

**Keberadaan Dan Identifikasi Bakteri Antagonis Pada Rhizosfer  
Kentang (*Solanum tuberosum* L) Sistem Aeroponik Terhadap *Ralstonia  
solanacearum* Smith Secara In-Vitro**

Oleh ;

**RINDAWANA**

**G411 05 004**

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terbit	06 Agustus 2009
Asal Duit	Pertanian
Sangat	1
Halaman	Hadit di
No. Inventaris	70
No. Klasifikasi	SKR - P09

RIN  
K



**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2009**

**Keberadaan Dan Efektifitas Bakteri Antagonis Pada Rhizosfer Kentang (*Solanum tuberosum* L) Sistem Aeroponik Terhadap *Ralstonia solanacearum* Smith Secara In-Vitro**

**Oleh ;**

**RINDAWANA**

**G411 05 004**

**Laporan Praktik Lapang Dalam Mata Ajaran  
Minat Utama Ilmu Penyakit Tumbuhan**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Pertanian**

**Pada**

**Fakultas Pertanian  
Universitas Hasanuddin**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2009**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Keberadaan Dan Identifikasi Bakteri Antagonis Pada Rhizosfer Kentang (*Solanum tuberosum* L) Sistem Aeroponik Terhadap *Ralstonia solanacearum* S Secara In-Vitro

Nama Mahasiswa : Rindawana

Nomor Pokok : G411 05 004

Menyetujui,

Prof. Dr. Ir. Baharuddin., Dipl., Ing., Agr.  
Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti., MSc.  
Pembimbing II

Ketua Jurusan  
Hama dan Penyakit Tumbuhan  
Universitas Hasanuddin

Dr. Ir. Nur Amin, Dipl. Ing. Agr.  
Ketua Jurusan

Tanggal Pengesahan : 2009

PANITIA UJIAN SARJANA  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN

(TIM PENGUJI)



Prof. Dr. Ir. Baharuddin., Dipl., Ing., Agr.  
Ketua



Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti., MSc.  
Sekertaris



Dr. Ir. Nurariaty Agus MS.  
Anggota



Sulaeha Thamrin., SP., MSi  
Anggota



Sri Nur Aminah Ngatimin., SP., MSi  
Anggota

Tanggal Pengesahan : 2009

**DAFTAR ISI****Halaman**

<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>x</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
Latar Belakang.....	1
Hipotesis.....	5
Tujuan dan Kegunaan.....	5
<b>TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
Budidaya dengan Sistem Aeroponik.....	7
Penyakit Pada Sistem Aeroponik Kentang.....	10
Mekanisme Bakteri Antagonis.....	14
<b>BAHAN DAN METODE.....</b>	<b>19</b>
Tempat dan Waktu.....	19
Metode Pelaksanaan.....	20
Isolasi Patogen.....	20
Isolasi Bakteri Antagonis.....	20
Identifikasi.....	21
Uji In-vitro.....	25
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>26</b>
Hasil.....	26
Pembahasan.....	27
<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>30</b>
Kesimpulan.....	30
Saran.....	30
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>34</b>

## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
	<b>Teks</b>	
1.	Sampel Akar Tanaman Kentang ( <i>S. tuberosum</i> ) untuk Mengisolasi Bakteri Antagonis Varietas Granola.....	21
2.	Reaksi Penghambatan Beberapa Isolat Bakteri yang diperoleh dari Rhizosfer Tanaman Kentang ( <i>S.tuberosum</i> ).....	26
3.	Identifikasi Bakteri Antagonis terhadap <i>R.solanacearum</i> dari Rhizosfer Kentangpada Media NGA.....	28
	<b>Lampiran</b>	
1	Diameter Penghambatan Beberapa Bakteri Antagonis terhadap <i>R.solanacearum</i> pada Uji Tanaman Kentang ( <i>S. tuberosum</i> ) Sehat pada Uji Antagonis secara In-vitro dalam Tiga Hari Pengamatan dengan interval Waktu 2 Hari.....	34

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Sistem Irigasi Aeroponik Kentang .....	8
2.	Koloni bakteri <i>R. solanacearum</i> Pada media TTC.....	14
3.	Diagram penghambatan bakteri Antagonis terhadap <i>R. solanacearum</i> .....	25
4.	Pengujian penghambatan bakteri antagonis terhadap <i>R. solanacearum</i> .....	27
5.	Koloni <i>Clostridium</i> dan <i>Bacillus</i> pada media NA dan hasil pengujian anaerob pada media Hugh dan Leifson.....	29

### Lampiran

1.	Pengambilan sampel pada media aeroponik.....	35
2.	Daerah Rizosfer Tanaman Kentang dalam Sistem Aeroponik.....	35
3.	Koloni Bakteri yang telah diisolasi.....	35

## RINGKASAN

**RINDAWANA (G411 05 004) Keberadaan dan Efektifitas Bakateri Antagonis pada Rhizosfer Kentang (*Solanum tuberosum*) L Sistem Aeroponik terhadap *Ralstonia solanacearum* S secara In-vitro. (Dibawah bimbingan Baharuddin dan Tutik Kuswinanti)**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genus bakteri yang berasosiasi dengan rhizosfer tanaman kentang (*S.tuberosum*) pada sistem aeroponik. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Pusat Kegiatan Penelitian. Universitas Hasanuddin. Makassar, yang dilaksanakan Januari sampai Juli 2009.

Metode Pelaksanaannya yaitu mengambil sampel tanaman kentang aeroponik yang sehat dan bergejala yang berumur Inisiasi (2-14 hst) dengan kode isola G, Pertumbuhan vegetatif (14-23 hst) dengan kode isolat R, Pembentukan Stolon (23-34 hst) dengan kode isolat U, Pembesaran umbi (34-46 hst) dengan kode isolat S, Pematangan umbi (46 hst) dengan kode isolat C. lalu diisolasi pada media tumbuh. Koloni bakteri kemudian di gores zig-zag pada media NA. Selanjutnya dilakukan uji antagonis pada *R.solanacearum* dengan cara mengencerkan  $10^{-1}$  sampai kepada tingkat pengenceran  $10^{-6}$  Selanjutnya ditumbuhkan pada media pada dengan menggunakan spatula.

Bakteri hasil isolasi diencerkan lalu dilakukan perendaman kertas saring ke dalam hasil suspensi bakteri, kertas saring kemudian di ambil dengan menggunakan pinset dan di letakkan pada media tumbuh yang sebelumnya telah diberi *R.solacearum*. Dan diamati. Tahap selanjutnya bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *R.solanacearum* diidentifikasi berdasarkan bentuk fisiologi dan biokimia. Dari hasil pengamatan berdasarkan ciri morfologi, fisiologi dan biokimia dari ke 10 isolat bakteri uji yang diamati termasuk ke dalam genus *Bacillus* dan *Clostridium*. Isolat yang memiliki daya hambat terbaik adalah isolat dengan kode G01, R02, U01, U02, S02, S03 dan S05 dengan daya penghambatan masing – masing 3 cm, 1,2 cm, 2 cm, 1cm, 1,5 cm, 2cm dan 2,5 cm.



## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Segala puja dan puji hanyalah milik Allah SWT, Tuhan semesta alam. Shalawat dan salam kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Syukur Alhamdulillah Penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena berkah, rahmat, dan hidayah-Nya, sehingga Laporan Praktik Lapang ini dapat diselesaikan. Pada kesempatan ini, Penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ayahanda H. Ardi HL dan ibunda Hj. Maratang., SPd. atas segala doa restu, kasih sayang, cucuran air mata dan keringat yang telah diberikan selama ini. Semoga Allah SWT senantiasa merahmati, merawat dan mengampuni dosa keduanya.
2. Prof. Dr. Ir. H. Baharuddin., Dipl., Ing., Agr. dan Prof. Dr. Ir. Hj. Tutik Kuswinanti., MSc. sebagai pembimbing dan senantiasa mengarahkan Penulis mulai dari pelaksanaan Praktik Lapang sampai pada penyusunan Laporan, sehingga laporan ini dapat diselesaikan. Semoga Allah SWT membalas kebaikan keduanya.
3. Dr. Ir. Nur Amin, Dipl. Ing. Agr. sebagai ketua jurusan dan Dr. Ir. Untung Surapati., MSc sebagai penasehat akademik.
4. Bapak dan ibu dosen staf pengajar Jurusan HPT serta para pegawai atas bantuan dan bimbingan mereka selama Penulis menempuh pendidikan.
5. Saudaraku yang tercinta Indra Soma., SPd, Asriani., SE dan CH. Kíswanto serta sanak keluarga yang lain.

