

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMPOS DAN
METABOLIT SEKUNDER DARI *Pseudomonas fluorescens* PADA
BUAH KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP
PERKEMBANGAN GEJALA SERANGAN BUSUK BUAH
*Phytophthora palmivora***

**AMALIYAH MUSTARI
G 411 06 014**



**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMPOS DAN
METABOLIT SEKUNDER DARI *Pseudomonas fluorescens* PADA
BUAH KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP
PERKEMBANGAN GEJALA SERANGAN BUSUK BUAH
*Phytophthora palmivora***

Oleh :

**AMALIYAH MUSTARI
G411 06 014**

**Laporan Praktik Umum dalam Mata Ajaran Minat Utama
Ilmu Hama 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
2010**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Praktek Lapang : Pengaruh Pemberian Ekstrak Kompos Dan Metabolit Sekunder Dari *Pseudomonas fluorescens* Pada Buah Kakao (*Theobroma cacao*) Terhadap Perkembangan Gejala Serangan Busuk Buah *Phytophthora palmivora*

Nama Mahasiswa : Amaliyah mustari

Nomor Pokok : G411 06 014

Disetujui Oleh,



Dr. Ir. Nur Amin, Dipl. Ing. Agr.
Pembimbing I



Dr. Ir. Untung Surapati, M.Sc
Pembimbing II

Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin



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

Tanggal Pengesahan : Mei 2010

**PANITIA UJIAN SARJANA
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

(TIM PENGUJI)



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

Dr. Ir. Untung Surapati, M.Sc
Sekretaris

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

Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc
Anggota

Dr. Ir. Thamrin Abdullah, M.Si
Anggota

Tanggal Lulus : Mei 2010.

RINGKASAN

AMALIYAH MUSTARI (G 411 06 014) Pengaruh Pemberian Ekstrak Kompos dan Metabolit Sekunder *Pseudomonas fluorescens* Pada Buah Kakao (*Theobroma cacao L*) Terhadap Gejala Serangan Busuk Buah Oleh *Phytophthora palmivora*. Di bawah bimbingan NUR AMIN dan UNTUNG SURAPATI

Praktik Lapang ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Tamalanrea, mulai bulan Mei 2009 hingga februari 2010. Tujuan dari praktik lapang ini adalah untuk membuat larutan metabolit sekunder dari bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens* serta mengetahui pengaruhnya terhadap perkembangan gejala serangan busuk buah kakao oleh *P. palmivora* di pertanaman kakao. Kegunaan penelitian ini adalah sebagai bahan informasi lebih lanjut mengenai potensi penggunaan ekstrak kompos dan formulasi metabolit sekunder dari bakteri antagonis *P. fluorescens* terhadap perkembangan gejala serangan busuk buah kakao oleh *P. palmivora*.

Persiapan yang dilakukan yaitu menggunakan ekstrak kompos kemudian mengisolasi bakteri *Pseudomonas fluorescens* dari ekstrak kompos tersebut lalu diperbanyak dalam medium NA dan Kings B. Ekstrak kompos dan metabolit sekunder dari *Pseudomonas fluorescens* pada medium kings B dan NA serta gabungan selanjutnya di aplikasikan pada buah pentil kakao yang telah terinfeksi *Phytophthora palmivora* dan diamati pengaruh penghambatannya terhadap perkembangan gejala busuk buah.

Percobaan ini terdiri dari 5 perlakuan dan masing-masing diulang sebanyak 5 kali. Percobaan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan jika pada analisis ragam terdapat perbedaan maka diuji dengan uji Duncan. Adapun perlakuannya sebagai berikut P1 = kontrol, P2 = pemberian ekstrak kompos, P3 = pemberian metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* yang diperbanyak dengan medium kings B P4 = pemberian metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* yang diperbanyak dengan medium Nutrient Broth P5 = gabungan antara metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* dari kedua media dengan ekstrak kompos.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas Rahmat dan Karunia-Nya sehingga laporan praktek lapang ini dapat terselesaikan Shalawat dan salam semoga tetap tercurah atas **Nabi Muhammad SAW**, beserta kepada keluarga, sahabat dan orang-orang yang senantiasa mengikuti jalannya.

Terselesainya laporan praktik lapang ini tidak terlepas dari bantuan beberapa pihak, oleh karenanya patutlah kiranya penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr.Ir.Nur Amin, Dipl.Ing.Agr sebagai Pembimbing I, Dr. Ir. Untung Surapati, M.Sc sebagai Pembimbing II dan Dr. Ir. Melina, MP atas segala keikhlasan, kesabaran dan ketulusannya mengarahkan, memberikan bimbingan, bantuan serta saran mulai dari penyusunan rencana penelitian hingga penyusunan laporan ini.
2. Bapak **Dr. Ir. Nur Amin, Dipl. Ing-Agr**, sebagai Ketua Jurusan beserta seluruh staf **Dosen** serta **Pegawai** Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin atas segala bimbingan dan bantuan yang diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan..
3. Kedua orang tuaku, Ayahanda tercinta **alm. Mustari K** dan Ibunda tersayang **Syahriah** serta Suami tercinta **Basri Irwansyah** yang telah memberikan doa, pengorbanan, cinta dan kasih sayang kepada penulis yang tak ternilai harganya.dan tak luput saudaraku **Iswatun hasanah A.Md.Keb., Hasbiah A.Ma dan Arief Amenan** yang senantiasa memberikan dukungannya.
4. Sahabat-sahabatku **Niken Nur Kasim Sp., Anggy Eriska, Nanda Nirmala Putri, Retnosari, T., Sudirman Sp., Ardiansyah** dan seluruh

Angkatan 2006 terima kasih atas persahabatan dan kebersamaannya selama ini yang telah memberikan dukungan dan motivasi. Dan semua pihak yang telah membantu penulis, semoga bantuan yang telah diberikan mendapatkan pahala yang setimpal dan bernilai ibadah disisi Allah SWT, Amin.

5. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan kelancaran dalam penyusunan skripsi ini.

Wassalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatu

Makassar, Mei 2010

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Hipotesis.....	7
1.3 Tujuan dan Kegunaan Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penyakit Busuk Buah Kakao (<i>Phytophthora palmivora</i>)	9
2.2 Pengendalian Dalam Konsep PHT	10
2.3 Pemanfaatan Kompos Dalam Pengendalian Penyakit Tanaman	13
2.4 Bakteri antagonis <i>Pseudomonas fluorescens</i>	18
2.5 Peranan <i>Pseudomonas fluorescens</i> Dalam Pengendalian Hayati.....	28
2.6 Bakteri Sebagai Penghasil Antibiotik	36
2.7 Bakteri Sebagai Penghasil Siderofor.....	38
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	42
3.2 Metode Pelaksanaan.....	
3.2.1 Penyediaan Ekstrak Kompos	42
3.2.2 Isolasi Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	43
3.2.3 Penyediaan <i>Pseudomonas fluorescens</i> dalam bentuk cair	
3.2.3.1 Pada Media Nutrien Broth.....	43

3.2.3.2 Pada Media Kings B.....	44
3.2.4 Penyaringan.....	44
3.2.4 Pengujian Semi <i>Invivo</i>	44
3.2.5 Pengamatan.....	45

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil	46
4.2 Pembahasan.....	47

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran.....	50

DAFTAR PUSTAKA	51
-----------------------------	-----------

DAFTAR TABEL

No.	<u>Teks</u>	Halaman
1	Sifat pertumbuhan <i>Pseudomonas sp</i> pada beragam medium komersial	20
2	Uji perbandingan karakteristik antara <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas solanacearum</i>	43

DAFTAR GAMBAR

No.	<u>Teks</u>	Halaman
1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> pada medium Kings B	18
2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> dilihat dengan mikroskop	19
3	Grafik tingkat gejala serangan penyakit busuk buah <i>P. palmivora</i> pada buah kakao	46

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao L*) merupakan salah satu komoditas unggulan dari sub letabo perkebunan yang berkembang di Indonesia, sebagian besar diusahakan oleh petani dalam bentuk perkebunan rakyat. Komoditi ini mampu mengangkat perekonomian penduduk dan menjadi komoditas primadona dengan serapan tenaga kerja yang cukup besar. Hal ini disebabkan oleh melonjaknya harga kakao sebagai dampak dari melemahnya nilai tukar rupiah yang melambungkan harga komoditas pertanian berorientasi ekspor.

Selama 12 tahun terakhir rata-rata perkembangan jumlah petani kakao sebesar 3,75 % per tahun. Luas areal pertanaman kakao di Indonesia pada tahun 2007 telah mencapai 1.461.889 ha yang didominasi oleh perkebunan rakyat (92,34%) dengan produksi 779.186 ton, sehingga menempatkan Indonesia sebagai Negara produsen kakao terbesar kedua di dunia setelah pantai Gading (Anonim, 2008).

Sulawesi Selatan merupakan produsen kakao terbesar di Indonesia yaitu 32% dari total produksi nasional (Anonim, 1995). Namun, beberapa tahun terakhir ekspor kakao di Sulawesi Selatan mengalami hambatan. Pada tahun 2003 ekspor kakao sebesar 174.686,09 ton dan pada tahun 2004 turun menjadi 103.764,17 ton. Dengan demikian ekspor kakao Sulawesi Selatan mengalami penurunan sekitar 70.922 ton (Rahman 2005).

Beberapa 2etabo yang menyebabkan rendahnya produktivitas antara lain kondisi kebun yang tidak 2etaboli, umur tanaman yang sudah tidak produktif serta serangan hama dan penyakit. Hama dan penyakit yang banyak menyerang kakao antara lain PBK (Penggerek Buah Kakao), *Vascular Streak Dieback* (VSD), dan penyakit Busuk Buah, yang menyebabkan turunnya produktivitas sebesar 321 kg/ha/tahun atau sebesar 30% dari produktivitas yang pernah dicapai (1.100 kg/ha/tahun) (Anonim, 2008).

Penyakit Busuk Buah yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* menjadi momok yang paling menakutkan bagi petani, dan dianggap jauh lebih berbahaya dibandingkan dengan PBK. Hal ini disebabkan karena justru pada saat pucuk produksi yang terjadi pada musim hujan, penyakit ini lebih mengganas. Kerugian akibat penyakit Busuk Buah ini 2eta mencapai 100%.

Salah satu cara yang bisa dilakukan untuk menekan tingkat setrangan penyakit ini adalah melalui pengendalian secara hayati, yang merupakan salah satu komponen pengendalian hama terpadu (PHT) yang sesuai untuk menunjang pertanian berkelanjutan. Hal ini disebabkan oleh karena pengendalian ini lebih selektif (tidak merusak 2etabolic yang berguna dan manusia) dan lebih berwawasan lingkungan. Pengendalian hayati berupaya memanfaatkan mikroba antagonis secara hayati dan proses-proses alami lainnya, seperti misalnya melalui penggunaan kompos sebagai *plant growth*.

Kompos oleh petani sudah lama dikenal sebagai salah satu komponen "sustainable agriculture" dalam hal ini adalah pertanian 2etabol. Produk pertanian 2etabol pun di masyarakat modern saat ini sangat dihargai dengan harga yang

lebih baik dibandingkan dengan pertanian biasa. Kompos selain dapat berfungsi sebagai "Plant Growth" juga sebagai "Plant Health" bagi tanaman (Gotschall, 1988). Hal ini sejalan dengan "Mode of Action" yang terjadi dalam proses pengomposan yaitu hasil kerja grup mikroorganisme di dalam kompos yang memiliki populasi yang sangat tinggi. Pfirtel et al, (1982) memberikan jumlah grup bakteri $10^6 - 10^{10}$ CFU (Colony Forming Units) setiap gram kompos. Lebih lanjut disebutkan mengandung $10^4 - 10^8$ CFU dari grup aktinomicetes dan $10^4 - 10^6$ cfu dari grup cendawan.

Mengenai peranan penting dari ekstrak kompos dalam perlindungan tanaman khususnya dalam penanggulangan berbagai penyakit tanaman telah dibuktikan oleh berbagai peneliti. Grossmann (1984) membuktikan secara in vitro penghambatan pertumbuhan misellium cendawan *Ophiobulus graminis* melalui aplikasi ekstrak kompos. Penghambatan sporangia dari 3etaboli *Phytophthora cinnamomi* setelah pemberian ekstrak kompos (Rao et al, 1977; Hoitink et al, 1977), lebih lanjut dibuktikan oleh peneliti ini bahwa terjadi lisis dari sporangia setelah perlakuan dengan ekstrak kompos. Spring et al (1980) membuktikan kompos ekstrak yang disterilisasi masih mempunyai kemampuan penghambatan terhadap *Phytophthora cactorum*, dimana terjadi penghambatan sporangia dan lisis dari zoospore cendawan tersebut.

