

Bidang Ilmu : Pertanian

**LAPORAN PENELITIAN
DANA PNBP FAKULTAS PERTANIAN UNAND TAHUN 2017**



**KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI
HAYATI *Ralsonia solanacearum* DAN PEMACU
PERTUMBUHAN TANAMAN CABAI**

TIM PENELITI

**Dr. Zurai Resti, SP.MP/ 0008017306
Dr. Ir Eri Sulyanti, MSc/ 0014086115
Ir. Reflin. MP/ 000115809
Fradilla Swandi/ BP 1410212098**

**Dibiayai oleh Dana PNBP Fakultas Pertanian UNAND Tahun Anggaran 2017
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian
Nomor 04/PL/SPK/PNP/Faperta-Unand 2017
Tanggal : 3 Juli 2017**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
NOVEMBER 2017**

Halaman Pengesahan

Judul Penelitian : **Konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali hayati *Ralstonia solanaceum* dan pemacu pertumbuhan tanaman cabai**

Bidang Ilmu : Pertanian

Ketua Peneliti :

Nama Lengkap : Dr. Zurai Resti, SP, MP.

a. NIDN : 0008017306

b. Jabatan Fungsional : Lektor

c. Program Studi : Proteksi tanaman

d. No HP : 081363454600

e. Alamat /E-mail : /zurairesti@gmail.com

Anggota Peneliti (1) :

a. Nama Lengkap : Dr. Ir. Eri Sulyanti, MSc

b. NIDN : 014086115

c. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Ir. Reflin, MP

b. NIDN : 000115809

c. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Lama Penelitian keseluruhan : Satu tahun

Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp. 12.500.000,-

Penelitian tahun ke- : 1 (pertama)

- Diusulkan ke DRPM : Rp.-

- Dana internal PT : Rp. 12.500.000,-

- Dana institusi lain : RP.-

Mengetahui,
 Dekan Fakultas Pertanian
 Universitas Andalas

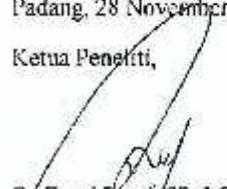
Dr. Ir. Muzir Busniah, MSi
 NIP. 196406081989031001



Padang, 28 November 2017

Ketua Peneliti,

Dr. Zurai Resti, SP, MP
 NIP. 197301081999032001



BAB I PENDAHULUAN

Serangan penyakit layu bakteri pada tanaman cabai yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* di Indonesia cenderung meningkat sejak tahun 2004–2011, yaitu dari 216.90 ha menjadi 504.05 ha (Direktorat Perlindungan Tanaman Hortikultura 2013). Pengendalian *R. solanacearum* tergolong sulit karena patogen tersebut mempunyai kisaran inang yang luas, dapat bertahan pada sisa jaringan inang, dapat bertahan di dalam tanah pada keadaan dorman meski tidak terdapat inang selama bertahun-tahun, mudah disebarkan oleh aliran air, dan dapat bergerak secara aktif saat terdapat lapisan air permukaan (CABI 2012). Teknik pengendalian yang direkomendasikan dan dinilai ramah lingkungan untuk penyakit ini ialah pengendalian hayati. Pengendalian hayati didasarkan pada pemanfaatan mikrob antagonis yang dapat bersifat langsung (kompetisi, predasi, dan antibiosis) atau secara tidak langsung melalui induksi ketahanan tanaman inang. Pemanfaatan mikrob endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman cabai terhadap beberapa jenis patogen mulai banyak dipelajari. Schulz dan Boyle (2006) menjelaskan bahwa secara umum kolonisasi endofit tanpa munculnya gejala penyakit pada tanaman terjadi karena adanya keseimbangan antagonis antara respons pertahanan tanaman dan tingkat virulensi endofit

Bakteri endofit dapat berperan sebagai agen biokontrol, menekan perkembangan patogen, beberapa jenis nematoda dan serangga melalui mekanisme langsung ataupun tidak langsung. Mekanisme langsung dengan cara menghasilkan senyawa antimikroba, (Wang *et al.*, 2010), siderophor dan enzim litik (Lugtenberg and Kamilova, 2009), berkompetisi dalam memperoleh zat besi, nutrisi dan ruang, serta parasitisme. Secara tidak langsung melalui mekanisme induksi ketahanan sistemik pada tanaman inang. Induksi ketahanan sistemik (*Induced Systemic Resistance* = ISR) adalah interaksi bakteri tertentu dengan akar yang memungkinkan tanaman tersebut mengembangkan ketahanan terhadap patogen potensial (van Loon, 2007) .

Sebagai pemacu pertumbuhan tanaman bakteri endofit dapat berperan sebagai pupuk hayati, rhizoremediators, phytostimulators dan melindungi tanaman dari cekaman abiotik dan stress (Induced Systemic Tolerance = induksi toleransi sistemik). Bakteri endofit membantu ketersediaan hara bagi inangnya melalui fiksasi nitrogen dan kemampuan melarutkan fosfat (Lugtenberg and Kamilova, 2009), menyediakan unsur Fe melalui siderophor, dan menghasilkan fitohormon seperti IAA, giberelin dan sitokinin (Miller and Berg, 2009).

Bakteri endofit sebagai agen biokontrol memiliki kelebihan dibandingkan agen biokontrol lainnya karena keberadaannya dalam jaringan tanaman, sehingga mampu bertahan terhadap tekanan biotik dan abiotik (Hallman *et al.*, 1997). Beberapa jenis bakteri endofit disamping sebagai agen biokontrol, juga sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, seperti *Burkholderia cepacia*, *P. fluorescens*, dan *Bacillus* sp (Kloepper *et al.*, 1999). *Burkholderia* sp. galur PsJN mampu memacu pertumbuhan tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) (Compant *et al.*, 2005). *Bacillus* sp dapat menginduksi ketahanan tanaman kapas terhadap penyakit rebah kecambah yang oleh *Rhizoctonia solani* melalui peningkatan enzim pertahanan tanaman (Rajendran. and Samiyappan, 2008). *Bacillus lentimorbus* Dutky and *Bacillus cereus* Frank. & Frank efektif mengendalikan penyakit karat pada daun kopi (Shiomi. *et al.*, 2006).

Konsorsium bakteri endofit dapat memberikan berbagai mekanisme pengendalian (kompetisi, antibiotik, induksi ketahanan dan lain-lain) secara bersamaan, sehingga akan lebih efektif dalam mengendalikan patogen (James dan Mathew, 2017). Selanjutnya menurut Kumar dan Jagadeesh (2016), Kombinasi mikroorganisme dalam konsorsium dapat mengendalikan berbagai patogen tanaman dengan lebih efektif. Bakteri memiliki lebih dari satu pengaruh menguntungkan terhadap inangnya, dengan mekanisme penekanan penyakit yang berbeda. Menggabungkan strain dengan mekanisme penekanan yang penyakit yang berbeda, dapat mengendalikan patogen dengan lebih efektif.

Hasil skrining bakteri endofit dari tanaman bawang merah terhadap penyakit hawar daun bakteri diperoleh 6 isolat yang potensial sebagai pengendali hayati dan pemacu pertumbuhan. Bakteri endofit tersebut adalah *B. cereus* P14, *B. cereus* Se07, *Bacillus* sp HI, *Bacillus* sp SJI, *Serratia marcescens* isolat ULG1E2 dan *Serratia marcescens* JB1E3. Memiliki efektifitas penekanan penyakit 28,32 – 64,30 %, dan efektifitas peningkatan hasil 50,65 – 214,85 %, bila diintroduksi secara tunggal (Resti, *et al.* 2013). Bagaimana kemampuannya bila diintroduksi sbagai konsorsium belum pernah diteliti. Kemungkinan konsorsium bakteri endofit ini akan memberikan hasil yang lebih efektif, karena tiap bakteri memiliki potensi yang cukup efektif dalam introduksi secara tunggal. Untuk itu perlu dilakukan kajian yang lebih mendalam mengenai konsorsium bakteri endofit ini sebagai pengendali hayati untuk patogen tanaman .

Berdasarkan hal tersebut maka akan dilakukan penelitian yang berjudul “Konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali hayati *R. solanacerum* dan pemacu pertumbuhan tanaman cabai” yang tujuannya adalah:

1. Mendapatkan bakteri endofit yang kompatibel sebagai kandidat konsorsium bakteri endofit
2. Mendapatkan konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali hayati *R. solanacearum* dan pemacu pertumbuhan tanaman cabai.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi di Indonesia. Cabai mempunyai kontribusi besar terutama di bidang industri pangan. Hal ini ditandai dengan semakin meningkatnya permintaan cabai merah. Menurut data dari Ditjenhorti (2014), luas lahan pertanaman cabai meningkat dari tahun 2009 ke 2013 (117.178 menjadi 124.110 ha). Oleh karena itu terjadi peningkatan produksi pada tahun tersebut. Oleh karena itu, budidaya tanaman cabai perlu dikembangkan.