6. Kakak ku A. Zulkarnain SP, terima kasih atas waktu, kesabaran dan dorongan semangat yang diberikan pada Penulis.
7. Rekan-rekan seperjuangan di HMPT-UH khususnya angkatan 2005 (Rahmawati Arma SP, Sri, Rahmiati, Karina, Imelda, Fasdira, Nurhuda, Nurfaidah, Diah Ayu, Roswita, Rosita, Yulianti, Lusy, Evi, Nur Afraha SP, Desy, Rosita, Nurlindah, Yeni, Mirnawati SP, M. Agra, Makkuraga, Sudirman, Ardi, La Ode dan Aidil) terima kasih telah meluangkan waktu untuk Penulis disaat penulis jenuh, sedih dan senang.
8. Peneliti, pegawai dan staf Laboratorium Bioteknologi PKP UH khususnya untuk kakak Eka Lestari Ariyanti SP, terima kasih atas bantuannya selama Penulis menjalankan praktik lapang.

Penulis sangat menyadari bahwa Laporan ini tidak luput dari kekhilafan, kekeliruan, dan kesalahan namun penulis berharap semoga Laporan Praktek Lapang ini dapat memberi manfaat dan pengetahuan bagi semua pihak yang membutuhkannya.

Makassar, Juli 2009

Penulis

## I. PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Kentang (*Solanum tuberosum*) merupakan komoditas hortikultura penting di Indonesia yang saat ini menjadi bahan pangan alternatif karena memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber karbohidrat yang kaya protein untuk menunjang program diversifikasi pangan maupun sebagai bahan baku industri olahan (Anonim, 2007). Kentang (*S.tuberosum* L) termasuk jenis tanaman sayuran semusim dan merupakan komoditas penting sebagai bahan makanan utama karena memiliki kandungan kalori dan protein yang seimbang dibanding dengan bahan pangan lain (Samadi, 2003). Di Indonesia tanaman kentang merupakan salah satu komoditi yang mendapat prioritas pengembangan karena produksi kentang cenderung meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk, meningkatnya pendapatan dan berkembangnya industri pengolahan makanan. Keadaan tersebut mengakibatkan bertambah luasnya pertanaman kentang dan meningkatnya permintaan benih kentang yang bermutu dan berkualitas (Rukmana, 1997). Menurut Sunarjono dan Rismunandar (1990) bahwa, kentang banyak mengandung vitamin C, vitamin B, dan sedikit vitamin A, serta karbohidrat dan unsur mineral yang diperlukan oleh tubuh. Di Indonesia, dua jenis produk olahan yang menunjukkan kecenderungan semakin populer dalam pola konsumsi masyarakat adalah kentang goreng (*french fries*) dan keripik kentang (*potato chips*) (Rachman, Ali dan Irfansyah, 1999).

Kendala utama produksi kentang di negara-negara tropis termasuk Indonesia adalah adanya penyakit-penyakit berbahaya yang diketahui berdampak besar terhadap penurunan hasil yang nyata dan terbatasnya penggunaan benih kentang

bermutu oleh petani. Beberapa hasil penelitian diluar negeri menunjukkan bahwa kehilangan hasil akibat penyakit Potato Leaf Roll Virus (PLRV) antara 20% - 30%, Potato Virus Y (PVY) antara 30% - 40%, dan penyakit hawar daun (*Phytophthora infestans*) yang diduga rata-rata menghabiskan 13,5% biaya produksi untuk pembelian fungisida dan biaya penyemprotannya (Hooker, 1983; Suhardi, 1989). Meskipun penyakit hawar daun merupakan salah satu penyakit terpenting pada tanaman kentang di Indonesia, namun informasi penelitian tentang epidemiologi masih sangat terbatas sehingga strategi pengendaliannya sulit diterapkan (Purwanti, 2005). Selain itu terdapat pula beberapa penyakit penting lainnya seperti penyakit layu bakteri dan penyakit puru akar yang disebabkan oleh nematoda (Anonim, 1992). Penyakit layu bakteri disebabkan oleh *R. solanacearum* (Smith), penyakit ini dapat menimbulkan kerugian yang besar, karena dapat mengurangi kualitas dan kuantitas kentang bahkan dapat mematikan tanaman (Rukmana, 2004).

Usaha pengendalian sudah banyak dilakukan termasuk penggunaan bahan kimia yang ternyata menimbulkan dampak negatif bagi manusia dan lingkungan. Untuk itu pengendalian dengan menggunakan agens hayati menjadi sasaran para ahli perlindungan tanaman. Penggunaan Agen Pengendali Hayati (APH) dalam mengendalikan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) semakin berkembang karena cara ini lebih unggul dibanding pengendalian berbasis pestisida. Beberapa keunggulan tersebut adalah: (1) aman bagi manusia, musuh alami dan lingkungan; (2) dapat mencegah timbulnya ledakan OPT sekunder; (3) produk tanaman yang dihasilkan bebas dari residu pestisida; (4) terdapat di sekitar pertanaman sehingga dapat mengurangi ketergantungan petani terhadap pestisida sintetis; dan (5)

menghemat biaya produksi karena aplikasi cukup dilakukan satu atau dua kali dalam satu musim panen.

Pengadaan bibit kentang bermutu hingga saat ini masih merupakan masalah utama yang banyak dihadapi petani kentang di Indonesia. Rendahnya produktivitas kentang di Indonesia karena petani menggunakan benih yang turun temurun, serangan hama dan penyakit, lahan pertanian telah mengalami kemunduran fisik dan rendahnya penguasaan teknologi baru, merupakan masalah yang perlu segera ditangani (Baharuddin, 2005; Baharuddin, 2006). Umumnya ada 4 cara petani memperoleh bibit siap tanam yaitu (a) umbi berukuran kecil-kecil hasil panen tanpa seleksi benih sengaja disisihkan, (b) dari petani lain berupa bibit lokal yang tidak diketahui asal-usulnya, (c) berasal dari kentang impor, (d) bibit dari penangkar. Kebutuhan benih kentang nasional setiap tahun mencapai 120.000 ton, sedangkan selama ini kebutuhan benih yang sehat dan bermutu baru dapat tercukupi sekitar 2.100 ton yang sebagian adalah impor (Suyamto, Karyadi, dan Nugroho, 2005).

Ketersediaan tanah sebagai media tanam untuk memenuhi rumah kaca masih merupakan kendala dalam penangkaran benih G0, karena harus lapisan top soil dan bebas dari penyakit yang dapat ditularkan melalui tanah (Willy, 2000). Sebagai alternatif arang sekam adalah media yang dapat menggantikan tanah karena lebih murah dan mudah didapatkan bahkan produksi benih kentang G0 saat ini sudah dilakukan secara aeroponik. Aeroponik adalah sistem pemberdayaan udara untuk pertumbuhan tanaman melalui sistem pengabutan. Sistem aeroponik yang menggunakan bak fiberglass merupakan sistem pertanaman yang berada di dalam bangunan yang tertutup rapat atau disebut rumah screenhouse. Aeroponik selain menghasilkan bibit yang lebih berkualitas, juga dapat menghemat lahan.

Keadaan tempat dan sistem budidaya akan mempengaruhi perkembangan dan penyebaran suatu penyakit. Monitoring lapang melalui pengkajian epifitologi penyakit dan bioekologi patogennya merupakan komponen dasar yang sangat penting guna menunjang keberhasilan pengendalian penyakit secara terpadu (Manzila, 2003). Dalam penanaman (perbenihan) kentang generasi nol, pengamatan terhadap kemungkinan serangan hama dan penyakit tanaman merupakan keharusan, walaupun penanaman dilakukan di dalam rumah kaca (Pitojo, 2004).

Menurut Baharuddin dan Badron (2005), budidaya sistem aeroponik dapat menghasilkan produksi umbi bibit kentang dua kali lipat lebih banyak dibandingkan penanaman yang dilakukan secara konvensional. Akar tanaman yang tergantung akan menyerap larutan hara tersebut. Zulkarnaen (2008) melaporkan terdapat beberapa mikroba dalam media aeroponik diantaranya adalah *Phytophthora investans* dan *Ralstonia solanacearum*.

Berbagai mikroba hidup bersimbiose dengan tanaman membentuk bintil akar (*Rhizobium*), mengkoloni akar (rhizobakteri), atau hidup di dalam jaringan tanaman (diazotrof endofitik) dan di dalam tanah. Mikroba tersebut berperan dalam penambatan N<sub>2</sub> (*Rhizobium*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*), penghasil hormon tumbuh (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*), pelarut fosfat (*Bacillus*, *Pseudomonas*), dan pengurai bahan organik (*Aspergillus*, *Trichoderma*). Kemampuan mikroba dalam menjalankan fungsi ekologis beragam sehingga untuk memanfaatkannya perlu dilakukan seleksi. Selanjutnya, mikroba unggul hasil seleksi dapat diperbanyak dan dibuat inokulan sebagai pupuk hayati. Dalam kaitannya dengan tanaman, mikroba sangat berperan dalam membantu pertumbuhan tanaman melalui penyediaan hara (mikroba penambat N, pelarut P), membantu penyerapan hara (cendawan mikoriza

arbuskula), memacu pertumbuhan tanaman (penghasil hormon), dan pengendali hama-penyakit (penghasil antibiotik, antipatogen). Keanekaragaman biota dalam tanah dapat digunakan sebagai indikator biologis kualitas tanah (Anonim, 2008).