Aplikasi pada daun dengan menggunakan ekstrak kompos dari macam-macam sumber kompos telah dapat mengurangi serangan *Phytophthora infestant* pada tanaman kentang (Weltzien et al, 1987; Ketterer, 1990). Dalam aplikasi terhadap buah telah dibuktikan juga ekstrak kompos dapat mengurangi serangan

Botrytis cinerea pada buah strawberry, *B. fabea* pada kacang panjang dan serangan *Pseudopeziza tracheiphila* pada buah anggur (Weltzien et al, 1987; Stindt dan Weltzien, 1988; Ketterer, 1990).

Penggunaan ekstrak kompos yang berasal dari sampah 4etabol untuk menekan 4etaboli penyebab penyakit busuk buah *P. palmivora* pada tanaman kakao telah dibuktikan oleh Amin (1997). Penelitian selanjutnya membuktikan bahwa ekstrak kompos dari sampah 4etabol yang telah diberi dengan 4etabolic4 kehilangan daya penghambatannya terhadap 4etaboli penyakit busuk buah *P. palmivora*. Hal ini membuktikan bahwa peranan bakteri selama proses pengomposan sangat penting. Diduga bahwa metabolit sekunder dari bakteri selama proses pengomposan mampu menekan penyebab penyakit busuk buah *P. palmivora* pada tanaman kakao. Dengan pemberian 4etabolic4 maka sebagian besar bakteri dalam proses pengomposan menjadi mati, sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan oleh cendawan dan aktinomicetes dari sampah 4etabol tidak mampu menekan pathogen penyebab penyakit busuk buah *Phytophthora* sp. Lebih lanjut penelitian membuktikan identifikasi bakteri yang berasal dari sampah 4etabol adalah dari genus *Bacillus* sp. Dan *Pseudomonas* sp. (Widodo et al, 1993).

Bakteri *antagonis* adalah mikroorganisme yang mempunyai pengaruh yang merugikan terhadap mikroorganisme lain seperti patogen yang tumbuh dan berasosiasi dengannya. Antagonisme meliputi: (a) kompetisi nutrisi atau sesuatu yang lain dalam jumlah terbatas tetapi diperlukan oleh OPT, (b) antibiosis sebagai hasil dari pelepasan antibiotika atau senyawa kimia yang lain oleh mikroorganisme dan berbahaya bagi OPT dan (c) predasi, hiperparasitisme,

mikroparasitisme atau bentuk yang lain dari eksploitasi langsung terhadap OPT oleh mikroorganisme yang lain.

Penggunaan ekstrak kompos yang berasal dari sampah Setabol terbukti dapat menekan Setaboli penyebab penyakit busuk buah *P. palmivora* pada tanaman kakao (Amin, 1997). Penelitian selanjutnya membuktikan bahwa ekstrak kompos dari sampah Setabol yang telah diberi dengan Setabolic5 kehilangan daya penghambatannya terhadap Setaboli penyebab penyakit busuk buah *P. palmivora*. Hal ini membuktikan bahwa peranan bakteri selama proses pengomposan sangat penting. Diduga bahwa metabolit sekunder dari bakteri selama proses pengomposan mampu menekan penyebab penyakit busuk buah *P. palmivora* pada tanaman kakao. Dengan pemberian Setabolic5 maka sebagian besar bakteri dalam proses pengomposan menjadi mati, sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan oleh cendawan dan aktinomicetes dari sampah Setabol tidak mampu menekan Setaboli penyebab penyakit busuk buah *Phytophthora* sp. Lebih lanjut penelitian membuktikan identifikasi bakteri yang berasal dari sampah Setabol adalah dari genus *Bacillus* sp. Dan *Pseudomonas* sp. (Widodo et al, 1993).

Bakteri *P. fluorescens* mempunyai sifat PGPR, yang nyata memacu pertumbuhan tanaman pada kondisi lahan yang baik. *P. fluorescens* ini juga menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan Setaboli, terutama pada Setaboli tular tanah serta mempunyai kemampuan mengkoloni akar. Selain itu, bakteri ini berkompetisi dengan mikroba Setaboli dan menghasilkan antibiotika, siderofor, dan asam sianida yang dapat menekan

pertumbuhan mikroba 6etaboli terutama pada cendawan tular tanah (Soesanto, L., 2006).

P. fluorescens merupakan bakteri *aerob* yang tidak fermentative serta tidak memiliki struktur istirahat, sehingga tidak awet jika dibuat dalam pemformulaan dengan bahan 6etaboli. Berbagai formulasi dari *P. fluorescens* telah dikembangkan dan akhirnya ditemukan bahwa untuk bertahan hidup lebih baik dalam penyimpanan. *P. fluorescens* memerlukan berbagai mineral yang dikombinasikan seperti Magnesium silikat [$Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$] yang biasa tersedia dalam bentuk serbuk dan disebut dengan talek (Anonim, 2000).

Dari beberapa informasi yang dikemukakan di atas, dipandang penting untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak kompos dan 6etabolic sekunder dari formulasi *P. fluorescens* yang diisolasi dari ekstrak kompos serta diaplikasikan pada buah kakao untuk mengetahui pengaruhnya terhadap perkembangan gejala serangan penyakit busuk buah oleh *P. palmivora*.

1.2 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini, antara lain :

- 1) Terdapat perbedaan antara perlakuan ekstrak kompos dengan metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens*.
- 2) Terdapat perbedaan antara Perlakuan dengan metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* yang ditumbuhkan pada media berbeda
- 3) Perlakuan antara ekstrak kompos dan metabolit sekunder terdapat pengaruh interaksi dalam menurunkan intensitas serangan penyakit busuk buah *Phytophthora Palmivora* pada kakao

1.3 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat membuat larutan metabolit sekunder dari bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens*. Serta mengetahui pengaruhnya terhadap perkembangan gejala serangan busuk buah kakao oleh *P. palmivora* di pertanaman kakao.