Permasalahan yang sering muncul pada budidaya tanaman cabai adalah banyaknya serangan hama dan penyakit, baik saat pembibitan, masa vegetatif, generatif dan juga pascapanen. Penyakit yang sering menyerang tanaman cabai seperti virus kuning, penyakit mosaik, antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotricum* sp. yang menyerang saat tanaman mulai berbuah, busuk pangkal batang oleh *Phytophthora* sp. menyerang saat pembibitan, layu *Fusarium*, bercak daun *Cercospora*, dan layu bakteri oleh *Ralstonia solanacearum* (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian 2010). Menurut Rachmah (2015), penyakit yang menyebabkan kerusakan cukup serius pada tanaman cabai pada masa vegetatif dari tingkat paling tinggi yaitu berturut-turut penyakit layu bakteri, virus kuning dan bercak daun *Cercospora*. Oleh karena itu perlu adanya kajian lebih lanjut terhadap penyakit tersebut terutama layu bakteri.

Bakteri *R. solanacearum* termasuk tular tanah dan air. Penyebaran antar tanaman dapat terjadi apabila tanaman sehat berada di dekat perakaran tanaman sakit, penanaman tanaman di lahan yang terinfeksi, melalui peralatan pertanian dan aliran irigasi. Bakteri ini mampu bertahan dalam tanah hingga bertahun-tahun dan bertahan pada tanaman alternatif lainnya. Suhu (30-35 °C) 4 dan kelembaban tanah yang tinggi merupakan kondisi terbaik *R. solanacearum* untuk berkembang. Jumlah bakteri ini akan meningkat, laju infeksi patogen meningkat, perkembangan penyakit meningkat, sehingga jumlah bakteri yang keluar dari tanaman inang ke tanah meningkat. Hal ini akan mempercepat penyebaran penyakit (EPPO 2004). Patogen ini telah banyak

dilaporkan mempunyai inang yang banyak. Salah satunya dilaporkan oleh Nasrun *et al.* (2007) bahwa selain menyerang tanaman cabai, *R. solanacearum* juga menyerang tanaman pisang, jahe, kacang tanah, nilam dan tanaman *Solanaceae* lainnya, seperti tembakau, terong dan tomat. Bakteri *R. solanacearum* dapat dikelompokkan menjadi ras dan biovar. Pengelompokan ras didasarkan pada kisaran inang dan reaksi hipersensitif pada inang spesifik, sedangkan pengelompokan biovar didasarkan pada penggunaan disakarida (laktosa, sorbitol dan selobiosa) dan heksosa alkohol (manitol, sorbitol dan dulcitol). Menurut James *et al.* (2003), bakteri *R. solanacearum* yang menyerang tanaman cabai masuk ke dalam ras 1 dan 3 serta biovar 3 karena mampu menggunakan laktosa, maltosa, selobiosa, manitol, sorbitol dan dulcitol. Nasrun *et al.* (2007) menambahkan bahwa *R. solanacearum* yang menyerang nilam dapat juga menyerang tanaman cabai, namun tidak dapat menginfeksi tanaman pisang, jahe dan kacang tanah, sehingga dimasukkan ke dalam ras 1. Biovar 3 juga mampu menggunakan sumber karbon lain seperti dekstrosa dan trehalosa. Bakteri *R. solanacearum* tidak akan berpondar jika ditumbuhkan pada media King's B, dapat tumbuh pada NaCl 0-2%, pH 4-8,5 dengan suhu 13-37 °C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 41 °C. Apabila ditumbuhkan pada media semi selektif (tetrazolium cholride) akan membentuk koloni yang berlendir berwarna putih dengan warna merah muda di tengah (virulen), sedangkan avirulen koloninya berwarna merah tua (James *et al.* 2003). Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian dari Chandrashekara *et al.* (2012), bahwa koloni berwarna putih kusam dengan warna merah muda di tengah dan tepi koloni bakteri ini bentuknya tidak teratur. Bakteri ini termasuk Gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora. Uji KOH yang dilakukan oleh Chaudhry dan Rashid (2011) menghasilkan adanya lendir pada loop, yang menunjukkan bakteri tersebut termasuk gram negatif (dinding sel yang tipis), tidak memproduksi levan, bersifat aerob, tidak memproduksi ammonia dari arginin.

Gejala Penyakit Layu Bakteri Gejala penyakit layu bakteri biasanya terlihat pada siang hari, yaitu daun muda layu dan terlihat merunduk. Jika kondisi mendukung, seluruh bagian tanaman akan layu. Sebaliknya jika kondisi kurang mendukung, perkembangan penyakit kurang cepat, pertumbuhan terhambat, tanaman

memproduksi akar adventif pada batang. Jaringan vaskular pada batang terlihat cokelat, jika batang dipotong terdapat aliran massa bakteri (ooze) berwarna putih kekuningan (EPPO, 2004). Adanya ooze ini membedakan gejala layu bakteri dari layu *Fusarium*. Layu *Fusarium* ditandai dengan memucatnya warna tulang daun, tangkai merunduk dan layu dimulai dari daun bagian bawah selanjutnya anak tulang daun menguning (Nurzannah et al. 2014), sedangkan layu bakteri diawali dengan layunya daun bagian pucuk, diikuti oleh daun bagian bawah (Nasrun et al. 2007). Gejala dengan 5 intensitas penyakit lebih dari 50%, tanaman akan mati dalam waktu 7-25 hari. Jika akar dan batang dipotong, akan terlihat adanya nekrotik pada jaringan pembuluh, yaitu adanya warna cokelat dan hitam sepanjang jaringan kayu dan kambium. Selain itu, terdapat aliran massa bakteri yang keluar dari jaringan pembuluh kayu jika batang direndam dalam air (Nasrun et al. 2007). Menurut Champoiseau dan Jones (2009), bakteri *R. solanacearum* menginfeksi tanaman terutama dari bagian akar yang terluka, baik dikarenakan adanya pertumbuhan akar lateral atau karena luka oleh organisme lain. Selain itu juga dapat masuk ke tanaman melalui batang yang luka karena serangga atau luka mekanis. Setelah menginfeksi akar dan batang, kemudian mengolonisasi jaringan vaskular melalui xilem. Hal ini didukung oleh pernyataan Zhu et al. (2010), bahwa setelah menginfeksi tanaman melalui luka, bakteri ini kemudian mengolonisasi pembuluh xilem dan menyebar dengan cepat hingga batang tanaman sehingga menyebabkan layu. Perkembangan layu pada tanaman juga bergantung pada tipe inang dan ras patogen (Lemessa dan Zeller 2007).

Gejala layu yang terjadi disebabkan adanya produk eksopolisakarida polisakarida (EPS) berlebihan dalam pembuluh vaskular. Kolonisasi dan kelayuan tanaman inang ini dipengaruhi oleh gen yang dimiliki *R. solanacearum*. Gen tersebut adalah gen yang pengode enzim litik, EPS, gen *hrp* (gen hipersensitif patogenisitas), gen pengode efektor yang diinjeksi oleh T3SS dan gen pengode lainnya (Alvarez et al. 2010). Patogen tetap mempertahankan keagresifannya pada kepadatan terendah 1.13×10^5 cfu/ml setelah memasuki fase stasioner Zhu et al. (2010). Patogenisitas *R. solanacearum* Menurut EPPO (2004), *R. solanacearum* mempunyai beragam gen

yang terlibat dalam kolonisasi dan kelayuan tanaman inang, seperti enzim hidrolitik dan EPS, gen *hrp*, lipopolisakarida dan lectin. Enzim hidrolitik merupakan enzim yang digunakan untuk mendegradasi atau menghidrolisis dinding sel tanaman yang sebagai tahap awal proses infeksi untuk mendapatkan nutrisi. EPS diketahui berperan dalam merusak pembuluh tanaman karena adanya tekanan hidrostatis, dan juga membantu dalam kolonisasi patogen pada batang tanaman. Huang dan Allen (2000) juga menyatakan bahwa virulensi *R. solanacearum* dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ekstrapolisakarida (EPS I), endoglukanase (EG) dan poligalakturonase (PG). Kolonisasi bakteri pada akar batang tomat memerlukan senyawa ini. Poussier et al. (2003) menyatakan bahwa gen *phcA* merupakan gen pengatur virulensi, yang ditemukan pada tanaman yang layu atau terinfeksi, yang mengatur kejadian konversi fenotipik terjadi pada tanaman. Pendekatan biokimia, genetika dan molekuler menyatakan bakteri mempunyai faktor virulensi seperti EPS I yang mengsekresi eksoenzim untuk mendegradasi dinding sel tanaman, poligalakturonase (PG) dan endoglukanase (EG), mesin sekresi tipe III (*hrp*) yang memungkinkan sekresi dan injeksi protein efektor ke dalam tanaman. Semua faktor virulensi dikendalikan oleh gen *phcA* yaitu protein regulator yang berperan dalam sistem Phc. *phcA* mengaktifkan ekspresi gen untuk mengode produksi EPS I, EG, beberapa eksoprotein lain dan merepresi ekspresi gen lain seperti motilitas, produksi PG, siderofor dan *hrp*.

