagonis terhadap jamur *S. rolfsii* ditentukan dengan rumus (Khalimi & Wirya, 2009) :

$$\text{Daya hambat} = \frac{(\text{luas koloni kontrol} - \text{luas koloni perlakuan})}{\text{luas koloni kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

2.6 Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Varians*). Jika pada uji F menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%.

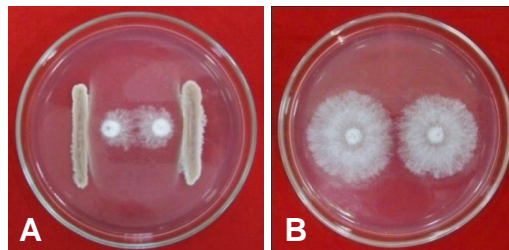
3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolat Rizobakteri

Berdasarkan hasil isolasi rizobakteri dari 8 jenis tanaman Leguminosae diperoleh sebanyak 14 isolat rizobakteri berasal dari rizosfer kedelai (Kd), 34 isolat rizobakteri dari rizosfer kacang tanah (Kt), 12 isolat rizobakteri dari rizosfer kacang panjang (Kp), 6 isolat rizobakteri dari rizosfer tanaman lamtoro (Lm), 4 isolat rizobakteri dari rizosfer tanaman trembesi (Tr), 23 isolat dari rizosfer tanaman putri malu (Pm), 15 isolat rizobakteri dari rizosfer tanaman orok-orok (Or), dan 4 isolat rizobakteri dari rizosfer tanaman kacang merah (Km). Secara keseluruhan diperoleh sebanyak 112 isolat rizobakteri.

3.2 Isolat Rizobakteri yang Bersifat Antagonis terhadap Jamur *S. rolfsii*

Berdasarkan hasil pengujian terhadap 112 isolat rizobakteri, sebanyak 11 isolat rizobakteri dapat menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada umur 2 hari. Pertumbuhan jamur yang diuji dengan masing-masing isolat rizobakteri menunjukkan pertumbuhan yang tidak normal dan terdapat zona bening di sekitar rizobakteri dan jamur (Gambar 1). Sebelas isolat rizobakteri tersebut adalah isolat KmD2, KtD1, KtD2, KtD6, TrD1, TrD4, KtT1, KtT3, KdT1, KtB3, dan KdB5.



Gambar 1. Aktivitas antijamur isolat rizobakteri dari tanaman kacang tanah terhadap jamur *S. rolfsii* (A) dan kontrol (B) pada media PDA umur 2 hari setelah inokulasi.

Sebelas isolat rizobakteri yang berasal dari rizosfer tanaman Leguminosae berpotensi sebagai agen hayati terhadap jamur *S. rolfsii* dengan menghasilkan senyawa antijamur seperti siderofor dan enzim. Sen *et al.* (2006) mengatakan bahwa rizobakteri *Pseudomonas* BRL-1 berpendarflour mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *S. rolfsii* secara *in vitro* dengan menghasilkan senyawa siderofor, kitinase, dan protease. Pastor *et al.* (2010) juga membuktikan bahwa *Pseudomonas* sp. PCI2 mampu memproduksi siderofor dan kitinase yang berperan dalam aktivitas biokontrol terhadap jamur *S. rolfsii*.