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai bahan informasi lebih lanjut mengenai potensi penggunaan ekstrak kompos dan formulasi metabolit sekunder dari bakteri antagonis *P. fluorescens* terhadap perkembangan gejala serangan busuk buah kakao oleh *P. palmivora*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Busuk Buah Kakao (*Phytophthora palmivora* B.)

Taksonomi dan Daerah Sebaran

Penyakit busuk buah pada tanaman kakao disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* Butler (Semangun, 1996). Menurut Agrios (1997), cendawan ini tergolong dalam :

Kingdom	: Fungi
Division	: Eumycota
Kelas	: Oomycetes
Ordo	: Peronosporales
Family	: Phytiaceae
Genus	: <i>Phytophthora</i>
Spesies	: <i>P. palmivora</i> Butler

Phytophthora palmivora memiliki kisaran inang yang luas dan dapat menyerang 138 spesies tumbuhan yang termasuk ke dalam bermacam-macam family (Chee, 1969). Untuk dapat berkembang biak cendawan ini memerlukan temperature dan kelembaban udara tertentu. Perkembangan penyakit makin tinggi pada temperatur optimum 31⁰C (Tucker, 1931 dalam Agrios 1996). Cendawan ini telah dikenal sejak tahun 1886 di Indonesia dan menjadi penyakit penting pada tanaman perkebunan (Muller, 1935 dalam Agrios, 1996). *Phytophthora palmivora* dapat menyerang bermacam-macam tanaman, dengan demikian sumber inokulum

selalu ada di lapangan. Namun yang dianggap paling penting adalah penularan melalui tanah.

Morfologi Jamur

Cendawan *Phytophthora palmivora* merupakan marga yang memiliki sporangium yang jelas berbentuk seperti buah jeruk nipis dengan tonjolan di ujungnya. Sporangium ini tidak tahan kering. Jika ada air, maka ada sporangium ini melepaskan zoosporanya. Zoospora berenang-renang kemudian membentuk kista pada permukaan tanaman dan akhirnya berkecambah dengan menghasilkan hifa yang pipih dan masuk ke dalam jaringan inang. Pada perkecambahan secara tidak langsung diferensiasi zoospore terjadi di dalam sporangium (Agrios, 1996).

Phytophthora palmivora memiliki misellium yang sangat banyak pada cuaca lembab, konidiofor ramping dan bercabang-cabang, konidia bulat telur (oval) dan dapat menghasilkan zoospora. Oogonia berbentuk bola, tebal, homogeny, delimit dari hifa somatic oleh suatu sekat, dan memiliki warna kuning pucat sampai kecoklatan (Streets, 1972). Lebih lanjut dikemukakan oleh Jhonson et. Al., (1999), bahwa zoosporangium dihasilkan sepanjang hifa somatik atau pada ujung hifa dan seperangkat hifa bebas.

2.2 Pengendalian dalam konsep PHT

Habitat Mikroba Berguna dalam PHT

Iklim wilayah Indonesia yang tidak banyak berbeda sepanjang tahun menjadikan negara kita satu diantara negara yang menyimpan keragaman hayati yang sangat berharga dan perlu dikelola secara benar dan efektif. Sayangnya kesadaran akan hal ini justru muncul dari banyak pakar keragaman hayati luar

negri yang begitu prihatin terhadap pengelolaan keragaman hayati di Indonesia. Salah satu yang perlu menjadi perhatian kita adalah Mikroorganisme berguna yang akan kita manfaatkan secara maksimal didalam sistem PHT. Secara keseluruhan habitat hidup mikroorganisme yang banyak berperan di dalam pengendalian hayati adalah di dalam tanah disekitar akar tumbuhan (rizosfir) atau di atas daun, balang, bunge, dan buah (fillosfir). Mikroorganisme yang bisa hidup pada daerah rizosfir sangat sesuai digunakan sebagai agen pengendalian hayati ini mengingat bahwa rizosfir adalah daerah yang utama dimana akar tumbuhan terbuka terhadap serangan patogen. Jika terdapat mikroorganisme antagonis pada daerah ini patogen akan berhadapan selama menyebar dan menginfeksi akar. Keadaan ini disebut hambatan alamiah mikroba dan jarang dijumpai, mikroba antagonis ini sangat potensial dikembangkan sebagai agen pengendalian hayati (Weller 1988).

Mekanisme Pengendalian Hayati

Beberapa mekanisme pengendalian hayati, antara lain adalah sebagai berikut :

1. Antagonisme

Antagonis adalah mikroorganisme yang mempunyai pengaruh yang merugikan terhadap mikroorganisme lain yang tumbuh dan berasosiasi dengannya. Antagonisme meliputi (a) kompetisi nutrisi atau sesuatu yang lain dalam jumlah terbatas tetapi diperlukan oleh OPT, (b) antibiosis sebagai hasil dari pelepasan antibiotika atau senyawa kimia yang lain oleh mikroorganisme dan berbahaya bagi OPT dan (c) predasi, hiperparasitisme, mikroparasitisme

atau bentuk yang lain dari eksploitasi langsung terhadap OPT oleh mikroorganisme yang lain.

2. Ketahanan Terimbas.

Ketahanan terimbas adalah ketahanan yang berkembang setelah tanaman diinokulasi lebih awal dengan elisitor biotik (mikroorganisme avirulen, non patogenik, saprofit) dan elisitor abiotik (asam salisilik, asam 2-kloroetil fosfonik) Buncis yang diimbas dengan *Colletotrichum lindemuthianum* ras non patogenik menjadi tahan terhadap ras patogenik (Agrios, 1988; Elliston *et al*, 1971; Lyon dan Newton, 1971).

3. Proteksi Silang.

Tanaman yang diinokulasi dengan strain virus yang lemah hanya sedikit menderita kerusakan, tetapi akan terlindung dari infeksi strain yang kuat. Strain yang dilemahkan antara lain dapat dibuat dengan pemanasan *in vivo*, pendinginan *in vivo* dan dengan asam nitrit. Proteksi silang sudah banyak dilakukan, di banyak negara, antara lain Taiwan dan Jepang.