6 Pengendalian *R. solanacearum*

Pengendalian bakteri *R. solanacearum* sangat kompleks sehingga dibutuhkan pengendalian yang tepat, cepat, efisien, baik secara kimia maupun biologi. Pengendalian layu bakteri menggunakan agens hayati sudah banyak dilakukan, diantaranya: mengendalikan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat di rumah kaca menggunakan rhizobacteria yaitu dengan strain *Serratia* sp.(J2), *Pseudomonas fluorescens* (J3) dan *Bacillus* sp. (BB11). Semua bakteri tersebut mampu mengontrol penyakit layu bakteri dan dapat meningkatkan hasil tomat. Kuarabachew *et al.* (2007) menggunakan *P. fluorescens* untuk mengontrol *R. solanacearum*. *P. fluorescens* diisolasi dari kentang berbeda dari beberapa daerah kemudian ditumbuhkan pada media King's B. Isolat yang menunjukkan antibiosis kemudian diuji di rumah kaca.

Isolat Pf S2, Pf Wt3 dan PfW1 secara signifikan dapat mengurangi 59,83% penyakit layu bila dibandingkan dengan kontrol. Selain itu, pertumbuhan tanaman kentang meningkat seperti tinggi tanaman dan berat kering. Chakravarty dan Kalita (2011) juga melakukan penelitian menggunakan *P. fluorescens* untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada terong. Bahan organik yang berbeda dievaluasi sebagai substrat pembawa *P. fluorescens*. Vermikompos dan pupuk kandang dapat mendukung pertumbuhan bakteri antagonis ini. Karboksil metil selulosa dan substrat pembawa diuji di pot dan lapangan. Hasilnya formulasi CVPf dapat menekan penyakit layu pada terong dan meningkatkan hasil panen dibandingkan yang lain.

Pengendalian hayati merupakan metoda pengendalian hama dan penyakit tanaman yang tidak hanya menekankan pada penurunan kepadatan populasi inokulum, tetapi juga melalui sistim pertahanan tanaman, atau penggunaan organisme antagonis untuk menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen. Pengendalian hayati juga menekankan pada pengelolaan habitat mikroorganisme antagonis, melalui penambahan bahan organik, pergiliran tanaman, dan penguburan sisa tanaman yang sakit. Mekanisme pengendalian hayati yang bersifat langsung meliputi antibiosis, kompetisi, dan parasitisme. Mekanisme tidak langsung meliputi induksi ketahanan tanaman inang (Habazar dan Yaherwandi, 2006).

Peran bakteri endofit sebagai agen pengendali hayati telah banyak dilaporkan (Berg dan Hallmann, 2006), mengurangi severitas penyakit (Kloepper *et al.*, 2004), menginduksi mekanisme pertahanan tanaman (Bakker *et al.*, 2007), menghasilkan senyawa anti herbivory (Sullivan *et al.*, 2007). Mekanisme biokontrol secara langsung meliputi antibiosis, kompetisi untuk nutrisi dan niche, dan secara tidak langsung melalui induksi ketahanan. Bakteri endofit juga dapat pemacu pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Bacteria* = PGPB) melalui kemampuan menghasilkan pupuk hayati, rhizoremediators, phytostimulators dan pengendali stress (Lugtenberg dan Kamilova, 2009).

Secara langsung bakteri endofit dapat menghambat perkembangan patogen melalui kemampuannya menghasilkan antibiotik, kompetisi, menghasilkan

siderophor, dan sianida (HCN), agen biokontrol seperti *Pseudomonas* menghasilkan HCN, pyoleutorin, pyrrolnitrin, 2,4 -diacetylphloroglucinol dan phenazine (Lugtenberg dan Kamilova , 2009). Peran masing-masing antibiotik yang dihasilkan oleh agen biokontrol dalam mengendalikan patogen bervariasi pada spesies yang berbeda . Pengendalian *Sclerotinia sclerotiorum* oleh *P.chlororaphis* PA23 terutama disebabkan antibiotik yang dihasilkannya yaitu phenazine - 1 -carboxylic acid , 2 - hydroxyphenazine. Sedangkan, phenazine - 1 - karboksamida yang dihasilkan *P. chlororaphis* mengendalikan busuk buah dan akar tomat oleh *Fusarium oxysporum f. sp . radicis – lycopersici* (Selin *et al.*, .2010). Beberapa senyawa biokimia lainnya yang memiliki aktivitas menghambat patogen adalah asam glukonat , 2 - heksil - 5 - propil resorsinol , munumbicin , dan beberapa VOC (2,3- butanadiol) yang diproduksi olehagen biokontrol (Backman dan Sikora , 2008) .

Bakteri endofit dapat pemacu pertumbuhan tanaman melalui perannya sebagai pupuk hayati, rhizoremediators, phytostimulators dan pengendali stres. Sabagai penghasil pupuk hayati, menyediakan nitrogen bagi tanaman melalui fiksasi nitrogen atmosfer, dan kemampuannya sebagai pelarut fosfat. (Lugtenberg dan Kamilova, 2009). Beberapa bakteri yang memfiksasi nitrogen adalah, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Derrxia*, *Enterobacter*, *Gluconoacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia* dan *Zoogloea*. Bakteri *Azotobacter paspali* menghasilkan 20 Kg N per hektar (Baldani dan Baldani, 2005; Reinhold - Hurek dan Hurek, 2011) . Penelitian di Brazil menunjukkan, *Rhizobium trifolii* dan *Burkholderia* menyumbangkan 60-80 % nitrogen pada tebu varietas, CB45 - 3 , SP70 - 1143 dan Krakatau, sehingga mengurangi penggunaan pupuk kimia (Boddey, 1995) .

Peran bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman juga karena kemampuannya menghasilkan fitohormon, yaitu auksin, sitokinin, dan giberelin. Beberapa bakteri endofit menghasilkan auksin terutama IAA (Indole Acetic Acid) yang meningkatkan pertumbuhan akar lateral, sehingga meningkatkan serapan hara oleh tanaman (Spaepen *et al.*, 2007). Selain IAA, beberapa bakteri endofit memiliki

kemampuan untuk menghasilkan fitohormon lain seperti sitokinin dan giberelin. Sitokinin yang diproduksi oleh *Bacillus megatarium* UMCV1, meningkatkan biomassa *Arabidopsis thaliana*. (López - Bucio *et al.*, 2007) . Menariknya, beberapa isolat mampu menghasilkan lebih dari satu fitohormon. Beberapa bakteri yaitu *B. subtilis* , *B. amyloliquifaciens* dan *E. cloacae* meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui produksi senyawa organik volatil (VOC) seperti acetoin dan 2,3-butanadiol (Zhang *et al.*, 2008)

Efektivitas bakteri endofit sebagai pengendalian hayati tergantung pada spesifikasi inang, jumlah populasi, pola kolonisasi inang, kemampuan bergerak dalam jaringan inang, dan kemampuan menginduksi ketahanan secara sistemik (Backman *et al.*, 1997),. Contohnya *Pseudomonas* sp strain PsJN, bakteri endofit dari bawang, menekan serangan *Botrytis cinerea* Pers. dan memacu pertumbuhan anggur, menunjukkan bahwa inang yang berbeda juga dapat dikolonisasinya (Barka, *et al.*, 2002). Kolonisasi pada banyak inang juga telah dilaporkan pada species bakteri endofit dan tanaman lain. *Pseudomonas putida* 89B-27 dan *Serratia marcescens* 90-166 menurunkan serangan Cucumber mosaic virus pada tomat dan ketimun (Raupach, *et al.*, 1996), juga menurunkan serangan antraknos dan layu *Fusarium* pada ketimun (Liu, *et al.*, 1995). Bakteri endofit *Bacillus* spp yang berasal dari berbagai jenis sayuran mampu mengurangi severitas penyakit busuk polong pada kakao melalui mekanisme induksi ketahanan sistemik (Melnick, *et al.*, 2008).

Konsorsium bakteri endofit merupakan kumpulan beberapa bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman. Konsorsim terdiri atas dua atau lebih jenis bakteri yang berbeda yang hidup secara simbiotik. Konsorsium mikroba memiliki berbagai keunggulan dibandingkan spesies tunggal, seperti, efisiensi, ketahanan, dan modularitas. Bakteri yang memiliki lebih dari satu pengaruh yang menguntungkan bagi tanaman, sangat diminati dalam biokontrol. Menggabungkan galur dengan mekanisme penekan penyakit yang berbeda, dapat mengurangi dampak kondisi biotik dan abiotik yang berfluktuasi.. Selain itu, kombinasi semacam itu bisa efektif mengendalikan berbagai jenis patogen tanaman (Kumar dan Jagadeesh, 2016)..