Nurjannah (2007) melaporkan melalui pengujian secara *in-vitro* bahwa bakteri hasil isolasi dari rizhosfer kentang yaitu *Pseudomonas solanacearum* yang mampu menghambat pertumbuhan penyakit layu bakteri dan efektif mengurangi infeksi patogen tular tanah karena *P.solanacearum* mampu mengkoloni akar tanaman. Begitu pula *Bacillus subtilis* sebagai bakteri antagonis yang mampu hidup di daerah perakaran tanaman telah diuji kemampuannya untuk memproduksi bahan probiotik dan meningkatkan pertahanan sistem melawan penyakit layu bakteri (Gupta et al., 1999).

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keragaman bakteri antagonis dan menguji keefektifannya menekan penyakit layu bakteri (*R. solanacearum*)

#### Hipotesis

1. Terdapat keragaman populasi bakteri yang berasosiasi dengan rizhosfer tanaman kentang
2. Terdapat satu atau lebih isolat bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan patogen penyebab penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* secara *in-vitro*.

#### Tujuan dan Kegunaan

Adapun tujuan dari praktek lapang ini adalah :

1. Mengetahui genus bakteri yang berasosiasi dengan rhizosfer tanaman kentang (*S.tuberosum*) pada sistem aeroponik.

2. Untuk memperoleh isolat yang dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati penyakit layu bakteri *R.solanacearum* secara *in-vitro*

Praktek lapang diharapkan dapat menjadi informasi dalam mengendalikan penyakit layu (*R.solanacearum*) pada tanaman kentang aeroponik.





## IL TINJUAN PUSTAKA

### Budidaya dengan Sistem Aeroponik

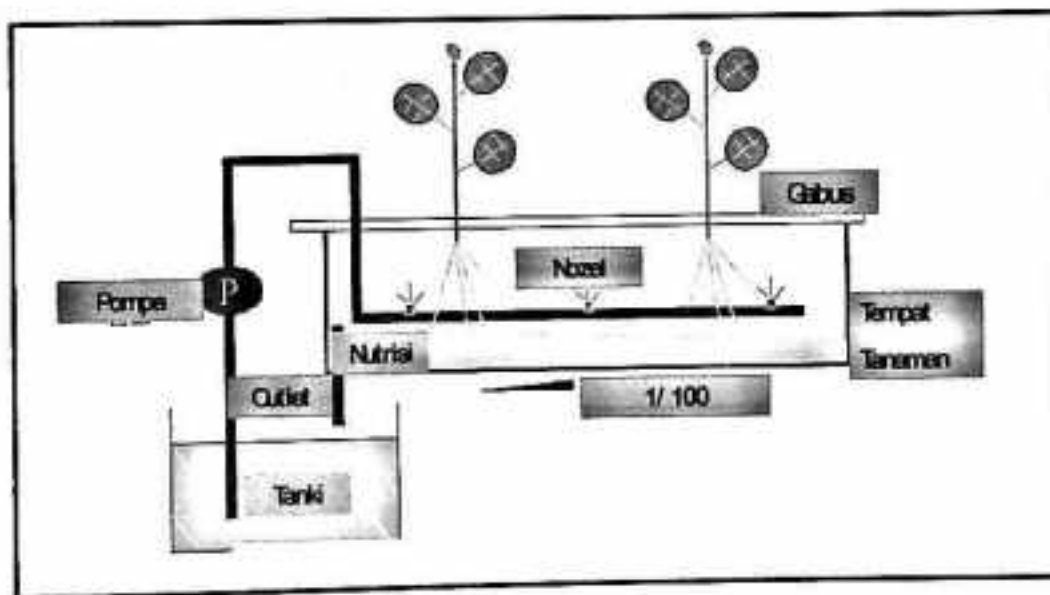
Hidroponik merupakan salah satu metode bercocok tanam tanpa tanah, bukan hanya air yang merupakan media tanamnya tapi dapat juga menggunakan media-media tanam selain tanah seperti kerikil, pasir, sabut kelapa, zat silikat, pecahan batu karang atau batu bata, potongan kayu atau busa (Anonim, 2007a). Ada beberapa system hidroponik diantaranya NFT (Nutrient Film Technique), Ebb-Flow, Deep Flow Technique, Drip Irrigation, Aquaponics dan Aeroponik (Anonim, 2007).

Aeroponik berasal dari kata *aero* yang berarti udara dan *ponus* yang berarti daya. Jadi, aeroponik adalah memberdayakan udara. Sistem Aeroponik satu tipe dengan hidroponik, yaitu mengoptimalkan penggunaan air, hanya saja kalau aeroponik memberdayakannya dengan melalui udara (pengkabutan), oleh karenanya air pada sistem aeroponik berisi larutan nutrisi (hara) yang disemprotkan kepada akar tanaman yang menggantung (Gunawan, 2009).

Keunggulan sistem aeroponik diantaranya, produksi lebih tinggi kemurnian varietas lebih terjamin, tidak mencemari lingkungan, pemakaian hara dan air lebih hemat, tanaman yang mati mudah diganti dengan tanaman baru, hasil produksi lebih kontinyu dibandingkan dengan penanaman secara konvensional, kadar oksigen dalam larutan hara lebih banyak, serta tidak bergantung pada kondisi alam atau musim (Mueller et al., 2002; Park Jong Sub, 2005).

Produksi kentang yang bermutu sangat ditentukan oleh mutu benihnya karena benih yang baik akan menghasilkan produksi yang baik pula. Salah satu cara memperoleh benih kentang yang bermutu tinggi dapat dilakukan dengan memperbanyak tanaman secara *invitro* atau kultur jaringan. Produksi bibit kentang

dengan bahan stek mikro/kultur jaringan bertujuan menghasilkan bibit umbi mini G<sub>0</sub> (tanaman induk). Bibit G<sub>0</sub> ini, dikarenakan bebas virus oleh karena itu plantletnya (bibit stek dalam botol) perlu diuji atau dideteksi dini dengan PCR atau ELISA sehingga bibit G<sub>0</sub> dijamin bebas virus dan dibudidayakan dalam screen house (Hartus, 2001). Bibit G<sub>1</sub> (benih penjenis) ditanam menghasilkan G<sub>2</sub> sebagai dasar, G<sub>2</sub> menghasilkan G<sub>3</sub> sebagai benih pokok, dan G<sub>4</sub> sebagai benih sebar untuk disebarakan ke tingkat petani (Soelarso, 1997).



Gambar 1. Sistem Irigasi Aeroponik Kentang

Prinsip kerja aeroponik untuk tanaman kentang adalah sistem irigasi yang digunakan melalui sistem pengkabutan, memberikan kontribusi yang besar bagi perkembangan budidaya tanaman karena adanya suplai nutrisi yang kontinu bagi tanaman. Menurut Baharuddin dan Badron (2005), budidaya sistem aeroponik dapat menghasilkan produksi umbi bibit kentang dua kali lipat lebih banyak dibandingkan penanaman yang dilakukan secara konvensional.

Metode aeroponik secara detail adalah sebagai berikut ; helai Styrofoam yang digunakan berukuran panjang dua meter, lebar satu meter dan tebal tiga centimeter. Pada Styrofoam dibuatkan lubang berdiameter 1,5 cm sebagai lubang tanam dengan jarak 25 cm x 35 cm. untuk mendukung berdirinya bibit, akar dililit dengan busa atau rockwool. Pada media dipasang selang pipa polyethylene untuk mengalirkan nutrisi. Tiap 80 cm selang dipasangi sringkler spray jet yang biasa memutar ke segala arah. Tenaga untuk mendorong air ke luar sringkler diperoleh dari pompa air berdaya listrik tinggi. Untuk menghasilkan butiran, pompa hendaknya bertekanan tinggi (1,5-2 atmosfer) (Sutiyoso, 2003)

Salah satu keunggulan budidaya aeroponik adalah oksigenasi dari tiap butiran kabut halus larutan hara yang sampai ke akar. Selama perjalanan dari lubang springkler sampai ke akar, butiran akan menambat oksigen dari udara sehingga kadar oksigen terlarut dalam butiran meningkat. Dengan demikian, proses respirasi pada akar dapat berlangsung lancar dan menghasilkan banyak energy. Selain itu, dengan pengelolaan yang trampil, produksi dengan sistem aeroponik dapat memenuhi kualitas (Park Jong Sub, 2005).

Unsur hara esensial seperti C, H, dan O yang diperoleh dari gas CO<sub>2</sub> dan air, harus tersedia bagi tanaman dalam sistem aeroponik. Ketiadaan unsur hara tersebut menyebabkan proses fisiologi tanaman terganggu sehingga proses produksi terhambat. Selain C, H, dan O, unsur esensial lain yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak (makro) pada sistem aeroponik adalah ; N, P, K, Ca, Mg dan S. Juga unsur hara mikro yaitu ; Fe, Mn, Cu, Zn, B, dan Mo. Pada sistem aeroponik semua unsur yang dibutuhkan tersebut sudah disediakan dalam larutan yang diberikan secara terputus-putus.