Pengendalian hayati terhadap bakteri tanaman sudah maju penelitiannya, misalnya untuk *Agrobacterium tumefaciens* yang avirulen, digunakan *A. radiobacter* yang avirulen. Pupuk organik yang mengandung nitrogen 5 persen atau lebih untuk menekan penyakit layu *Xanthomonas solanacearum* pada tembakau. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri pada jahe disebabkan oleh *Pseudomonas solanacearum* antara lain: rotasi tanaman (2-3 tahun), menggunakan pupuk kandang yang matang dan pengaturan drainase kebun yang baik.

2.3 Pemanfaatan Kompos Dalam Pengendalian Penyakit Tanaman

Pengomposan merupakan proses penguraian senyawa-senyawa yang terkandung dalam sisa-sisa bahan organik (seperti jerami, daun-daunan, sampah rumah tangga dan sebagainya) dengan suatu perlakuan khusus. Tujuannya agar lebih mudah dimanfaatkan oleh tanaman. Hasil pengomposan inilah yang biasa disebut pupuk kompos (Hieronymus, 1999).

Kompos paling tidak mempunyai dua fungsi sebagai berikut :

1. Soil conditioner, yaitu berfungsi memperbaiki struktur tanah, terutama bagi tanah kering dan ladang.
2. Soil ameliorator, yaitu berfungsi mempertinggi kemampuan penukaran kation (KPK) baik pada tanah ladang maupun tanah sawah.

Kompos oleh petani sudah lama dikenal sebagai salah satu komponen “sustainable agriculture” dalam hal ini adalah pertanian organik. Produk pertanian organik pun di masyarakat modern saat ini sangat dihargai dengan harga yang lebih baik dibandingkan dengan pertanian biasa. Masalahnya adalah penggunaan kompos tentunya membutuhkan berton-ton kompos per hektar, sehingga saat ini sangat menyulitkan dalam hal transportasi dan aplikasinya. Untuk itu beberapa peneliti telah mengembangkan teknologi baru kompos, yakni ekstrak kompos.

Persyaratan Dalam Pengomposan

1. Perbandingan C/N dari Bahan Antara

Menurut Pfirtel et al (1982), di dalam bahan organik baik itu berasal dari tumbuhan atau dari binatang, cukup unsur hara makro dan mikro dalam

perbandingan yang seimbang, untuk dapat bekerja dengan baik mikroorganisme di dalam proses pengomposan. Hal ini sangat penting diperhatikan karena akan banyak berhubungan dengan terbentuknya perbandingan C/N yang seimbang.

Spohn (1975) menyebutkan suatu perbandingan C/N yang baik dari proses pengomposan adalah 20-30 : 1. Penulis lain juga menyatakan, seperti Gotaas (1956) dan Haug (1980), bahwa nilai perbandingan C/N dari 26-31 : 1 atau 30-35 : 1 sebagai suatu hal yang cukup, dengan catatan bahwa kandungan karbon (C) yang tinggi masih dalam batas kewajaran jika ikatan karbon (C) dalam keadaan instabil, artinya kandungan karbon tersebut mudah digunakan oleh mikroorganisme.

2. Hubungan Kelembaban dan Udara (O_2)

Menurut Konemann (1981) hubungan antara O_2 dan kelembaban dari suatu proses pengomposan memegang peranan yang sangat penting. Kelembaban yang tinggi, seperti pada kondisi hujan pada suatu pengomposan terbuka menyebabkan udara terdesak oleh kandungan air, sehingga menyebabkan kondisi anaerob dengan sendirinya temperatur menjadi sangat rendah. Sebaliknya jika kelembaban terlalu rendah, kehidupan mikroorganisme mengalami stagnasi. Haug (1980) melaporkan kelembaban minimum dari suatu proses pengomposan adalah 20 % untuk terjadinya suatu aktivitas mikroorganisme yang baik. Sedangkan suatu kelembaban yang optimal, menurut Haug (1980) tidak dapat ditetapkan. Hal ini sangat tergantung pada bahan apa yang dikomposkan tersebut. Sebagai contoh bahan

material seperti jerami dan arting kayu, pada kelembaban 75%-90% belum terjadi keadaan anaerob, sedangkan pada material seperti hijauan tanaman ataupun bahan-bahan yang sudah membusuk optimal kelembaban adalah 50%-55%.

Peranan Penting Mikroorganisme pada Pengomposan

Mikroorganisme memegang peranan penting pada proses pengomposan, hal ini tercermin dari populasi grup mikroorganisme tersebut. Pfirtel et al (1982) memberikan jumlah grup bakteri $10^6 - 10^{10}$ cfu (colony forming units) setiap gram kompos. Lebih lanjut disebutkan $10^4 - 10^8$ cfu dari grup aktinomicetes dan $10^4 - 10^6$ cfu dari grup bakteri. Hasil yang sama juga ditemukan Stindt (1990), yaitu dari grup mikroorganisme bakteri, aktinomycetes dan cendawan di dalam ekstrak kompos.

Komposisi dari populasi mikroorganisme dari suatu proses pengomposan pertama kali tergantung dari temperature. Pada suatu proses pengomposan ditandai dengan meningkatnya secara cepat pada hari-hari pertama. Menurut Gottschall (1988), fase ini berlangsung selama 1-2 hari yang disebut sebagai fase mesofil. Kemudian temperature meningkat sampai 50° C, hal ini disebut fase termofil. Fase termofil ini berlangsung beberapa minggu. Temperature kemudian turun dibawah 50° C, hal ini kembali kepada fase mesofil sampai temperatur di dalam kompos tersebut sama dengan temperatur di sekelilingnya. Pada kondisi demikian ini kompos sudah dalam keadaan matang. Dari perbedaan toleransi temperature dari mikroorganisme dapat diketahui juga perbedaan grup mikroorganisme selama proses pengomposan. Kane dan Mullins, 1973 dalam

Amin (1997) mengisolasi selama 11 hari umur kompos dari suatu kompos rumah tangga dan didapatkan sebanyak 304 isolat cendawan termofil. Dari isolate cendawan termofil ini sebanyak 120 isolat diidentifikasi dalam genus *Mucor*, 97 isolat dalam genus *Aspergillus*, 78 isolat dalam genus *Humicola*, 6 isolat diidentifikasi sebagai *Thermoascus aurantiacus*, 2 sebagai *Torula thermophila* dan 1 isolat diidentifikasi *Chaetomium thermophile*.