3.3 Daya Hambat Rizobakteri terhadap Jamur *S. rolfsii* pada Media PDA

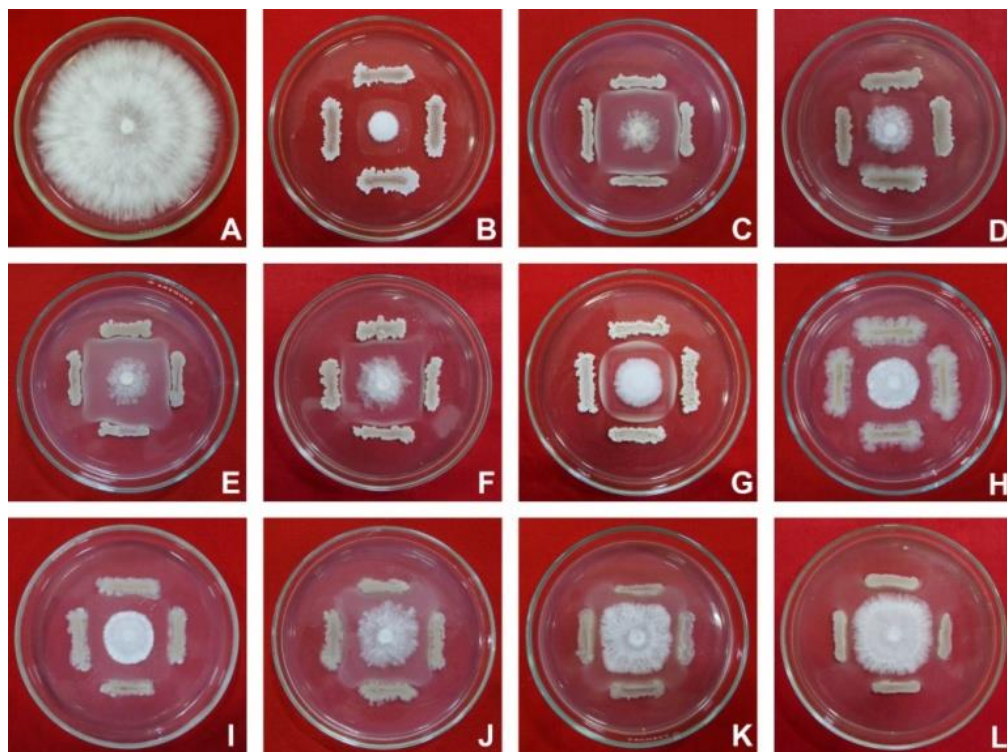
Berdasarkan hasil uji daya hambat 11 isolat rizobakteri terhadap jamur *S. rolfsii*, masing-masing isolat rizobakteri yang diuji mampu menekan pertumbuhan koloni jamur *S. rolfsii* pada umur 3 hari seperti disajikan pada Gambar 2. Masing-masing isolat rizobakteri secara nyata ($P < 0,05$) mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *S. rolfsii* dengan daya hambat yang bervariasi antara 77,57% sampai 96,97% seperti tercantum pada Tabel 1.

Masing-masing perlakuan rizobakteri memberikan pengaruh yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Tiga isolat rizobakteri yang memiliki persentase daya hambat tertinggi diantara 11 isolat tersebut ialah isolat KtB3, KtD6, dan KtD1. Penekanan rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* diduga melalui produksi senyawa antijamur. Kemampuan suatu agen hayati khususnya rizobakteri dalam menekan pertumbuhan patogen dapat melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan. Menurut Fernando *et al.* (2005), mekanisme penghambatan tersebut adalah dengan menghasilkan antibiotik, toksin, siderofor, serta hidrogen sianida (HCN). Kemampuan rizobakteri dalam menghasilkan senyawa antibiotik untuk menghambat pertumbuhan patogen juga telah dilaporkan beberapa peneliti. Reddy (2014) menyatakan bahwa spesies bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. mampu menekan pertumbuhan patogen tanaman dengan memproduksi senyawa antibiotik yang bersifat antijamur. Sarvani dan Reddy (2013) menyatakan bahwa sebanyak 7 isolat bakteri *Bacillus* sp. mampu memproduksi siderofor dan hidrogen sianida (HCN) ketika diuji kemampuan antagonisnya terhadap jamur *S. rolfsii* secara *in vitro*. Menurut Ramyasmruthi *et al.* (2012), enzim litik yang dihasilkan mikroba mampu mendegradasi dinding sel jamur dengan cara memecah ikatan dari senyawa polimer, seperti: kitin, selulosa, hemiselulosa, dan protein.

Tabel 1. Daya hambat isolat rizobakteri terhadap pertumbuhan koloni jamur *S. rolfsii* umur 3 hari pada media PDA

No.	Isolat	Luas koloni jamur (mm ²)	Daya hambat (%)
1.	Kontrol	5.020,67 a*	-
2.	KmD2	1.126,67 b	77,57
3.	KtT1	953,67 c	81,00
4.	TrD1	546,67 d	89,11
5.	TrD4	532,67 de	89,39
6.	KtT3	507,33 def	89,89
7.	KdB5	416,67 def	91,70
8.	KdT1	414,67 def	91,74
9.	KtD2	382,67 def	92,38
10.	KtD1	373,67 ef	92,56
11.	KtD6	362,67 f	92,78
12.	KtB3	152,00 g	96,97

*)Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan *Duncan's Multiple Range Test* pada taraf 5 %.



Gambar 2. Aktivitas penghambatan beberapa rizobakteri terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada media PDA umur 3 hari setelah inokulasi. (A) Kontrol *S. rolfsii*, (B) koloni jamur yang diberi perlakuan rizobakteri isolat KtB3, (C) isolat KtD6, (D) isolat KtD1, (E) isolat KtD2, (F) isolat KdT1, (G) isolat KdB5, (H) isolat TrD4, (I) isolat TrD1, (J) isolat KtT3, (K) isolat KtT1, dan (L) isolat KmD2

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Sebanyak 11 isolat rizobakteri dari 112 isolat yang berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman Leguminosae, yaitu isolat: KmD2, KtD1, KtD2, KtD6, TrD1, TrD4, KtT1, KtT3, KdT1, KtB3, dan KdB5 mampu menghambat pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* pada media PDA.
2. Tiga isolat rizobakteri yaitu KtB3, KtD6, dan KtD1 terbukti efektif menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada media PDA. Rizobakteri ini diperkirakan mampu mengendalikan jamur *S. rolfsii* pada kondisi rumah kaca dan lapangan.