Konsep formulasi unsur hara sangat berguna dalam memperbaiki kualitas produksi. Dengan merekayasa formulasi antarhara, maka perbaikan hasil dan mutu dapat dilakukan. Namun harus disertai dengan penilaian unsur hara yang direkayasa dan dihitung konsentrasinya yang ditambahkan atau dikurangi dengan tujuan akhir adalah kualitas akan bertambah baik. Dengan menggunakan formulasi unsur hara ini, maka berdasarkan pengalaman akan diperoleh kemudahan dalam meramu pupuk aeroponik. Bila musim atau cuaca berubah, secara cepat dapat dibuatkan rumusan ramuan baru yang lebih sesuai dengan kondisi yang baru (Sutiyoso, 2003).

Muhibuddin (2008) mengemukakan bahwa formula NPK (10:12:16) rpm dan FeMnCu (2,0:1,0:0,6) ppm dapat meningkatkan jumlah umbi, diameter umbi, kandungan karbohidrat, kandungan protein, kandungan Vitamin C, ketebalan kulit dan kekerasan umbi serta menurunkannya kadar air umbi dalam sistem aeroponik. Hal ini disebabkan karena unsur-unsur tersebut merupakan unsur esensial yang terlibat dalam fotosintesis, respirasi dan translokasi.

Kisaran konsentrasi setiap unsur hara dalam larutan siap pakai, perlu juga diketahui. Bila konsentrasi terlalu rendah maka, akan banyak menampilkan gejala defisiensi dan pertumbuhan tanaman tidak sempurna, sebaliknya bila konsentrasi berlebihan, maka terjadi fitotoksisitas dan pertumbuhan tanaman pun tidak normal.

#### **Penyakit Pada Pertanaman Aeroponik**

Pada sistem aeroponik serangan penyakit dapat dibedakan menjadi dua, yaitu penyakit yang menyerang tajuk tanaman (di atas helai Styrofoam) dan penyakit yang menyerang perakaran (di bawah helai Styrofoam). Penyakit yang menyerang tajuk sebagian besar akibat cendawan (Sutiyoso, 2003). Pada sistem aeroponik tanaman kentang, penyakit yang biasa menyerang adalah bercak daun yang disebabkan oleh

*Phytophthora sp* dan penyakit layu yang disebabkan oleh *R. solanacearum* (Zulkarnaen, 2007).

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* telah menyebar luas pada daerah tropis dan sub tropis (Presley, 1984). Bakteri tersebut merupakan patogen dengan kisaran inang yang cukup luas sehingga mampu menginfeksi ratusan spesies dalam 50 famili tanaman. Sebagian besar menyebabkan kerugian pada beberapa jenis tanaman diantaranya kentang, tomat, jahe dan cabe.

Bakteri *R. solanacearum* tidak tahan terhadap kekeringan. Bergerak dengan flagel yang terletak di ujung sel, bersifat motil, aerobik, oksidase. *R. solanacearum* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, tidak berkapsul dan sering bersifat tidak mobil (Hooker, 1981; Kelman, 1953) berukuran  $0,5 \mu\text{m} - 1,5 \mu\text{m}$ . Ukuran sel bakteri bervariasi bergantung pada kondisi pertumbuhan. Isolat yang virulen umumnya tidak berflagela dan tidak dapat bergerak. Isolat yang tidak virulen biasanya mengandung 1 – 4 flagela polar dan dapat bergerak (Kelman, 1953; Menhan et al, 1994), tidak membentuk spora-spora istirahat, tidak dapat tumbuh pada temperatur  $40^{\circ}\text{C}$  dan dalam media yang mengandung NaCl 2%. Bakteri ini juga mampu menghasilkan nitrit yang dirubah dari nitrat (Lucas et al., 1992).

Bentuk koloni bakteri bervariasi dari tidak tembus cahaya sampai bintik-bintik kecil atau intermediat. Sering dapat dibentuk strain virulendengan bentuk koloni yang berlendir atau fluidal yang kemudian berubah menjadi tidak virulen dengan bentuk koloni kecil-kecil seperti bintik-bintik. Perbedaan bentuk koloni dan derajat virulensinya dihubungkan dengan produksi cairan yang mengandung polisakarida. Pembentukan pigmen seringkali dihasilkan dalam media yang

mengandung tirosin. Dalam media padat koloni berwarna putih keruh, tidak beraturan, halus, bercahaya, kebasah-basahan, dan berdiameter 3 – 5 mm (Kelman, 1953).



Gambar 2: Gejala Serangan Penyakit Layu Bakteri Pada pertanaman kentang pada Sistem Aeroponik (Foto: Rinda, 2008).

Bakteri *R. solanacearum* dapat menginfeksi akar tanaman melalui luka yang disebabkan oleh terbentuknya akar lateral tanaman, pemindahan tanaman, tusukan nematoda, serangga dan alat-alat pertanian yang digunakan pada masa pemeliharaan tanaman. Bakteri telah berhasil menginfeksi akar tanaman melalui luka yang telah terbentuk akan masuk ke dalam jaringan korteks dan selanjutnya masuk ke dalam pembuluh xylem dan menyebar ke seluruh bagian tanaman. Massa bakteri yang terdapat pada jaringan xylem akan menyebabkan terhambatnya translokasi air dan unsur hara dari akar ke daun, sehingga berdampak pada kelayuan tanaman (Lucas *et al.*, 1992)

Tinggi rendahnya intensitas penyakit bergantung pada suhu tanah, kelembaban tanah, tanaman inang yang rentan dan strain patogen yang virulen. Suhu tinggi yang berkisar antara 30-20 °C serta kelembaban tanah yang tinggi akan memicu terbentuknya layu pada tanaman (Soares dan Lopes., 1995).

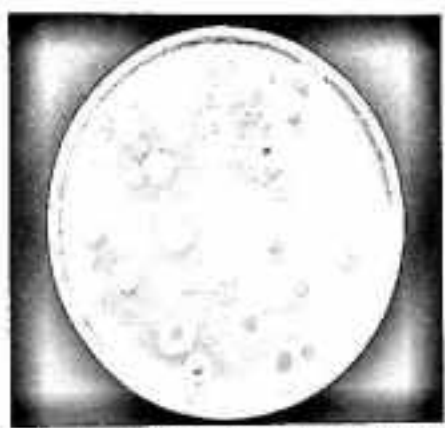
Gejala penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. Solanacearum* dapat terlihat pada setiap fase pertumbuhan tanaman. Menurut Machmud & Middleton (1990) dan Agrios (1997) jenis dan beratnya gejala sangat dipengaruhi oleh virulensi bakteri, ketahanan varietas, waktu terjadinya infeksi, dan kondisi lingkungan tumbuh. Infeksi yang terjadi pada tanaman yang masih muda akan menyebabkan kelayuan dan kematian yang sangat cepat, sedangkan pada tanaman yang telah tua gejala pertama yang terlihat adalah terjadinya perubahan warna, pertumbuhan daun menjadi terhambat ataupun menjadi layu pada sebagian sisi daun selanjutnya akan menjadi layu secara keseluruhan dan akhirnya tanaman mengalami kematian. Jika batang tanaman yang telah terinfeksi di potong secara melintang maka akan mengeluarkan eksudat bakteri. Pada akar, benih/bibit dan bagian tanaman yang lainnya mengalami perubahan warna menjadi coklat dan pada bagian tersebut mengeluarkan eksudat bakteri yang berwarna keputih-putihan (Lucas *et al*, 1992).

Bakteri menghasilkan toksin yang berperan dalam menimbulkan kelayuan pada tanaman inang. Bakteri ini tidak hanya berkembang pada jaringan xylem tetapi juga berkembang dan menyebar pada jaringan parenkim. Korteks menjadi tidak teratur dan jaringan empulur menjadi hancur sehingga dapat menyebabkan terbentuknya rongga tengah pada dasar batang (Supriadi, 2000).

*R. solanacearum* dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang lama dalam asosiasinya dengan tanaman inang dan gulma. Patogen dapat bertahan hidup pada gulma-gulma di pertanaman, sehingga kalau tidak ada maka patogen masih dapat bertahan pada inang alternatif. Machmud (1995) melaporkan bahwa beberapa jenis gulma yang tumbuh di lahan kacang tanah terinfeksi secara alamiah oleh *R. solanacearum* dan menunjukkan gejala layu, akan tetapi ada beberapa jenis gulma



lainnya yang terinfeksi dan tidak memperlihatkan gejala layu (infeksi laten). Gulma-gulma merupakan inang alternatif dan sebagai tempat bertahan patogen sehingga sangat potensial sebagai sumber inokulum. Berikut adalah gambar koloni dari *R. solanacearum* pada media TTC.