Selanjutnya menurut Kumar dan Jagadeesh (2016), keuntungan konsorsium mikroba sebagai agen biokontrol adalah; bersifat spesifik terhadap inangnya. Memiliki kemampuan untuk berkembangbiak pada sel target. Tidak menimbulkan residu yang bersifat racun, tidak masalah dengan penggunaan proteksi silang. Selain itu teknik pengaplikasiannya lebih sederhana dan pengendaliannya bersifat permanen. Konsorsium juga tidak menimbulkan pencemaran dan lebih ramah lingkungan. Metoda pengendalian dengan konsorsium cocok bila dikombinasikan dengan pengendalian lainnya dalam PHT.

Keefektifan konsorsium dibandingkan dengan isolat tunggal bakteri telah dilaporkan pada berbagai bidang. Molina *et al.* (2009) melaporkan konsorsium bakteri memiliki keefektifan yang tinggi untuk meremidiasi tanah yang terkontaminasi oleh minyak. Pada bidang perkebunan Halimah *et al.* (2015) melaporkan konsorsium bakteri endofit dapat menekan tingkat infeksi nematode *Pratylenchus coffeae*. Selain menekan tingkat infeksi *P. coffeae* konsorsium bakteri endofit juga dilaporkan meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi. Pertumbuhan tajuk dan panjang akar tanaman kopi yang diberi perlakuan konsorsium bakteri endofit mengalami peningkatan. Munif *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa konsorsium bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kehutanan efektif meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat. Tinggi tanaman, berat segar, dan panjang akar tanaman tomat yang diberi perlakuan bakteri endofit mengalami peningkatan sampai dengan 37%.

Resti (2013) telah memsrining bakteri endofit dari perakaran bawang merah sehat dan memperoleh 6 bakteri endofit yang potensial sebagai pengendali hayati penyakit hawar daun bakteri dan pemacu pertumbuhan dan hasil bawang merah. Enam isolat tersebut memiliki keunggulan dan karakter yang berbeda bila diaplikasikan secara tunggal. Untuk itu dalam penelitian ini akandikaji konsorsium dari bakteri endofit tersebut dalam mengendalikan penyakit layu dan meningkatkan pertumbuhan tanaman cabai.

BAB III. METODA PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan dan di Rumah kaca kawat Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Penelitian mulai bulan Agustus sampai November 2017.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Biakan bakteri endofit, biakan bakteri patogen *R. solanacearum*, bibit cabai varietas Laris, medium *Nutrien Agar*, *Nutrien Broth*, Medium *TZC*, Aquades, Alkohol, *Natrium Hipoklorit*, Kertas saring, *aluminium foil*, plastik *wrap*, plastic tahan panas, kertas tissue, tanah steril, pupuk kandang, pupuk NPK Mutiara, ajir, *polybag*,

Alat yang digunakan: cawan petri, tabung reaksi, erlemeyer 125 ml, erlemeyer 250 ml, botol kultur 250 ml, botol kultur 100 ml, sentrifus, *rotary shaker*, *Laminar air flow cabinet*, *Autoclave*, Oven, *magnetic stirrer*, kompor listrik, dandang, jarum suntuk, pipet mikro, pipet tetes, rak tabung reaksi, tabung sentrifus, *microtube*, cangkul, sekop, alat tulis dan alat dokumentasi.

3.3. Metoda Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap:

1. Percobaan tahap pertama adalah pengujian kesesuaian (kompatibilitas) antar galur bakteri endofit yang berbeda, dan pengujian hemolisis menggunakan metoda deskriptif.
2. Percobaan tahap dua merupakan pengujian kemampuan konsorsium bakteri endofit terhadap patogen *R.solanacearum* penyebab layu pada cabai., menggunakan metoda eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). 8 perlakuan dan 10 ulangan untuk fase persemaian. 9 perlakuan dan 4 ulangan di fase penanaman. Perlakuan adalah konsorsium bakteri endofit yaitu:

A : *S. marcescens* isolat ULG1E2 + *S.marcescen* isolat ULG1E4

B : *S. marcescen* isolat ULG1E2 + *S.marcescens* isolat JB1E3

C ; *S.marcescen* isolat ULG1E4 + *S.marcescens* isolat JB1E3

D ; *S. marcescens* isolat ULG1E2 + *S.marcescen* isolat ULG1E4 +
S.marcescens
 isolat JB1E3

E ; *Bacillus* sp SJI + *Bacillus* sp HI

F ; *Bacillus* sp SJI + *S.marcescens* isolat JB1E3

G : *Bacillus* sp SJI + *Bacillus* sp HI + *S.marcescens* isolat JB1E3

Kontrol - (tanpa Konsorsium + *R. solanacearum*)

Inokulasi bakteri patogen *R. solanacearum* dilakukan pada saat tanaman berumur 35 hari setelah tanam (Hst)

3.4. . Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Uji kompatibilitas antara galur bakteri endofit yang berbeda

Peremajaan bakteri endofit

Bakteri endofit dari spesies dan galur yang berbeda koleksi Dr. Zurai Resti, diremajakan dengan menggunakan metode gores. Bakteri endofit dari genus *Bacillus* diremajakan pada medium TSA dan genus *Serratia* pada medium NA. Bakteri digores pada medium dan diinkubasi selama 48 jam, selanjutnya dilakukan pengujian Gram dan HR untuk konfirmasi koleksi bakteri.

Reaksi Gram

Biakan murni isolat bakteri endofit dibiakkan pada medium NA, satu koloni biakan bakteri yang berumur 2 x 24 jam ditempatkan pada kaca objek dan dicampurkan dengan satu tetes larutan KOH 3 %. Bila hasil campuran tersebut kental menunjukkan bahwa isolat tersebut bersifat Gram negatif, sebaliknya bila encer berarti Gram positif (Schaad *et al.*, 2001).

Reaksi Hipersensitif

Suspensi bakteri endofit (10^8 sel/ml) diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau menggunakan jarum suntik. Bagian daun yang diinfiltrasi diselubungi

dengan plastik bening dan diinkubasi selama 2x24 jam. Bila terjadi nekrotik dalam waktu 2x24 jam artinya bakteri bersifat HR positif (Klemen *et al*, 1990). Daun tembakau yang diinfiltrasi dengan isolat Xaa menunjukkan reaksi hipersensitif berupa gejala nekrotik

Aktivitas Hemolisis

Pengujian dilakukan mengikuti metode Beutin (1991). Bakteri endofit yang tidak menimbulkan gejala nekrosis pada pengujian hipersensitivitas diuji kemampuannya dalam menghidrolisis butir darah merah. Biakan bakteri berumur 48 jam ditumbuhkan pada media *Blood Agar*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati zona hemolisis yang terbentuk

Uji Kompatibilitas

Uji kompatibilitas bakteri endofit menggunakan *cross streak method* (metoda goresan silang). Dua bakteri endofit yang berbeda digores secara vertikal dan horizontal pada petri steril berisi medium TSA atau NA. Petrii diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruangan, dan amati terjadinya lisis pada perpotongan goresan vertikal dan horizontal (James and Mathew, 2017).

3.4.2. Kemampuan antibiosis Konsorsium bakteri endofit terhadap secara *R. solanacearum* secara *in vitro*

Konsorsium Bakteri endofit dibiakkan dalam medium *Nutrient Broth* (NB) diinkubasi pada shaker selama 2 x 24 jam, kecepatan 200 rpm pada suhu ruang. Biakan bakteri tersebut disentrifus dengan kecepatan 10.000 g selama 10 menit. Supernatan dipisahkan dari pellet. Kertas saring steril diameter 0,5 cm direndamkan dalam supernatan selama 5 menit, kemudian dikering anginkan. Kertas saring disusun pada medium *Nutrien Agar* (NA) yang telah diinokulasi bakteri patogen *Ralfsonia solanacearum* dan diinkubasi selama 2 x 24 jam (Nasrun, 2005). Kemampuan menghasilkan antibiotik ditandai dengan adanya zona hambatan disekeliling kertas cakram.

3.4.3. Kemampuan Konsorsium bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman cabai

1. Persiapan benih dan media tanam

Media untuk persemaian dan media taman merupakan campuran tanah dan pupuk kandang (2:1 v/v) yang disterilkan. Sterilisasi dilakukan dengan memanaskan campuran tanah dan pupuk kandang pada suhu 100° C selama 1 jam, kemudian didinginkan. Media yang telah steril selanjutnya ditempatkan pada *seed tray* untuk persemaian. Sedangkan untuk penanaman tanah ditempatkan dalam polybag ukuran 5 Kg dan disusun dalam rumah kawat. Benih cabai yang digunakan dari varietas Laris.