4.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi terhadap spesies rizobakteri serta isolasi dan identifikasi senyawa yang dihasilkan rizobakteri. Selain itu, perlu dilakukan pengujian efektivitas rizobakteri untuk mengendalikan penyakit rebah kecambah pada kondisi rumah kaca.

Daftar Pustaka

- Akem, C.N. and Dashiell, K.E. 1991. First Report of Southern Blight Caused by *Sclerotium rolfsii* on Soybean in Nigeria. *Plant Disease*. 75 (6) : 537.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2014. Luas Panen, Produktivitas, Produksi Tanaman Kedelai Provinsi Indonesia. URL: http://www.bps.go.id/proses_pgnxls.php?adodb_next_page=&eng=0&pgn=3&prov=00&thn1=2009&thn2=2013&luas=1&produktivitas=1&produksi=1&display=34&page=1&offset=0 (diakses 4 Oktober 2014).
- Danapriatna, N. 2007. Pengaruh Penyimpanan Terhadap Viabilitas Benih Kedelai. *Paradigma*. 8 (1): 178-187.
- Dey, R.K.K.P., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M. 2004. Growth Promotion and Yield Enhancement of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) by Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Microbiological Research*. 159: 371-394.
- Fernando, W.G.D., Nakkeeran, S., Zhang, Y. 2005. Biosynthesis of Antibiotics by PGPR and Its Relation in Biocontrol of Plant Diseases in: Z.A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. *Springer*. 67-109.
- Khalimi, K. dan Wirya, G.N.A.S. 2009. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria untuk Biostimulants dan Bioprotectants. *Ecotrophic*. 4 (2): 131-135.
- Malinda, N., Suryanto, D., dan Nurtjahja, K. 2012. Penghambatan Serangan *Sclerotium rolfsii* Penyebab Rebah Kecambah pada Kedelai dengan Bakteri Kitinolitik. *Saintia Biologi*. 1 (1): 52-58.
- Mauch, F., Mauch-Mani, B., and Boller, T. 1988. Antifungal Hydrolases in Pea Tissue. II. Inhibition of Fungal Growth by Combinations of Chitinase and 3-1,3 glucanase . *Plant Physiology*. 88 (3): 936-942.

- Nowak-Thompson B., Gould, S.J., Kraus, J., and Loper, J.E. 1994. Production of 2,4-diacetylphloroglucinol by The Biocontrol Agent *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Canadian Journal of Microbiology*. 40 (12): 1064–1066.
- Parwati, G.A.K.C., Khalimi, K., dan Adiartayasa, W. 2014. Uji Efikasi Formulasi Rizobakteri *Pantoea agglomerans* GTA24 dalam Mengendalikan Penyakit Rebah Semai yang Disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii* pada Tanaman Kedelai. *Agroekoteknologi Tropika*. 3 (4): 218-229.
- Pastor, N.A., Reynoso, M.M., Tonelli, M.L., Masciarelli, O., Rosas, S.B. and Rovera, M. 2010. Potential biological control *Pseudomonas* sp. PCI2 against damping-off of tomato caused by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Plant Pathology*. 92: 737-745.
- Quintao, V., Suprpta, D.N., Temaja, I G.R.M., dan Khalimi, K. 2015. Potensi Rizobakteri yang Diisolasi dari Rizosfer Tanaman Padi sebagai Agen Hayati untuk Menghambat Pertumbuhan Jamur *Pyricularia oryzae*, Penyebab Penyakit Blas pada Tanaman Padi. *J. Agric. Sci. and Biotechnol*. 4(1): 18-29.
- Ramyasmruthi, S, Pallavi, O., Pallavi, S., Tilak, K., Srividya, S. 2012. Chitinolytic and Secondary Metabolite Producing *Pseudomonas fluorescens* isolated from solanaceae rhizosphere effective against Broad Spectrum Fungal Phytopathogens. *Asian J. plant Sci. and Res*. 2(1): 16-24.
- Reddy, P.P. 2014. Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection. India: Springer.
- Sarvani, B. and Reddy, R.S. 2013. In vitro Screening of Native *Bacillus* Isolates for Plant Growth Promoting Attributes. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*. 4 (2): 298-303.
- Solichatun, Khalimi, K., dan Sudarma, I.M. 2013. Isolasi dan Identifikasi Rizobakteri dari Rizosfer Kacang Tanah dan Uji Efektivitasnya dalam Mengendalikan Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Tomat. *Agroekoteknologi Tropika*. 2 (4): 260-270.
- Sugiyama, A. and Yazaki, K. 2012. Root Exudates of Legume Plants and Their Involvement in Interactions with Soil Microbes. *Springer*. 8: 27-48.