Gambar 3 : Koloni bakteri *Ralstonia solanacearum* Pada media TTC ( Rinda, 2009)

#### Mekanisme Bakteri antagonis

Rizosfer tanaman merupakan habitat berbagai spesies bakteri yang secara umum dikenal sebagai rizobakteri dan dapat berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dan sebagai agens antagonis terhadap patogen tanaman (Timmusk, 2003).

Agens hayati dari kelompok rizobakteri yang memiliki kemampuan memacu pertumbuhan tanaman digolongkan sebagai rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (RPPT). Mekanisme pengendalian agens biokontrol terhadap berbagai patogen yang menginfeksi tanaman dapat terjadi secara langsung, umumnya terjadi melalui mekanisme antibiosis, kompetisi, parasitisme dan lisis (Zhang, 2004). Agens biokontrol yang memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antibiotik dapat pula



menghambat pertumbuhan patogen melalui kontak langsung antara agens dan patogen.

Selain meningkatkan pertumbuhan tanaman dan hasil tanaman, agens biokontrol juga mampu meningkatkan hasil dan mutu benih dari hasil panen tanaman induk yang mendapat perlakuan agens. Dari hasil penelitian Landa *et al.*, (2004) dilaporkan bahwa terjadi peningkatan hasil dan mutu benih chickpea, hasil panen tanaman induk yang diberi perlakuan agens biokontrol dibandingkan yang tidak diberi perlakuan agens biokontrol sangat berbeda. Beberapa jenis agens biokontrol yang diisolasi dari rizosfer tanaman, juga dilaporkan mampu meningkatkan bobot basah dan bobot kering biomassa tanaman Tomat.

Bakteri rizosfer *Bacillus spp.*, dapat digunakan sebagai mikroba antagonis. Bakteri ini dapat menekan cendawan atau bakteri lain dengan antibiosis, komposisi nutrisi atau parasitisme langsung. Bakteri tersebut mempunyai siklus hidup yang kompleks meliputi : dormansi, perkecambahan spora dan pertumbuhan liar. Faktor lingkungan yang menentukan pada siklus hidup ini antara lain : nutrisi, suhu, radiasi matahari dan kelembapan. Pengendalian Biologi dengan bakteri antagonis harus menjadi konsisten dan dapat diramalkan efektif, jika dibandingkan dengan penggunaan fungisida kimia dalam menekan penyakit tanaman (Indrawati, 2001).

Kemampuan suatu rizobakteri untuk memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfor, memproduksi senyawa *siderefor* dan nitrogen sianida (HCN), enzim kitinase, protease dan selulase merupakan karakteristik yang diinginkan (Zhang, 2004) Oleh karena itu untuk memperoleh rizobakteri yang berpotensi perlu dievaluasi berbagai karakter tersebut. Salah satu kemampuan rizobakteri dari kelompok *Bacillus spp.*, *Pseudomonas fluorescens spp.* dan *serratia spp.* yang telah dilaporkan ialah

kemampuan melarutkan fosfat (Faccini dan Varela, 2004), sedangkan rizobakteri dari kelompok *Serratia* spp. mampu memfiksasi nitrogen (Bai & Smith, 2003).

Selain memproduksi senyawa anti-mikrob, pengendalian terhadap pathogen oleh rizobakteri pada umumnya juga dilakukan melalui mekanisme kompetisi nutrisi dengan pathogen. Pada kondisi lingkungan yang kekurangan Fe, sejumlah mikroorganisme memproduksi siderofor dan menghubungkannya dengan reseptor membran untuk mendapatkan Fe. Diantara bakteri dan cendawan yang mempunyai kemampuan mengkelatkan Fe. Kemampuan rizobakteri dalam memproduksi siderofor merupakan salah satu mekanisme pengendalian terhadap pathogen tanaman. Dalam hubungannya dengan efektivitas antagonis, kemampuan mengkelat Fe berhubungan dengan mekanisme kompetisi terhadap hara yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme lain dan mekanisme induksi resistensi tanaman terhadap infeksi pathogen (Mercado-Blanco et al, 2004 dalam Sutariati, 2006). Lebih lanjut dilaporkan bahwa sebagai penginduksi resistensi tanaman siderofor yang dihasilkan oleh *P. fluorescens* WCS 374 terlibat langsung dalam produksi asam salisilat yang terbukti mampu menginduksi resistensi tanaman terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. Dimanfaatkan untuk pertumbuhan tanaman (Hornby 1993; Dwivedi & Johri 2003; Faccini et al, 2004 dalam Sutariati 2006).

Siderofor yang diproduksi oleh rizobakteri tidak hanya berperan dalam mekanisme kompetisi Fe dengan patogen, tetapi juga berperan dalam mobilisasi hara di daerah perakaran tanaman. Ketersediaan Fe dapat diserap langsung dan dimanfaatkan untuk pertumbuhan tanaman. Hidrogen Sianida (HCN) merupakan senyawa metabolit sekunder yang umumnya diproduksi oleh bakteri antagonis yang bersifat toksik terhadap cendawan patogen (Munif, 2001). Produksi HCN oleh

bakteri antagonis berhubungan dengan kemampuan isolat bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan patogen (Maunuksela, 2004 dalam Sutariati, 2006).

Resistensi menurut Agrios (1997) adalah kemampuan organisme untuk meniadakan atau mengatasi secara lengkap atau dalam beberapa tingkat pengaruh dari pathogen atau faktor yang merusak lainnya. Resistensi terhadap penyakit pada tanaman ditunjukkan dengan terbatasnya gejala, yang mencerminkan ketidakmampuan patogen untuk tumbuh, memperbanyak diri dan menyebar ke jaringan lainnya. Resistensi terinduksi adalah suatu mekanisme yang secara normal berfungsi membatasi pertumbuhan dan penyebaran pathogen dan efektivitas mekanisme ini ditingkatkan oleh infeksi primer dari agens penginduksi (biotik atau abiotik) berupa mikroorganisme pathogen, non pathogen, metabolit mikrob, ekstrak tumbuhan atau senyawa sintetik seperti asam salisilat.

Mekanisme induksi resistensi sistemik pada tanaman oleh rizobakteri hingga saat ini masih menimbulkan kontroversi dan masih menjadi perdebatan para peneliti dibidangnya. Belum diketahui secara pasti bagaimana rizobakteri memicu resistensi sistemik pada tanaman, namun ada dugaan bahwa induksi resistensi sistemik melibatkan komponen pengikatan pada reseptor pengenal. Media pengenal dapat berupa sinyal ekstraseluler atau sinyal intraseluler. Sinyal diterima dan diteruskan oleh sel tanaman untuk memicu dan mengaktifasi mekanisme pertahanan tanaman (Timmusk, 2003)

Selain pembentukan Pathogenesis-Related Protein (PR-Protein), tanaman juga memiliki mekanisme pertahanan terhadap invasi patogen dengan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat anti-mikrob. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman sebagai respon terhadap invasi pathogen antara lain

fitoaleksin, senyawa fenolik, senyawa terpen, sesquiterpenoids dan sterol (Zhang, 2004).

### III. BAHAN DAN METODE

#### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Pusat Kegiatan Penelitian, Universitas Hasanuddin, Makassar, yang dilaksanakan Januari sampai selesai Juli 2009.

#### Bahan dan Alat

##### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoclave, laminar air flow, oven, inkubator, erlenmeyer, magnetik stirrer, gelas ukur, mikroskop, cawan petri, jarum ose, jarum preparat, timbangan analitik, handsprayer, pipet tetes, mortal, botol, gelas ukur, kertas saring, pH meter, plastic, vortex, bunsen, slotip, objek glass, kertas label, aluminium foil, tissue dan alat tulis menulis.

Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri antagonis yang diambil dari sampel tanaman kentang aeroponik sehat dan bergejala *R. solanacearum*, media NA, TTC, media King's B, malachite green, safranin, alkohol 70%, KOH 3% dan aquades.



## Metode Pelaksanaan

### Isolasi Bakteri Patogen

Bagian tanaman sakit berupa akar di ambil dari dari daerah rhizosfer kentang aeroponik, lalu dipotong-potong 1-2 cm, ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan menggunakan alkohol dan aquades selama 5-7 detik. Selanjutnya, digerus dengan menggunakan mortal dan diberi air steril sebanyak 2 ml. setelah itu, diambil sebanyak 1ml untuk dilakuan pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ . Selanjutnya, mengambil suspensi  $10^{-6}$  sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet tetes kemudian diteteskan pada media pada media NA dan diratakan dengan menggunakan spatula, setelah itu diinkubasikan pada suhu kamar selama 2 hari, setelah tumbuh dilakukan penggoresan secara zig-zag pada media baru NA satu cawan untuk satu koloni. Lalu dilakukan identifikasi dan uji antagonis.