2. Persiapan konsorsium bakteri endofit

Bakteri endofit yang kompatibel (hasil percobaan tahap 1), dibiakkan dalam medium LB. Konsorsium dibuat dengan mengkombinasikan semua kemungkinan kombinasi yang kompatibel dan dibiakkan dalam medium LB dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48 jam, kecepatan 150 rpm pada suhu kamar. Konsorsium disiapkan dengan populasi 10⁸ cfu/ml.

3. Introduksi konsorsium bakteri endofit

Benih cabai disterilisasi dengan NaOCl 2% terlebih dahulu, kemudian dibilas dengan aquades steril. Selanjutnya benih direndam dalam 50 ml suspensi konsorsium bakteri endofit selama 24 jam, dikeringanginkan, dan ditanam pada *seed tray*. Benih dipelihara sampai berumur 21 hari, selanjutnya dipindahkan ke polybag. Sebelum ditanam akar bibit cabai direndam dalam 100 ml suspensi konsorsium bakteri endofit selama 15 menit, selanjutnya ditanam. Untuk perlakuan kontrol bibit direndam dalam air steril.

4. Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi penyiraman, pemupukan, penyiangan gulma dan pengendalian hama secara mekanis.

3.5. Pengamatan

1. Uji kompatibilitas

Mengamati adanya zona hambat yang terbentuk diantara persilangan goresan bakteri endofit dari galur yang berbeda. Bila terdapat zona hambat artinya antara bakteri tersebut tidak kompatibel dan tidak digunakan dalam kombinasi konsorsium bakteri endofit.

2. Aktivitas Hemolisis

. Bakteri endofit yang menghasilkan toksin α -hemolisis akan membentuk zona gelap, toksin β -hemolisis akan membentuk zona terang, dan toksin γ -hemolisis akan membentuk zona terang diikuti agak gelap di sekitar koloni. Bila bakteri menunjukkan salah satu dari ketiga aktivitas hemolisis tersebut maka bakteri tersebut tidak digunakan pada pengujian selanjutnya karena berbahaya bagi manusia. Bakteri endofit yang tidak menunjukkan zona hemolisis/ perubahan warna media (α -hemolisis) digunakan pada pengujian selanjutnya.

3. Kemampuan antibiosis Konsorsium bakteri endofit terhadap *R. solanacearum* secara *in vitro*

Kemampuan menghasilkan antibiotik ditandai dengan adanya zona hambatan disekeliling kertas cakram. Untuk menentukan perbedaan kemampuan menghasilkan antibiotik dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terbentuk.

4. Daya muncul lapang (%)

Daya muncul lapang diamati pada saat benih baru muncul, dan dihitung jumlah yang muncul dibandingkan dengan total benih yang ditanam. Persentase daya muncul lapang dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya muncul lapang} = \frac{\text{Jumlah benih yg tumbuh}}{\text{Jumlah benih yang disemai}} \times 100\%$$

5. Pertumbuhan bibit

Pengamatan terhadap tinggi bibit, jumlah daun, panjang akar, berat basah dan berat kering bibit. Tinggi dan jumlah daun diamati mulai dari minggu pertama setelah semai sampai umur 30 hari dengan interval waktu 7 hari. Panjang akar, berat basah dan berat kering bibit diamati pada saat bibit berumur 30 hari

6. Pertumbuhan tanaman

Pengamatan pertumbuhan berupa tinggi tanaman, dan jumlah daun yang diamati setiap minggu mulai dari seminggu setelah tanam sampai pertumbuhan konstan

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

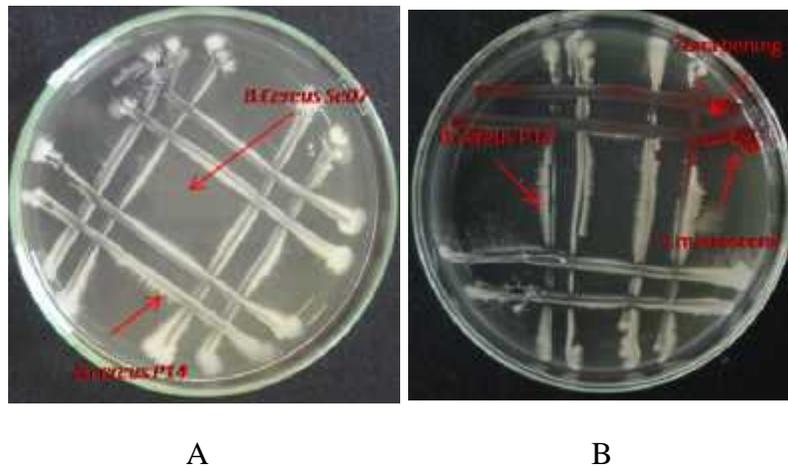
4.1.1. Kompatibilitas antara galur bakteri endofit yang berbeda

Pengujian kesesuaian (kompatibilita) antar galur bakteri endofit yang berbeda menunjukkan variasi, tidak semua bakteri endofit berkesesuaian (kompatibel) dengan bakteri endofit lainnya. Hasil pengujian kompatibilitas bakteri endofit ditampilkan dalam tabel 1 dan gambar 1 dibawah ini. Kelompok bakteri endofit *Bacillus* berkesesuaian (kompatibel) dengan semua galur bakteri dari genus *Bacillus* tetapi tidak berkesesuaian (tidak kompatibel) dengan genus *Serratia*. Sedangkan semua genus *Serratia* berkesesuaian (kompatibel) dengan genus *Serratia* yang ada.. Pada gambar 1A bakteri endofit *B.cereus* P14 dan *B.cereus* Se07 menunjukkan kesesuaian (kompatibel) karena tidak terdapat penghambatan pertumbuhan (zona beniang) antara pertemuan kedua species tersebut, sehingga dapat digunakan sebagai kultur campuran (konsorsium) bakteri endofit. Sedangkan pada gambar 1 B terdapat penghambatan pertumbuhan (zona bening) antara pertemuan species bakteri endofit *S.marcescen* JB1E3 dengan *B.cereus* P.14, artinya kedua species ini tidak berkesesuaian (kompatibel) satu sama lainnya, dan tidak dapat digunakan sebagai konsorsium bakteri endofit. Berdasarkan kesesuaian antar galur bakteri endofit tersebut diperoleh tujuh kombinasi konsorsium bakteri endofit yang akan diuji selanjutnya.

Tabel 1 : Kesesuaian (kompatibelitas) antara bakteri endofit dengan galur yang berbeda

	<i>B.cereus</i> P14	<i>B.cereus</i> Se07	<i>Bacillus</i> sp HI	<i>Bacillus</i> sp SJI	<i>S.marcescen</i> ULG1E4	<i>S.marcescen</i> ULG1 E2	<i>S.marcescens</i> JB1E3
<i>B.cereus</i> P14	+	+	+	+	-	-	-
<i>B.cereus</i> Se07	+	+	+	+	-	-	+
<i>Bacillus</i> sp HI	+	+	+	+	-	-	-
<i>Bacillus</i> sp SJI	+	+	+	+	-	-	+
<i>S.marcescens</i> ULG1E4	-	-	-	-	+	+	+
<i>S.marcescens</i> ULG1E2	-	-	-	-	+	+	+
<i>S.marcescens</i> JB1E3	-	+	-	-	+	+	+

Ket : + = Kompatibel, - = Tidak kompatibel



Gambar 1 : Kesesuaian (Kompatibilitas) antara bakteri endofit ; A. Kompatibel, B. Tidsk kompatibel

4.1.2. Aktivitas Hemolisis

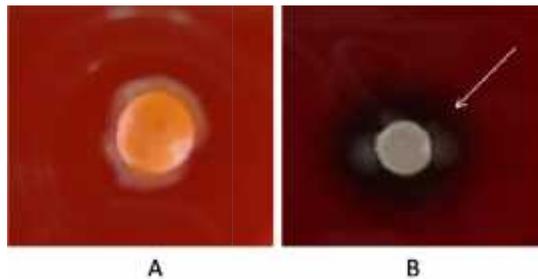
Pengujian aktivitas hemolisis dilakukan untuk memperoleh konsorsium bakteri endofit yang aman dan tidak bersifat patogen pada hewan dan manusia. Aktivitas hemolisis ditampilkan pada tabel 2 dan gambar 2 berikut ini. Pengujian terhadap 16 isolat bakteri endofit menghasilkan sebagian besar aktivitas hemolisisnya positif (patogen) dan hanya 6 isolat yang uji hemolisisnya negatif, artinya tidak patogen pada manusia dan hewan, dan aman untuk digunakan sebagai konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman. Isolat tersebut adalah dari galur *S.marcescen* (isolat ULG1E2, ULG1E4 dan JB1E3), *Bacillus* sp HI (PU2E2), dan *Bacillus* sp SJI (SN1E4). Kombinasi galur tersebut juga kompatibel sesamanya sehingga bisa digunakan sebagai konsorsium bakteri endofit.