Khusus peranan dari aktinomicetes selama proses pengomposan dilaporkan oleh Goodfellow dan Williams (1983) dalam Amin (1997). Mereka berhasil mengidentifikasi beberapa genus aktinomicetes selama proses pengomposan sebagai berikut : Saccharomonospora, Mikropolyspora, Pseudonocardia, Streptomyces dan Thermomonospora sebagai fakultatif aktinomicetes yang bersifat obligat.

Gotschall (1988) menerangkan tentang pentingnya bakteri terutama pada fase termofil. Temperature yang lebih besar dari 50⁰ C menyebabkan tidak adanya satupun mikroorganisme yang dapat hidup pada proses pengomposan ini kecuali bakteri. Pendapat yang sama dikemukakan oleh peneliti lain yang mendapatkan bahwa hanya bakteri yang berbentuk spora yang mampu bertahan selama fase termofil.

Pengaruh Fitohigenis pada Penggunaan Kompos sebagai Pupuk dan dalam Bentuk Ekstrak Kompos

Kompos yang di berikan dalam tanah mempunyai pengaruh potensi sebagai anti fitopatogen. Hal ini di tunjukkan pada penelitian rumah kaca dan lapangan terhadap penyakit akargada pada tanaman kubis *Plamodiophora*

brassicae.pemberian kompos di tanah dapat mengimnisi serangan dari pathogen ini (Milner et al , 1982).

Milner at al (1982) mengemukakan bahwa pemberian kompos di dalam tanah dapat mengurangi berbagai macam patogentanaman dari berbagai macam penyakit tanaman. Dari berbagai macam inang tanaman di dapatkan suatubeda nyata antara pemberian kompos terhadap beberapa patogen tanaman diantaranya *Aphanomyces solani*, *Rhizoctonia solani*, *P.myriotylum*, *P.capsici*, *Sclerotium minor* dan *F. oxysforum f.sp. melonis*.

Pengaruh penekanan patogen dari kompos adalah karena adanya perubahan sifat fisik kultursubstrak di dalam kompos, seperti pori-pori sehingga memperbaiki aliran udara dan air di dalam kompos. Begitupula terjadi pengaruh kimia, semacam suatu senyawa penghambat ataupun patogen tertekan karena nilai pH yang tidak menguntungkanbagi patogen tersebut. Tapi dapat pula karena pengaru antagonistik sebagai hasil kerja microorganisme di dalam kompos seperti patogen tersebut menjadi tertekan (Amin, 1997).

Mengenai peranan penting dari ekstrak kompos perlindungan tanaman khususnya dalam penanggulangan berbagai penyakit tanaman telah dibuktikan oleh berbagai penelitian. Grossmann (1954) membuktikan secara in vitro penghambatan pertumbuhan miselium cendawan *Ophiobolusngraminis* melalui aplikasi ekstrak kompos. Penghambatan sporangia dari patogen *Phytophthora cinnamomi* setelah pemberian ekstrak kompos (Rao et al, 1977). Spring et al (1980) membuktikan ekstrak kompos yang disterilisasi masih mempunyai

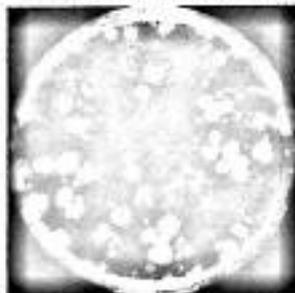
kemampuan penghambatan terhadap *Phytophthora cactorum*, dimana terjadi penghambatan sporangia dan lisis dari zoospore cendawan tersebut.

Aplikasi ekstrak kompos pada daun dari bermacam-macam sumber kompos dapat mengurangi serangan *Phytophthora infestans* pada tanaman kentang. Dalam aplikasi terhadap buah telah dibuktikan juga, ekstrak kompos dapat mengurangi serangan *Botrytis cinerea* pada strawberry (Ketterer, 1990)

Beberapa penulis mempunyai berbagai pendapat yang berbeda terhadap pengaruh penghambatan dari ekstrak kompos terhadap berbagai macam patogen tanaman. Tetapi satu hal yang sangat elementer dalam berbagai pendapat tersebut bahwa tidak dapat dipungkiri dalam sistem inang-patogen-mikroorganisme antagonistic, bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme antagonistik tersebut selama proses pengomposan berlangsung merupakan hal yang penting dalam menghambat ataupun menurunkan intensitas serangan suatu penyakit tanaman.

2.4 Bakteri Antagonis *Pseudomonas fluorescens* Migula

Kelas	: Psilopsida
Ordo	: Psilotales
Family	: Psilotaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: Pseudomonas fluorescens



Gambar 1. *Pseudomonas flourescens* pada medium King's B

Morfologi dan Pencirian

Bakteri berbentuk batang lurus atau agak lengkung, berukuran $(0,5-1,0) \times (1,5-5,0) \mu\text{m}$, tidak spiral, bergerak dengan satu atau beberapa flagellum polar, dan bersifat gram negatif (Soesanto. L, 2008). Koloni bakteri berbentuk bulat, tepi rata, fluidal dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B. Pigmen tersebut membedakan bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *Pseudomonas fluorescens* dengan kelompok lain. Medium King's B merupakan medium yang sedikit mengandung ion Fe (Sands, 2001), sehingga bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *Pseudomonas fluorescens* akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Siderofor dapat dideteksi dengan adanya pigmen warna kuning kehijauan yang berdifusi ke dalam medium King's B. Pigmen yang berdifusi ke dalam medium menjadi lebih jelas terlihat apabila diamati di bawah lampu ultraviolet dengan gelombang panjang (365 nm)(Gambar 1). Secara individu, bakteri berbentuk batang dengan ukuran $0,5-1,0 - 1,5-4,0 \text{ m}$.