### Isolasi Bakteri Antagonis dari Rhizosfer Kentang

Akar dari tanaman kentang sehat pada sistem aeroponik diambil dan dibersihkan dengan menggunakan air mengalir, lalu dipotong-potong 1-2 cm, ditimbang sebanyak 1 gram dan disuspensikan sebanyak 10 ml air steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ . Selanjutnya, mengambil suspensi dari  $10^{-6}$  sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet tetes kemudian diteteskan pada media NA dan diratakan dengan menggunakan spatula, setelah itu diinkubasi selama 24-48 jam kemudian dilakukan penggoresan secara zig-zag pada media baru NA satu cawan untuk satu koloni kemudian dilakukan pemurnian untuk memperoleh isolat murni untuk keperluan identifikasi dan uji antagonis.

Adapun lokasi, vareites dan fase pertumbuhan tanaman kentang (*S.tuberosum*) yang digunakan sebagai sampel untuk mendapatkan bakteri antagonis pada daerah rhizosfer dapat dilihat pada table sebagai berikut :

**Tabel 1. Sampel Akar Tanaman Kentang (*S. tuberosum*) untuk Mengisolasi Bakteri Antagonis Varietas Granola.**

No.	Kode Isolat	Fase Pertumbuhan	Lokasi
1.	G	Inisiasi (2-14 hst)	Screen House Balai Perbenihan Kentang, Desa Ulu Ere, Kecamatan Loka, Kabupaten Bantaeng dengan ketinggian tempat $\pm$ 1400 m dpl.
2.	R	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	
3.	U	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	
4.	S	Pembesaran umbi (34-46 hst)	
5.	C	Pematangan umbi (46 hst)	

(Sumber: Data pribadi, 2009)

#### Identifikasi Bakteri

Kultur murni yang telah didapatkan, diidentifikasi berdasarkan Schaad et al. (2001) sebagai berikut :



## A. Karakteristik Morfologi

Penentuan karakteristik morfologi didasarkan pada bentuk dan warna koloni pada media biakan NA.

## B. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

Metode pengujian Sebagai berikut:

### a. Reaksi gram

Koloni bakteri dari biakan murni diambil dengan menggunakan jarum ose dan dioleskan pada gelas objek yang telah diberi 2 tetes larutan KOH 3% diaduk melongkar selama  $\pm$  5-10 detik. Koloni yang nampak berlendir memperlihatkan reaksi positif (gram negatif) sedangkan yang tidak berlendir atau terlepas adalah negatif (gram positif).

### b. Pembentukan Endospora

Koloni bakteri pada media agar diambil dengan menggunakan jarum ose dan dioleskan pada slide yang telah diberikan setetes air steril lalu didiamkan sampai kering. Slide direndam dengan larutan malachite green 5% dan diwarnai selama 10 menit lalu dibilas di bawah air mengalir dan dikeringkan kemudian slide direndam dengan larutan safranin 0,5% selama 15 detik lalu dibilas di bawah air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop pada pembesaran 500x. Apabila sel-sel bakteri berwarna hijau maka reaksinya positif.

### c. Pertumbuhan Anaerobik

Media yang digunakan adalah media Hugh dan Leifson. Media dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml kemudian diautoclave. Setelah dingin, ditambahkan glukosa 10% yang telah disterilkan. Bakteri



diinokulasikan ke dalam media kemudian ditutup dengan agar cair 3% yang steril untuk uji fermentasi, sedangkan untuk uji oksidasi tidak ditutup dengan agar cair. Jika terjadi perubahan warna menjadi kuning dan keruh pada uji fermentative maka rekasinya positif.

#### d. Miselium Udara

Koloni bakteri ditumbuhkan pada media agar, diinkubasikan selama 24-48 jam. Jika terbentuk miselium udara maka rekasinya positif. Diamati dibawah mikroskop pada pembesaran 500x.

#### e. Pigment Fluorescent

Koloni bakteri ditumbuhkan pada media King's B. Setelah 24 - 48 jam tumbuh pada suhu 27°C, dapat dilakukan pengamatan. Jika terbentuk pigmen fluorescent yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi hijau yang berarti reaksi positif.

#### f. Pembentukan Urea

Media yang digunakan adalah Dye's media yang terlebih dahulu diautoclave dan didinginkan hingga suhu 55°C, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml lalu ditutup dengan kapas dan aluminium foil dan disterilkan pada autoclave. Setelah media dingin, ditambahkan urea 10% yang telah steril sampai konsentrasi akhir menjadi 2%. Kultur bakteri diinokulasi dengan menggunakan jarum ose, sebagai pembanding yaitu media tanpa urea. Diinkubasikan selama 7 hari. Jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah keunguan maka terindikasi terbentuknya urea yang berarti reaksi positif.

g. Tumbuh pada suhu 33°C dan Media YDC

Koloni bakteri pada media YDC. Setelah 24-48 jam tumbuh pada suhu 33°C, dapat dilakukan pengamatan. Jika bakteri dapat tumbuh, berarti reaksi positif.

h. Tumbuh pada Dim Agar

Koloni bakteri pada media agar diambil dengan menggunakan jarum ose dan digores pada media DIM agar, pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 2-3 hari. Jika terdapat koloni bakteri maka reaksinya positif.

i. Pemanfaatan Arigin

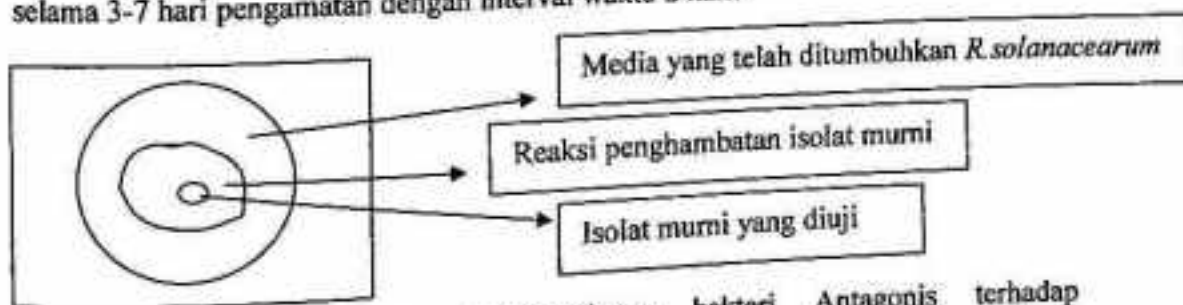
Isolasi bakteri dari biakan murni dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisis media arigin. Selanjutnya kultur tersebut ditutupi dengan agar untuk menghindari masuknya udara (konsisi anaerob) dan diinkubasikan pada suhu kamar 27 °C. Jika bakteri tumbuh pada kondisi anaerob maka setelah beberapa hari akan terjadi perubahan warna dari ungu menjadi merah (reaksi positif).

j. Tumbuh pada Suhu 40 °C

Kultur bakteri ditumbuhkan pada media NBY sebanyak 5-10 ml pada tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan pengamatan selama 15 dan 24 jam. Jika bakteri dapat tumbuh maka rekasinya positif.

### Uji Bakteri Antagonis secara *In-vitro*

Isolat murni dari bakteri pathogen diambil dengan menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air steril sebanyak 10 ml dan dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ , setelah itu suspensi dari  $10^{-4}$  diambil sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan pipet tetes dan diteteskan ke dalam media NA kemudian diratakan dengan menggunakan spatula. Selanjutnya isolat murni bakteri antagonis diambil dengan menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml air steril kemudian menghomogenkan dengan menggunakan vortex. Setelah itu kertas saring yang berukuran 0,5 dicelupkan pada suspensi bakteri yang diperoleh dari rizhosfer tanaman, selanjutnya kertas saring diambil dengan jarum ose dan diletakkan ke dalam media yang sama pada bagian tengah, setelah 24 jam dilakukan pengamatan penghambatan *R. solanacearum* dengan mengukur diameter zone penghambatan maksimal disekitar kertas saring selama 3-7 hari pengamatan dengan interval waktu 2 hari.