Bakteri endofit yang digunakan sebagai agens pengendali hayati harus merupakan mikroorganisme yang aman bagi tumbuhan maupun hewan dan manusia (bersifat non patogenik). Bakteri patogen memiliki kemampuan untuk menghasilkan zat yang menyebabkan kerusakan pada sel tumbuhan maupun sel darah merah pada hewan dan manusia. Pengujian hemolisis pada agar darah menghasilkan perubahan warna atau zona bening disekitar koloni bakteri endofit menunjukkan potensi bakteri endofit tersebut sebagai patogen pada hewan dan manusia

Tabel 2 : Aktivitas hemolisis bakteri endofit

No	Kode isolat bakteri	Hasil uji hemolisis	Keterangan
1	ULG ₁ E ₂	-	Tidak patogen
2	SN ₂ E	+	Patogen
3	ULG ₁ E ₄	-	Tidak patogen
4	PU ₁ E ₂	+	Patogen
5	TP ₄ E _{1.2}	+	Patogen
6	SN ₁ E ₂	-	Tidak patogen
7	PU ₂ E ₂	-	Tidak patogen
8	TP ₁ E _{1.2}	+	Patogen
9	SN ₁ E ₄	-	Tidak patogen
10	LKE ₂	+	Patogen
11	JB ₁ E ₃	-	Tidak patogen
12	TL ₂ E ₂	+	Patogen
13	BD _{4.2} E ₁	+	Patogen
14	TL ₁ E ₁	+	Patogen
15	TP ₁ E _{2.2.}	+	Patogen
16	SN ₂ E ₂	+	Patogen

Keterangan: + = Patogen, - = tidak patogen



Gambar 2: Aktivitas hemolisis bakteri endofit; A. Hemolisis - = Tidak patogen, B. Hemolisis + = patogen

4.1.3. Uji in vitro kemampuan antibiosis Konsorsium bakteri endofit terhadap *R. solanacearum*

Uji in vitro kemampuan konsorsium bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *R. solanacearum* ditampilkan pada tabel 3 dan gambar 3 berikut ini. Kemampuan konsorsium bakteri endofit menghasilkan antibiosis dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen ditandai dengan adanya zona hambatan disekeliling kertas cakram yang direndam dengan supernatant konsorsium bakteri endofit. Zone hambatan berupa zone bening terbentuk di sekeliling koloni

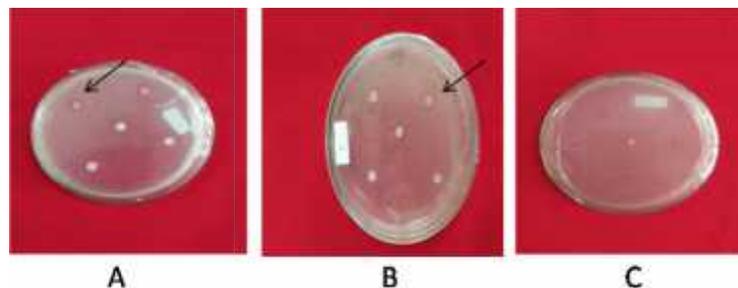
konsorsium bakteri endofit. Daerah tersebut tidak ditumbuhi oleh patogen karena adanya senyawa antibiotik, yang bersifat menghambat atau membunuh patogen, yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri endofit.

Semua konsorsium bakteri endofit dapat menghambat perkembangan bakteri patogenn *R.solanacearum* dibandingkan kontrol, dengan diameter hambatan yang bervariasi, namun tidak berbeda nyata secara statistik menurut DNMRT 5%.. Perlakuan F (*Bacillus* sp SJI + *S.marcescens* isolat JB1E3) dan G (*Bacillus* sp SJI + *Bacillus* sp HI + *S.marcescens* isolat JB1E3) merupakan konsorsium bakteri endofit yang terbaik dalam menghambat perkembangan patogen dengan diameter zona hambat tertinggi (9.25 mm).

Tabel 3 : Kemampuan antibiosis konsorsium bakteri endofit terhadap bakteri patogen *R. solanacearum*

No	Perlakuan	Zona Hambat (mm)
1	A	9 a
2	B	6 a
3	C	6.25 a
4	D	6.5 a
5	E	8 a
6	F	9.25 a
7	G	9.25 a
8	Kontrol	0 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT taraf nyata 5 %



Gambar 3 : Uji kemampuan antibiosis konsorsium bakteri endofit terhadap bakteri patogen *R. solanacearum* A. Perlakuan konsorsium A, B. Perlakuan konsorsium F, C. Perlakuan konsorsium G

4.1.4. Kemampuan Konsorsium bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman cabai

1. Daya Muncul Lapang (%)

Daya muncul lapang bibit cabai yang diintroduksi dengan konsorsium bakteri endofit (tabel 4) tidak berbeda nyata menurut DNMRT taraf nyata 5%. Daya muncul lapang tanaman cabai yang diintroduksi konsorsium bakteri endofit antara 80 % - 95 %. Daya muncul lapang tertinggi pada perlakuan B (*S. marcescens* isolat ULG1E2 + *S.marcescens* isolat JB1E3) yaitu 95 %.

Tabel 4 : Daya muncul lapang bibit cabai yang diintroduksi dengan konsorsium bakteri endofit (21 hss = hari setelah semai)

Perlakuan	Daya Muncul Lapang (%)
A	80 a
B	95 a
C	85 a
D	90 a
E	75 a
F	75 a
G	85 a
Kontrol	85 a

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT taraf nyata 5 %

2. Pertumbuhan bibit cabai

Introduksi konsorsium bakteri endofit berpengaruh nyata menurut DNMRT taraf nyata 5% terhadap tinggi dan jumlah daun bibit cabai (tabel 5). Perlakuan dengan tinggi bibit terbaik adalah perlakuan C (*S.marcescens* isolat ULG1E4 + *S.marcescens* isolat JB1E3) dan perlakuan dengan jumlah daun bibit terbaik adalah C (*S.marcescens* isolat ULG1E4 + *S.marcescens* isolat JB1E3) dan D (*S. marcescens* isolat ULG1E2 + *S.marcescens* isolat ULG1E4 + *S.marcescens* isolat JB1E3).

Untuk panjang akar, berat basah dan berat kering bibit berbeda nyata menurut DNMRT taraf nyata 5 %. (tabel 6). Perlakuan B (*S. marcescens* isolat ULG1E2 + *S.marcescens* isolat JB1E3) terbaik dalam meningkatkan panjang akar yaitu 10,70

cm. Perlakuan C (*S.marcescen* isolat ULG1E4 + *S.marcescens* isolat JB1E3) merupakan konsorsium bakteri endofit yang terbaik dalam meningkatkan berat basah dan berat kering bibit. Pertumbuhan bibit cabai yang diintroduksi konsorsium bakteri endofit lebih baik dibandingkan kontrol (gambar 4).

Tabel 5 : Tinggi dan jumlah daun bibit cabai yang diintroduksi dengan konsorsium bakteri endofit (30 hss)

Perlakuan	Tinggi Bibit	Jumlah daun
A	10.40 a	5.40 a
B	10.90 a	5.00 ab
C	11.40 a	5.60 a
D	10.40 a	5.80 a
E	10.40 a	4.80 ab
F	9.90 ab	4.60 ab
G	8.30 b	4.00 b
Kontrol	11.30 a	2.40 c

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT taraf nyata 5 %

Tabel 6 : Panjang akar, berat basah dan berat kering bibit cabai yang diintroduksi dengan konsorsium bakteri endofit (30 hss)

Perlakuan	Panjang akar cm)	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)
A	9.70 ab	1.068 ab	0.60 de
B	10.70 a	1.078 ab	0.65 cd
C	9.60 ab	1.372 a	0.77 a
D	9.80 ab	1.180 a	0.65 cd
E	9.20 b	1.292 a	0.74 ab
F	9.40 ab	1.012 ab	0.58 e
G	9.50 ab	0.738 ab	0.44 f
Kontrol	9.60 b	1.162 a	070 bc

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT taraf nyata 5 %



Gambar 4 Pertumbuhan bibit cabai; A. Bibit yang diintroduksi konsorsium bakteri endofit, B. Kontrol

3. Pertumbuhan Tanaman Cabai

Pengaruh introduksi konsorsium bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman cabai ditunjukkan pada tabel 7 dan gambar 5. Introduksi konsorsium bakteri endofit berpengaruh nyata menurut DNMRT taraf nyata 5%, terhadap tinggi dan jumlah daun tanaman cabai. Perlakuan G: (*Bacillus* sp SJI + *Bacillus* sp HI + *S.marcescens* isolat JB1E3) terbaik dalam tinggi tanaman (68.50 cm) dan perlakuan F: (*Bacillus* sp SJI + *S.marcescens* isolat JB1E3) terbaik dalam jumlah daun (42.50 helai).