Gambar 2. *Pseudomonas fluorescens* dilihat dengan mikroskop elektron
Fisiologi

Pseudomonas fluorescens memperbanyak diri pada permukaan akar dan dapat mencapai 800 juta sel per sistem perakaran. Jumlah ini jauh lebih banyak daripada perbanyakan *Azotobacter*, yang hanya mencapai jumlah 40.000 sel per sistem perakaran pada tanaman tomat. Jumlah sel bakteri maupun jarak lokasi

Morfologi dan Pencirian

Bakteri berbentuk batang lurus atau agak lengkung, berukuran $(0,5-1,0) \times (1,5-5,0) \mu\text{m}$, tidak spiral, bergerak dengan satu atau beberapa flagellum polar, dan bersifat gram negatif (Soesanto. L, 2008). Koloni bakteri berbentuk bulat, tepi rata, fluidal dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B. Pigmen tersebut membedakan bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *Pseudomonas fluorescens* dengan kelompok lain. Medium King's B merupakan medium yang sedikit mengandung ion Fe (Sands, 2001), sehingga bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *Pseudomonas fluorescens* akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Siderofor dapat dideteksi dengan adanya pigmen warna kuning kehijauan yang berdifusi ke dalam medium King's B. Pigmen yang berdifusi ke dalam medium menjadi lebih jelas terlihat apabila diamati di bawah lampu ultraviolet dengan gelombang panjang (365 nm)(Gambar 1). Secara individu, bakteri berbentuk batang dengan ukuran $0,5-1,0 - 1,5-4,0 \text{ m}$.



Gambar 2. *Pseudomonas fluorescens* dilihat dengan mikroskop elektron
Fisiologi

Pseudomonas fluorescens memperbanyak diri pada permukaan akar dan dapat mencapai 800 juta sel per sistem perakaran. Jumlah ini jauh lebih banyak daripada perbanyakan *Azotobacter*, yang hanya mencapai jumlah 40.000 sel per sistem perakaran pada tanaman tomat. Jumlah sel bakteri maupun jarak lokasi

bakteri di rizosfer dapat dipelajari melalui sistem model, yang pertama kali dikembangkan oleh Chan dan Katznelson pada tahun 1961.

Bakteri antagonis ini mempunyai keragaman tipe koloni, yang dapat diamati pada beragam medium khusus bakteri. Adanya keragaman kenampakan koloni ini dapat menjadi bahan identifikasi bakteri antagonis ini.

Tabel 1. Sifat pertumbuhan Pseudomonad pada beragam medium komersial (Stolp and Gadkari, 1983)

	Perusahaan				Tipe koloni Pseudomonas
	Merck	Difco	Oxoid	BBL	
1. Brolacin agar	-	-	C.L.E.D medium	-	Biru hijau gelap
2. Ceftrimide agar	-	-	-	Pseudosel agar	Berpendar
3. GSP agar	-	-	-	-	Besar, diameter 2-3 mm, biru ungu, menjadi merah ungu di sekelilingnya
4. Pseudomona s agar	Pseudomonas agar P	-	-	-	Berpendar, dihasilkan pyocianin
5. Pseudomona s agar F;	Pseudomonas agar F	-	-	-	Berpendar,

King's agar	XLD agar	XLD		kuning-hijau
B	MacConkey	medium	XLD agar	
6. XLD agar	agar	MacConkey	MacConkey	Merah bening
7. MacConkey	DCLS agar	agar No.3	agar	Tak berwarna
agar	TSI agar	DCLS agar		sampai coklat
8. DCLS agar		TSI agar	DCLS agar	Coklat
9. TSA agar			TSA agar	Tidak
				mengubah
				warna asli, atau
				warna berubah
				menjadi merah
				kuat

Ekologi

Bakteri umumnya dijumpai pada tanah di sekitar rizosfer tanaman dan mempunyai sebaran luas pada tanah tropika dengan suhu baik. Di samping itu, bakteri dapat diisolasi dari air, lingkungan laut, dan habitat lain selain dari tanah. Bakteri *P. fluorescens* sangat efektif dan agresif sebagai pengkoloni akar dibandingkan kelompok bakteri yang nonfluorescens. Semakin lama bakteri bertahan mengkoloni permukaan akar tanaman, semakin tinggi daya perlingkungannya dari mikroba patogen. Hal ini berkaitan erat dengan perlindungan permukaan akar tanaman dari pengkolonian mikroba patogen

tanaman. Bakteri *P. fluorescens* mempunyai sifat PGPR, yang nyata memacu pertumbuhan tanaman pada kondisi lahan yang baik. Bakteri juga menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan patogen, terutama patogen tular tanah, dan mempunyai kemampuan mengkoloni akar tanaman. Bakteri mempunyai tipe interaksi dengan patogen berupa persaingan hara, penghasil antibiotika, siderofor, dan asam sianida (Soesanto. L, 2008).

Di samping itu, kelompok *Pseudomonas* yang berfluorescens ini mampu menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan terhadap mikroorganisme kompetitor lain seperti HCN, asam salisilat, pluoluterin, monoacetyl phloroglucinol dan siderofor. *P. fluorescens* yang berpotensi untuk menekan penyakit tanaman dan meningkatkan pertumbuhan tanaman, sehingga dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati beberapa jenis penyakit. *P. fluorescens* mampu mengkoloni dan beradaptasi dengan baik pada akar tanaman serta menggunakan eksudat akar untuk mensintetis metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktifitas patogen atau memacu ketahanan sistemik dari tanaman terhadap patogen (Kwong dan Huang, 1997).

Sifat Fisiologi dan Biokimia

Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluorescens* yang telah diuji. Semua isolat yang diuji bersifat Gram negatif, membentuk enzim katalase, oksidase positif, memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob), mampu menghidrolisa pati dan arginin, membentuk enzim gelatinase, melakukan denitrifikasi, tidak mengakumulasi poly- - hydroxybutirate.

Bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens* membentuk pigmen berpendar, yang dikenal dengan nama *fluorescein*. Akan tetapi, sekarang lebih banyak digunakan istilah *pyoverdin* untuk menghilangkan kebingungan dengan *fluoresceins* yang disintesis secara kimia, yaitu *resorcinolphthalein*. *Pyoverdin* terdiri atas peptida 5-8 asam amino dan kromofor turunan kuinolin yang berberat molekul sekitar 1.000. *Pyoverdin* mempunyai kemampuan sebagai senyawa pengikat besi dan pengangkut besi atau siderofor.