Gambar 4: Diagram penghambatan bakteri Antagonis terhadap *R. solanacearum*

## VI. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan uji kemampuan bakteri antagonis pada rhizosfer tanaman kentang (*S.tuberosum*) dalam menghambat penyakit layu bakteri (*R.solacearum*) secara in-vitro, dapat dilihat pada tabel 2 :

Tabel 2: Reaksi Penghambatan Beberapa Isolat Bakteri yang diperoleh dari Rhizosfer Tanaman Kentang (*S.tuberosum*)

No	Isolasi bakteri Antagonis		Daya hambat
	Kode Isolat	Diisolasi dari	
1	G01	Inisiasi (2-14 hst)	+++
2	G02	Inisiasi (2-14 hst)	+
3	G03	Inisiasi (2-14 hst)	+
4	G04	Inisiasi (2-14 hst)	+
5	G05	Inisiasi (2-14 hst)	+
6	G06	Inisiasi (2-14 hst)	+
7	G07	Inisiasi (2-14 hst)	+
8	R01	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	+
9	R02	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	+
10	R03	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	++
11	R04	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	+
12	R05	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	+
13	R06	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	+
14	R07	Pertumbuhan vegetative (14-23 hst)	+
15	U01	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	++
16	U02	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	+
17	U03	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	+
18	U04	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	+
19	U05	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	+
20	U06	Pembentukan Stolon (23-34 hst)	+
21	S01	Pembesaran umbi (34-46 hst)	++
22	S02	Pembesaran umbi (34-46 hst)	+++
23	S03	Pembesaran umbi (34-46 hst)	++
24	S04	Pembesaran umbi (34-46 hst)	+++
25	S05	Pembesaran umbi (34-46 hst)	+
26	S06	Pembesaran umbi (34-46 hst)	-
27	C01	Pematangan umbi (46 hst)	+
28	C02	Pematangan umbi (46 hst)	+
29	C03	Pematangan umbi (46 hst)	+
30	C04	Pematangan umbi (46 hst)	+

Keterangan : - : n = 0 (tidak ada penghambatan)  
 + : n ≤ 0,1 cm – 1 cm  
 ++ : 1 cm > n ≤ 2 cm  
 +++ : n > 3 cm



Gambar 5: Koloni *R. solanacearum* pada media NGA (1), uji antagonis *Clostridium* (2) dan *Bacillus* (3) pada media NGA

Tabel tersebut dapat dilihat bahwa dari 30 isolat yang diuji terdapat 7 isolat yang memiliki kemampuan sangat baik dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* adalah G01, S03 dan S05 yang diperoleh dari rhizosfer kentang fase inisiasi (2 - 14 hst) dan fase pembesaran umbi (34 - 46 hst) dengan daya hambat 2 cm - 3 cm. Dan untuk kode isolat R03, U01, U02 dan S02 mampu menghambat pertumbuhan *R. solacearum* dengan daya hambat 1 cm - 2 cm. Hal ini sesuai dengan pendapat Cook dan Baker (1989) yang menyatakan adanya kompetisi terhadap ruang dan sumber daya sangat mempengaruhi laju penghambatan dimana kompetisi nutrisi dapat membentuk struktur dormansi yaitu endospora yang bersifat resisten pada kondisi lingkungan yang buruk. Hal ini sesuai dengan pendapat Cook dan Baker (1989), yang menyatakan bahwa kompetisi terhadap ruang dan sumber daya sangat mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba yang lain.

Bakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan *R. solacearum* karena adanya senyawa aktif yang dikeluarkan berupa antibiotik. Hal ini sesuai dengan pendapat Merriman et al (1974) Schaad et al (2001) yang menyatakan bahwa bakteri antagonis dapat menekan cendawan atau bakteri patogen dengan antibiotik yaitu bacyclin dan fengymicin, anterimin yang dapat menghambat pertumbuhan patogen.

**Tabel 3: Identifikasi Bakteri Antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum* dari Rhizosfer Kentang pada Media NGA**

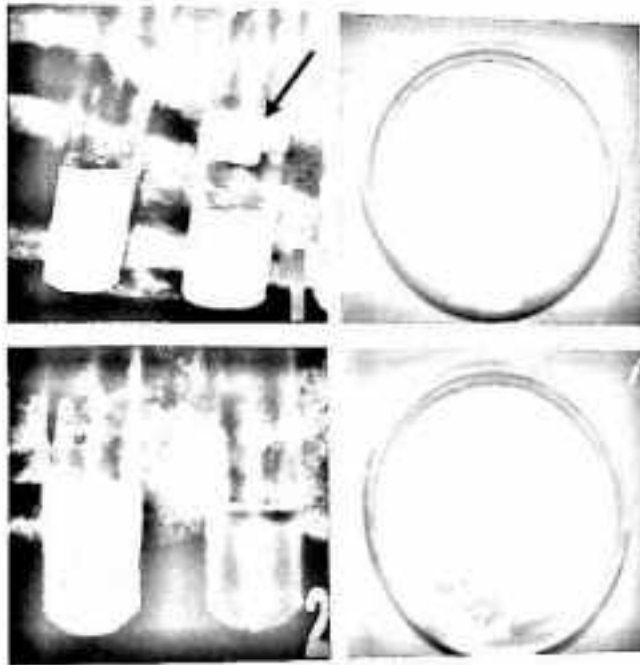
Kode Isolat	Bentuk koloni	Warna Koloni	Reaksi gram	Anaerob	Endospora	Hasil identifikasi
G01	Bulat bercincin	Putih keruh	+	Tidak	Ada	<i>Bacillus sp</i>
R03	Bulat melebar	Putih transparan	+	Ya	Ada	<i>Clostridium sp</i>
U01	Bulat transparan	Putih susu	+	Ya	Ada	<i>Clostridium sp</i>
U02	Bulat melebar	Putih keruh	+	Tidak	Ada	<i>Bacillus sp</i>
S02	Bulat lonjong	Putih	+	Ya	Ada	<i>Clostridium sp</i>
S03	Bulat kecil	Putih susu	+	Ya	Ada	<i>Clostridium sp</i>
S05	Bulat lonjong	Putih keruh	+	Ya	Ada	<i>Clostridium sp</i>

(Sumber: Data pribadi 2009)

Keterangan : Tidak : Tidak dapat hidup pada kondisi anaerob  
Ya : Dapat hidup pada kondisi anaerob  
Ada : Hifa dan miselium terlihat  
Tidak ada : Hifa dan miselium tidak terlihat

Tujuh isolat antagonis yang telah diperoleh kemudian diidentifikasi dan diperoleh hasil untuk kode isolat G01 dan U02 masuk ke dalam kelompok *Bacillus* dan untuk kode isolat R03, U01, S02, S03 dan S05 masuk ke dalam kelompok *Clostridium*. Bakteri *Clostridium sp.* menampakkan warna koloni putih, reaksi gram positif, pertumbuhan anaerob positif, pembentukan endospora positif. Hal ini sejalan dengan pendapat Schaad *et al* (2001) yang menyatakan bahwa *Clostridium sp* berbentuk batang lurus, berkembangbiak dengan spora, gram positif, bersifat anaerob. Strain berbeda dalam sensitifitasnya pada oksigen dan jika kondisi yang lainnya optimal maka beberapa strain biasa berkembang secara aerob sebanyak 2 sampai 4 %. *Clostridium* tidak mempunyai kemampuan untuk menghasilkan sulfat atau sulfide. *Clostridium* dapat berkembang secara optimal pada temperatur 30°C sampai 37°C. Dan pada saat pengujian anaerob dengan memberikan perlakuan

menutup dengan agar-agar 3%, agar-agar tersebut terpisah dari media tumbuh dalam tabung reaksi dan berubah menjadi agak kekuningan dan keruh.



Gambar 6: Koloni *Clostridium* (1) dan *Bacillus* (2) pada media NA dan hasil pengujian anaerob pada media Hugh dan Leifson (foto pribadi, 2009)

Hasil identifikasi untuk 2 isolat lainnya adalah *Bacillus* sp. yaitu dengan menampakkan warna koloni putih, gram positif, pertumbuhan anaerob negatif dan pembentukan endospora positif. Hal ini sejalan dengan pendapat Baharuddin *et al* (1998) yang menyatakan bahwa bakteri *Bacillus* berbentuk batang dengan ukuran lebar 1,0 – 1,2  $\mu\text{m}$  dan panjang 3 – 5  $\mu\text{m}$ , gram positif, membentuk endospora yang berbentuk oval, bulat dan silindris dan suhu untuk pertumbuhannya maksimum 40 – 45°C, tetapi salah satu kelebihan bakteri ini karena mampu membentuk endospora sehingga mampu bertahan pada kondisi yang ekstrim 70 – 80°C dan suhu minimum 10 – 15°C. Bergerak dengan flagella bersifat peritrik, metabolisme bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif, katalase positif.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Dari pengujian yang dilakukan pada disimpulkan bahwa:

- a. Berdasarkan ciri morfologi, fisiologi dan biokimia dari ke 10 isolat uji tersebut masuk ke dalam genus *Bacillus* dan *Clostridium*.
- b. Isolat yang memiliki daya hambat terbaik adalah isolat dengan kode G01, R02, U01, U02, S02, S03 dan S05

### Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai keefektifan bakteri antagonis pada rhizosfer kentang (*Solanum tuberosum*) sistem aeroponik dalam skala laboratorium dan lapangan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1992. **Panduan Teknis PHT-SDT (Pengendalian Hama Terpadu-Sayuran Dataran Tinggi)**. Balai Penelitian Hortikultura Lembang, Bandung. Hal 105-122.
- Anonim, 2007a, Hidroponics, Diakses melalui internet <http://www.anisorchid.com>. Pada tanggal 1 Juni 2009.
- Anonim, 2007b. **Kentang Dawmore**. Dinas Pertanian Jawa Timur, Surabaya
- Anonim, 2008. Mikroba Tanah sebagai Agen Pengendali Hayati Tanaman. [www.google.com](http://www.google.com). (Online Januari 2008).
- Baharuddin dan Badron Zakaria, 2005. **Sistem Perbenihan Kentang Berbasis Bioteknologi Ramah Lingkungan**. Pusat Kegiatan Penelitian. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Betina, V., 1983. **The Chemistry and Biology of Antibiotics**, Phemacochemistry Library, S., Elsevier Scientific Publishing Company. New York 121, 221, 227.
- Cook R. J., and Baker, K. F., 1989. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. Aps Press. St. Paul. Minnesota. USA.
- Ernawati, N.M.L., 2003. **Potensi Mikroorganisme Tanah Antagonis untuk Menekan *Pseudomonas solanacearum* pada Tanaman Pisang Secara In Vitro di Pulau Lombok**. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Fahy, P.C and G.J. Presley, 1983. **Plant Bacterial Diseases a Diagnostic Guide**. Academic Press. Sidney.
- Gupta, V., H. Bochow, S. Dokj, I Fishwer. 1999. **Plant Growth Promoting Bacillus subtilis Strain as Potential Inducer of Resistance In Tomato Against Fusarium Wilt**. Institut Phytopathology and Plant Protection. Faculty of Agriculture and Horticulture Sciencis. Humbol. University Berlin. Germany.
- Gunawan., Hendra., 2009. **Aeroponik Kentang**. Diakses melalui <http://www.bbbp-lembang.info>. Pada tanggal 1 Maret 2009
- Hartus, T., 2001. **Usaha Pembibitan Kentang Bebas Virus**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hooker, W. J., 1983. **Compendium of Potato Diseases**. Departement of Botani and Pathology. Michigan State University. P 29-31; 40-42; 69-71.
- Soedjadi, H., 1980. **Bacterial wilt in Indonesia**. ACIAR Procceding 3: 60-64

- Kelman, A., 1979. **How bacteria induce disease in Plant Disease**, Vol 4. Academic Press, New York.
- Manzila, I., M. Machmud, Jumanto, dan Yadi Suryadi, 2003. **Evaluasi Lapangan Perangkat ELISA dengan Antibodi Poliklonal untuk Deteksi dan Identifikasi RRSV dan *Ralstonia solanacearum***. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Muhibuddin, 2007., **Pengembangan Sistem Produksi Benih Kentang hasil kultur jaringan melalui introduksi teknologi aeroponik dengan formulasi hara**. Disertasi Program Pascasarja S3 Ilmu pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurjannah, T., 2007. **Isolasi Bakteri Antagonis pada Rhizosfer Kentang (*Solanum tuberosum*) dan Uji Efektifitasnya terhadap Patogen *Ralstonia solanacearum* Smith Penyebab Layu Bakteri secara In-vitro**. Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman. Fakultas Pertanian. Universitas Hasanuddin. Tesis S-1.
- Park J. S., 2005. **Pengalaman Memproduksi Benih Kentang GO dengan Sistem Aeroponik**. Korea International Cooperation Agency (KOICA). Korea.
- Pitojo, S, 2004. **Benih Kentang**, Seri Penangkaran. Kanisius, Yogyakarta.
- Purwanti, H., 2005. **Penyakit Hawar Daun (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) pada Kentang dan Tomat: Identifikasi Permasalahan di Indonesia**. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Buletin *AgroBio* 5(2):67-72
- Rachman., AWS, A. Ali, dan Irfansyah, 1999. **The Potato System in West Java, Indonesia: Production, Marketing, Processing, and Consumer Preferences for Potato Products**. Research Institute for Vegetables, Lembang, Bandung.
- Rubatzky, V.E. dan M. Yamaguchi, 1998. **Sayuran Dunia 2. Prinsip, Produksi dan Gizi**. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rukmana, R., 1997. **Bertanam Kentang dan Pasca Panen**. Kanisius. Yogyakarta.
- Samadi, B., 2003. **Usaha Tani Kentang**. Kanisius, Yogyakarta
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and W. Chun. 2001. **Plant Pathogenic Bacteria**. Third Edition. The American Pathological Society. St. Paul. Minnesota. For
- Soelarso, Bambang R., 1997. **Budidaya Kentang Bebas Penyakit**. Penerbit Kanisius, Yogyakarta



Sunarjono, H. dan Rismunandar, 1990. **Kunci Bercocok Tanam Sayur-sayuran Penting di Indonesia (Produksi Holtikultura II)**. Penerbit Sinar Baru, Bandung. Hal: 26-34.

Sutiyoso, H. 2003. **Aeroponik Sayuran. Budidaya dengan Sistem Pengabutan**. Penebar Swadaya. Jakarta.

Sutiyoso, H. 2003. **Meramu Pupuk Hidroponik**. Tanaman Buah, Sayur, dan Bunga. Penebar Swadaya. Jakarta.

Suyamto, Karyadi, K.A., Nugroho, S.U., 2005. **Teknologi Produksi Benih Kentang Berkualitas**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian. Jakarta.

Timmusk S. 2003. **Mechanism of action of plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymixa* (Dissertation)**. Uppsala, Sweden: Departement of Cell and Molecular Biology, Uppsala University

Willy, B.S., 2000. **Sitem Perbenihan Kentang di Indonesia (artikel)**. Institut Pertanian Bogor. <http://www.situshijau.co.Id>. publikasi kembali 15 maret 2008. Hal: 5

Zhang Y. 2004. **Biological of sclerotinia stem rot of canola by bacterial antagonists and study of biocontrol mechanisms involved (Thesis)**. Winnipeg, Canada: Departement of Plant Science, University of Manitoba.

Zulkarnaen., 2008. **Keragaman Intensitas Beberapa Penyakit Penting Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* Linneaus) pada Sistem Perbenihan Aeroponik dan Sistem Perbenihan dengan Menggunakan Media Arang Sekam**. Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman. Fakultas Pertanian. Universitas Hasanuddin. Tesis S-1.

## Lampiran

Tabel Lampiran: Diameter Penghambatan Beberapa Bakteri Antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Uji Tanaman Kentang (*S. tuberosum*) Sehat pada Uji Antagonis secara In-vitro dalam Tiga Hari Pengamatan dengan interval Waktu 2 Hari

No	Kode Isolat	Diameter Penghambatan (cm)			Kriteria Penghambatan
		Hari-1	Hari-2	Hari-3	
1	G01	1	2,1	3	+++
2	G02	0	0,2	0,3	+
3	G03	0	0,1	0,2	+
4	G04	0	0,1	0,2	+
5	G05	0,1	0,5	0,7	+
6	G06	0,1	0,5	0,7	+
7	G07	0	0,1	0,5	+
8	R01	0,1	0,1	0,2	+
9	R02	0,1	0,1	0,2	+
10	R03	0,5	1	1,2	++
11	R04	0,1	0,2	0,5	+
12	R05	0,1	0,3	0,3	+
13	R06	0,1	0,1	0,1	+
14	R07	0,1	0,1	0,1	+
15	U01	0,5	1	2	++
16	U02	0	0,5	1	++
17	U03	0	0,1	0,1	+
18	U04	0,1	0,2	0,3	+
19	U05	0,1	0,2	0,2	+
20	U06	0,1	0,2	0,2	+
21	S01	0	0	0,1	++
22	S02	1	1,2	1,5	+++
23	S03	1,1	1,5	2	+
24	S04	0	0,4	0,6	+++
25	S05	1,5	2	2,5	+
26	S06	0	0,1	0,2	
				0	+
27	C01	0	0	0	+
28	C02	0	0,1	0,2	+
29	C03	0	0,1	0,1	+
30	C04	0	0,1	0,2	+

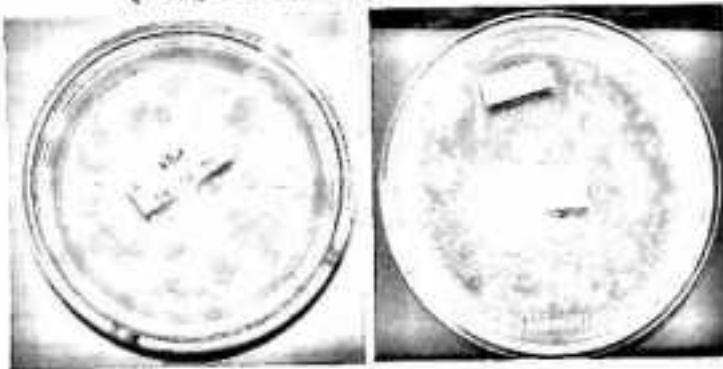
Keterangan : - : n = 0 (tidak ada penghambatan)  
 + : n ≤ 0,1 cm - 1 cm  
 ++ : 1 cm > n ≤ 2 cm  
 +++ : n > 3 cm



Gambar Lampiran 1: Pengambilan Sampel Akar Tanaman Kentang Pada Sistem Aeroponik (Foto; Rinda, 2009)



Gambar Lampiran 2 : Daerah Risosfer Tanaman Kentang dalam Sistem Aeroponik (Foto; Rinda, 2009)



Gambar Lampiran 3: koloni Bakteri yang telah diisolasi