Tabel 7 :Tinggi dan jumlah daun tanaman cabai yang diintroduksi dengan konsorsium bakteri endofit (30 hst)

Perlakuan	Tinggi (cm)	Jumlah Daun (helai)
A	59.25 ab	39.25 a
B	67.25 ab	38.25 a
C	60.00 ab	36.50 ab
D	67.75 ab	41.75 a
E	64.00 ab	41.50 a
F	64.00 ab	42.50 a
G	68.50 b	41.00 a
Kontrol	49.50 a	25.00 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut DNMRT taraf nyata 5 %



Gambar 5: Pertumbuhan tanaman cabai: A.; Tanaman cabai yang diintroduksi konsorsium bakteri endofit, B. Kontrol (tanpa introduksi konsorsium bakteri endofit)

4.1. Pembahasan

Sebanyak 16 isolat bakteri endofit digunakan sebagai sumber kultur campuran (konsorsium) bakteri endofit untuk pengendalian penyakit layu dan pemacu pertumbuhan tanaman cabai. Isolat bakteri endofit tersebut diisolasi dari endofit akar bawang merah dan telah diuji mampu mengendalikan penyakit Hawar daun dan memacu pertumbuhan bawang merah (Resti, *et al* 2013). Untuk pembuatan konsorsium bakteri endofit, kultur bakteri yang digunakan haruslah berkesesuaian (kompatibel) satu sama lainnya. Selain itu mikroba yang akan digunakan sebagai agensia hayati tidak bersifat patogen pada manusia dan hewan (aman) untuk diaplikasikan ke lapangan.

Diperoleh 5 bakteri endofit yang menjadi kandidat untuk kultur campuran (konsorsium) berdasarkan hasil pengujian kesesuaian (kompatibilitas) dan hemolisa. Lima bakteri endofit tersebut kompatibel satu sama lain dan tidak bersifat patogen dari pengujian hemolisa. Bakteri endofit kandidat konsorsium adalah *Bacillus* sp HI, *Bacillus* sp SJI, *S.marcescens* isolat ULG1E2, *S.marcescens* isolat ULG1E4 dan *S.marcescens* isolat JB1E3. Kandidat konsorsium bakteri endofit ini telah diuji sebelumnya kemampuannya dalam menekan severitas penyakit hawar daun yaitu *Bacillus* sp. SJI (8,54 %), *S.marcescens* isolat JB1E3 (8,99 %), *Bacillus* sp. HI (9,00

%), dan *S.marcescens* isolat ULG1E2 (18,14 %), bahkan *S.marcescens* isolat ULG1E2 juga mampu meningkatkan produksi bawang merah sampai produksi 15,12 ton/ha. (Resti et al, 2013).

Introduksi secara tunggal bakteri endofit sudah menunjukkan keberhasilan dalam menekan penyakit dan memacu pertumbuhan. Introduksi kultur campuran (konsorsium) akan dapat memberikan pengaruh lebih baik bila dibandingkan dengan introduksi secara tunggal. Masing-masing kandidat bakteri endofit memiliki berbagai keunggulan yang apabila diintroduksi sebagai kultur campuran (konsorsium) memberikan hasil yang lebih baik.

Semua kombinasi konsorsium yang digunakan memiliki kemampuan dalam menekan *R.solanacearum* secara *in vitro*, dengan zona hambat 6 – 9.25 cm (tabel 3). Berbeda dengan pengujian secara tunggal, masing-masing bakteri endofit tersebut tidak menunjukkan kemampuan menekan perkembangan *R.solanacearum* (Resti, et al 2016). Introduksi bakteri endofit dalam kultur campuran (konsorsium) menunjukkan kemampuan dalam menghambat *R.solanacearum* dibandingkan dengan pengujian bakteri endofit secara tunggal. Seperti pernyataan Kumar dan Jagadeesh, (2016), Kombinasi bakteri endofit bisa lebih efektif mengendalikan berbagai jenis patogen tanaman.

Konsorsium bakteri endofit juga dapat meningkatkan pertumbuhan bibit cabai dibandingkan Kontrol. Konsorsium bakteri endofit meningkatkan daya muncul lapang bibit cabai sampai 95 % pada konsorsium *S.marcescens* ULG1E2 + *S.marcescens* JB1E3 (tabel 3). Konsorsium *S.marcescens* ULG1E4 + *S.marcescens* JB1E3 meningkatkan tinggi, jumlah daun, berat basah dan berat kering yaitu tinggi 11.4 cm, jumlah daun 5.60 helai, berat basah 1.372 g dan berat kering 0.77 g (tabel 4 dan 5). Untuk panjang akar konsorsium *S.marcescens* ULG1E2 + *S.marcescens* JB1E3 mampu meningkatkan panjang akar sampai 10.70 cm (tabel 4). Sama halnya dengan penelitian Istifadah et al, (2014) yang menyatakan bahwa kombinasi mikroba antagonis dengan pupuk hayati dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman cabai serta menekan penyakit damping off sebesar 67,4 - 91,8 %. Selanjutnya menurut Simarmata dan Sukiman (2015), konsorsium mikroba meningkatkan persentase berat

biji kedelai 47,9% dibandingkan tanaman kontrol dan 33% dibandingkan tanaman dengan perlakuan pupuk anorganik.

Pertumbuhan tanaman cabai juga meningkat dengan introduksi konsorsium bakteri endofit pada akar saat pemindahan bibit. Tinggi tanaman dan jumlah daun berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol (tabel 8). Konsorsium *Bacillus* sp SJI + *Bacillus* sp HI + *S.marcescens* JB1E3 mampu meningkatkan tinggi tanaman cabai 38.38 %. Konsorsium bakteri endofit *Bacillus* sp SJI + *S.marcescens* isolat JB1E3 mampu meningkatkan jumlah daun tanaman cabai sampai 70 %. Penelitian Munif *et al* (2015) menggunakan konsorsium bakteri endofit yang berasal dari tanaman kehutanan MSJIH dan AGSIF mampu menekan jumlah puru akar yang disebabkan *Meloidogyne* sp dan meningkatkan pertumbuhan tomat hingga 60 %.

Untuk pengamatan parameter penyakit layu pada tanaman cabai, masih berlangsung dan akan dilanjutkan hanya saja datanya belum dapat disajikan pada laporan ini. Secara *in vitro* konsorsium bakteri endofit dengan semua kombinasi mampu menekan pertumbuhan *R.solanacearum*.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan:

1. Tidak semua bakteri endofit kompatibel satu sama lain, terdapat lima bakteri endofit yang menjadi kandidat untuk konsorsium bakteri endofit yaitu : *Bacillus* sp HI, *Bacillus* sp SJI, *S.marcescens* isolat ULG1E2, ULG1E4 dan JB1E3
2. Konsorsium bakteri endofit mampu menekan perkembangan *R.solanacearum*, meningkatkan perkembangan bibit dan pertumbuhan tanaman cabai.
3. Konsorsium bakteri endofit C (*S.marcescens* isolat ULG1E4 + *S.marcescens* isolat JB1E3), mampu meningkatkan perkembangan bibit cabai.
4. Konsorsium bakteri endofit F ;(*Bacillus* sp SJI + *S.marcescens* isolat JB1E3) dan G: (*Bacillus* sp SJI + *Bacillus* sp HI + *S.marcescens* isolat JB1E3), mampu menekan perkembangan *R.solanacearum* dan meningkatkan pertumbuhan tinggi tanaman cabai 38.38 % dan jumlah daun tanaman cabai 70 %.

5.2. Saran

Melanjutkan kegiatan penelitian untuk mendapatkan data kejadian penyakit dan tingkat keparahan penyakit yang disebabkan oleh *R.solanacearum* di rumah kawat dan di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto T, Goto M, Tsuyumu S, Takikawa T. 1994. Biological control of bacterial wilt of tomato by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* isolated from *Strelitzia reginae*. *Ann Phytopathol Soc Jpn.* 60:421–430. DOI: <http://dx.doi.org/10.3186/jjphytopath.60.421>
- Alvarez B, Elena GB, Maria ML. 2010. On the Life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied in Microbiology and Microbial Biotechnology*. [Internet]. [diunduh 2011 Nov 15]; 267-279. Tersedia pada: <http://www.formatex.info/microbiology2/267-279.pdf>.
- Backman, P.A., Wilson, M., Murphy, J.F. 1997. Bacteria for biological control of plant diseases. In: Rechcigl, J.E., (Eds), *Environmentally safe Approaches to plant disease control*. CRC/Lewis press, Boca Raton, FL, pp 95-109.
- Backman P.A and Sikora R.A. 2008. Endophytes: An emerging tool for biological control. *Biol.* 46: 1–3.
- Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., Van Loon, L.C. 2007. Induced systemic resistance by Fluorescent *Pseudomonas spp.*, *Phytopathology* 97, 239-243
- Baldani J.I and Baldani V.L.D. 2005. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *Anais da Academia Brasileira de Ciências.* 77: 549-579.
- [BPTP] Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. 2010. Budidaya dan pascapanen cabai merah (*Capsicum annuum* L.). Ungaran (ID): Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Jawa Tengah
- Barka, E.A., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J.C., Belarbi, A. 2002, Inhibitory effect of endophytic bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. *Biological control* 24, 135-142.
- Berg, G., Hallmann, J. 2006. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. In: *Microbial root endophytes*. Schulz B, Boyle C, Sieber TN, eds. Springer, Berlin. Pp. 53–67.
- Boddey, R.M. 1995. Biological nitrogen fixation in sugarcane: a key to energetically viable biofuel production. *Crit. Rev Plant Sci.* 14:209-266.
- [CABI] Centre for Agriculture and Biosciences International. 2012. *Ralstonia solanacearum*. www.cabi.org [diakses tanggal 23 Maret 2012].

- Chakravarty, G dan Kalita M.C. 2011. Management of Bacterial Wilt of Brinjal by *P.fluorescens* Based Bioformulation. *J. of Agricultural Biological Sci.*6(3): 1-11
- Chandrashekara KN, Prasannakumar MK, Deepa M, Vani A, Khan ANA. 2012. Prevalence of races and biotypes of *Ralstonia solanacearum* in India. *J. of Plant Protect. Res.* 52(1): 53-58.
- Chaudhry Z, Rashid H. 2011. Isolation and characterization of *Ralstonia solanacearum* from infected tomato plants of Soanskesar valley of Punjab. *Pak. L. Bot.* 43(6): 2979-2985.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., and Barka. E A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microb.* 71:4951–4959.
- Ditjenhorti] Direktorat Jenderal Hortikultura. 2014. Sosial Ekonomi Nasional 2009-2013. [Internet]. [diunduh 21 Agu 2014.]. Tersedia pada: <http://www.pertanian.go.id/Indikator/tabe-15b-konsumsi-rata.pdf>.
- [Direktorat Perlindungan Tanaman Hortikultura]. 2013. Data sekunder Luas Serangan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Cabai di Indonesia. Jakarta (ID): Direktorat Jendral Hortikultura
- [EPPO] European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2004. *Ralstonia solanacearum*. Diagnostic protocols for regulated pests. EPPO.[Internet]. [diunduh 2012 Mar 14];(34):173-178. Tersedia pada:[http://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications_PDF/EPPORalstonia Diagnostic%20protocols.pdf](http://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications_PDF/EPPORalstoniaDiagnostic%20protocols.pdf).
- Hallmann, J., Quadt- Hallmann, Q.A., Mahaffee, W.F., and Kloepper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol.* 43:895–914
- Huang Q, Allen C. 2000. Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants. *Physiological and Molecul. Plant Pathol.* 57(2): 77-83. DOI: 10.1006/pmpp.2000.0283.
- Istifadah N, Melawati A, Suryatmana P, Fitriatin BN, 2014. Keefektifan konsorsium mikroba agens antagonis dan pupuk hayati untuk menekan penyakit rebah semai (*Rhizoctonia solani*) pada cabai. *Agric.Sci.* 1(4): 337-345
- James D, Giriya D, Mathew SK, Nazeem PA, Babu TD, Varma AS. 2003. Detection of *Ralstonia solanacearum* race 3 causing bacterial wilt of solanaceous

- vegetables in Kerala, using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *J. of Trop. Agr.* 41:33-37.
- Klement, Z.K., Rudolph, and Sand, D.C. 1990. *Methods in phyto bacteriology*. Academic Kiado. Budapest.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M, and Schorth, M. N. 1999. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature*. 1980, 286:885-886.
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M., Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus spp.* *Phytopathology*. 94: 1259-1266.
- Kumar, H.B. 2005. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on bean common mosaic potyvirus incidence in French bean. *Int. J. of Botany*, 1(2):163-167
- Kumar, KH and Jagadeesh, KS. 2016. Microbial consortia-mediated plant defense against phytopathogens and growth benefits. *South Indian Journal of Biological Sciences*; 2 (4); 395-403.
- Lemessa F, Zeller W. 2007. Pathogenic characterization of strains of *Ralstonia solanacearum* from Ethiopia and influence of plant age on susceptibility of hosts against *R. solanacearum*. 2007. *J. of Plant Diseases and Protect.* 114(6): 241-249.
- Liu, L., Kloepper, W., Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85, 695-698.
- López-Bucio, J., Campos-Cuevas, J.C., Hernández-Calderón, E., Velásquez-Becerra, C., Farías-Rodríguez, R., Macías-Rodríguez, L.I. and Valencia-Cantero, E. 2007. *Bacillus megaterium* rhizobacteria promote growth and alter root system architecture through an auxin- and ethylene-independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant-Microbe* 20:207-217.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant-growth-promoting Rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol.* 63:541-56.
- Melnick, R.L., Zidack, N.K., Bailey, B.A., Maximova, S.N., Gultinan, M., Backman, P.A. 2008. Bacterial endophytes: *Bacillus spp.* from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. *Biological control*. 46: 46-56

- Munif A, Wibowo AR, Herliyana EN. 2015. Bakteri endofit dari tanaman kehutanan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tomat dan agens pengendali *Meloidogyne* sp. JFI; 11 (6): 179-186.
- Nasrun. 2005. Studi pengendalian hayati penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Nilam dengan *Pseudomonas fluorescens*. {Disertasi}. Pasca sarjana Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 118 hal.
- Nurzannah SE, Lisnawati, Bakti D. 2014. Potensi jamur endofit asal cabai sebagai agens hayati untuk mengendalikan layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*) pada cabai dan interaksinya. *J. Online Argrotek*. 2(3): 1230-1238.
- Poussier S, Thoquet P, Demery DT, Barthet S, Meyer D, Arlat M, Trigalet A. 2003. Host plant-dependent phenotypic reversion of *Ralstonia solanacearum* from non-pathogenic to pathogenic form via alternation in the *phcA* gene. *Molecular Microbiol.* 49(4): 991-1003. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03605.x.
- Rajendran, L. and Samiyappan, R. 2008. Endophytic *Bacillus* species confer increased resistance in cotton against damping off disease caused by *Rhizoctonia solani*, *Plant Pathology Journal* 7: 1–12.
- Rajkumar, M., Prasad, M.N.V. and Freitas, H. 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* 28:142-149.
- Resti, Z., Khairul, U., dan Yanti, Y. 2010. Pemetaan Penyakit Hawar Daun Bakteri : Penyakit Baru Pada Tanaman Bawang Merah di Indonesia. *Jurnal Manggaro*, 11 (2) : 40-45.
- Resti, Z., Habazar, T., Putra, D.P. and Nasrun. 2013. Skrining dan identifikasi isolat bakteri endofit untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada bawang merah. *J.HPT Tropika*. 13(2) : 167 –178.
- Resti Z, Reflin, Gani S. 2016. Karakterisasi fisiologis dan kemampuan antimikroba bakteri endofit indigenus bawang merah. Laporan Penelitian DIPA Fakultas Pertanian Unand.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. St Paul: The American Phytopatology Society.
- Schulz BJE, Boyle CJC. 2006. What are endophytes?. Di dalam Schulz BJE, Boyle CJC, Sieber TN, editor. *Microbial Root Endophytes*. Volume 9. *Soil Biology*: Berlin (DE): Springer. hlm 1–13

- Selin, C., Habibian, R., Poritsanos, N., Sarangi, N.P.A., Fernando, D. and de Kievit, T.R. 2010. Phenazines are not essential for *Pseudomonas chlororaphis* PA23 biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum*, but do play a role in biofilm formation. *FEMS Microbiol Ecol.* 71:73-83.
- Shiomi, F.H., Silva, H.S.A., de Melo, I. S., Nunes, F.V., Bettiol, W. 2006. Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. *Sci Agric.* 63:32-39.
- Simarmata R dan Sukiman H. 2015. Efikasi *Burkholderia cepacia* G13 dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max*). *Biogenesis*: 3 (2): 76-80.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant Signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 31:425–
- Van Loon, L.C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol.* 119:243–254.
- Wang, Y., Zeng, Q., Zhang, Z. 2010. Antagonistic bioactivity of an endophytic bacterium H-6. *African Journal of Biotechnology*, 9(37):6140-6145.
- Zhu YJ, Xiao RF, Liu B. 2010. Growth and pathogenicity characteristics of *Ralstonia solanacearum* strain RS1100 in long-term stationary phase culture. *J. of Plant Dis. and Protect.* 117(4): 156-161.