Secara garis besar, metabolik sekunder yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens* memegang peranan penting dalam pengendalian hayati penyakit tanaman. Salah satu perannya adalah sebagai siderofor yang memperlihatkan pengaruh fungistasis dan bakteristasis di laboratorium pada kondisi zat besi yang rendah. Beberapa kelompok metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens* adalah :

1. Kelompok lemak atau senyawa pio ;
 - a) 2-n-pentil-4-kuinolinol
 - b) Pio Ib = pseudan VII
 - c) Pio Ic = pseudan IX
 - d) Δ' -pseudan VII
 - e) Pio III = Δ' -pseudan IX
 - f) 2-alkil-4-hidroksikuinolin N-oksida
 - g) 2-(2-heptenil)-3-metil-4-kuinolinol
 - h) Lemak-ramno
 - i) Asam piolipat

- j) Senyawa B
 - k) Jarvis lemak-ramno
 - l) Senyawa A
2. Kelompok fenazin ;
- a) Piosianin
 - b) Hemipiosianin
 - c) Idoinin
 - d) Asam fenazin-1-karboksilat (tubermisin B)
 - e) Piovanin
 - f) Klororafin
 - g) Oksiklororafin
 - h) Aeruginosin A+B
3. Kelompok pirol ;
- a) Pioluteorin
 - b) Fenilpirol
 - c) Pirolnitritin
 - d) Isopirolnitritin
 - e) Aminopirolnitritin
 - f) Oksipirolnitritin
 - g) Asam 4-(2'-amino-3'-klorofenil)pirol-2-karboksilat
4. Kelompok indol ;
- a) 3-kloroindol
 - b) Indol-3-karboksaldehida

- c) 6-bromoindol-3-karboksaldehida
 - d) Asam 7-kloroindolasetat
 - e) indolakriloisonitril
5. Kelompok asam amino dan peptida ;
- a) Asam -2-amino-4-metoksi trans-3-buteonat
 - b) 0-etilhomoserin
 - c) Tahapotoksin A
 - d) Tahapotoksin
 - e) Tabtoksin
 - f) Isotabtoksin
 - g) Tabtoksinin
 - h) Tabtoksinin- β -laktam
 - i) Tabtoksinin- δ -laktam
 - j) Koronatin
 - k) Proferrosamin
 - l) Pirimin
 - m) Viskosin
6. Kelompok pterin ;
- a) Pterin
 - b) 6-aminopterin
 - c) 6-hidroksimetilpterin
 - d) Monopterin
 - e) Ribililumazin

- f) 6-metil- Ribililumazin
 - g) 6-(p-hidroksifenil)-ribililumazin
 - h) 6-(3-indolil)- ribililumazin
7. Kelompok aneka senyawa antibiotika ;
- a) Asam sianhidrat
 - b) Asam aerugenoat
 - c) Magnesidin
 - d) Asam pseudomonat
 - e) Asam pseudomonat a
 - f) Asam pseudomonat b
 - g) Antibiotika p-2563
 - h) p-2563 (A)
 - i) p-2563 (P)
 - j) amino-2-asetofenon
 - k) c-asetil floroglusinol
 - l) antibiotika DB-2073 (alkilresorsinol)
 - m) fluopsin C + F
 - n) sorbistin A1 + B
 - o) asam salisilat
8. Kelompok siderofor ;
- a) Piokelin
 - b) Pioverdin
 - c) Pseudobaktin B10, M114, A214, 7SRI, A112, B117

- d) Ferribaktin
- e) Fitosiderofor
- f) Ferrikrom
- g) Feeroksamin B

9. Asam indol- 3-asetat

Dari sekian banyak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens*, hanya beberapa yang berperan penting di dalam pengendalian hayati. Metabolit sekunder tersebut termasuk di dalam kelompok siderofor, pterin, pirol, fenazin, dan aneka senyawa antibiotika. Metabolit sekunder tertentu berperan di dalam membunuh secara langsung atau hanya menghambat aptogen. Akan tetapi, pengaruh metabolik sekunder ini umumnya menunjukkan keberhasilannya di laboratorium, sedangkan hal ini tidak dapat langsung diterjemahkan ke dalam pengendalian hayati di lapang. Meskipun demikian, ada beberapa metabolik sekunder yang berpengaruh ketika diterapkan di tanah. Misalnya, penekanan patogen akar oleh PGPR.

Pada bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens* menghasilkan metabolik yang mempunyai berat molekul rendah, yang berperan sebagai agensia anti jamur. Secara normal, metabolit dihasilkan secara in-situ, yaitu pada permukaan akar. Misalnya asam fenazin-1-karboksilat (PCA) diisolasi dari rizosfer yang di koloni oleh strain agensia bakteri penghasil metabolit. Senyawa yang mudah menguap, seperti HCN dan amonium, juga di hasilkan oleh bakteri rizosfer yang penting peranannya dalam mengendalikan hayati. Beberapa spesies *Pseudomonas* dapat menghasilkan tingkat HCN yang tinggi akan menyebabkan toksinterhadap

jamur patogen tertentu, misalnya *Thielaviopsis basicola*, penyebab penyakit busuk akar hitam pada tembakau. Akan tetapi, konsentrasi HCN yang tinggi akan menyebabkan toksin terhadap beberapa tanaman, dan hal ini yang diduga menjadi penyebab penurunan produksi tanaman tertentu, misalnya kentang.

Antibiotika floriglusinol dan pioluteorin sangat berguna karena bertanggung jawab terhadap pencegahan penyakit rebah semai pada tanaman kapas. Selain itu, antibiotika fluoroglusinol, tepatnya 2,4-diasetilfloriglusinol, terbukti mampu menurunkan bahkan menghambat perkecambahan microsclerotium jamur patogen *Verticillium dahliae*, penyebab penyakit layu *Verticillium* pada kentang. Sementara itu, asam salisilat merupakan bahan pembentuk piokelindan siredofor, serta juga berperansebagai hormon tanaman dan pengimbas ketahanan tanaman yang di perlukan secara sistematis (SAR).

2.5 Peranan *Pseudomonas fluorescens* dalam Pengendalian Hayati

Bakteri dilaporkan bisa menekan pertumbuhan patogen dalam tanah secara alamiah, beberapa genus yang banyak mendapat perhatian yaitu *Agrobacterium*, *Bacillus*, dan *Pseudomonas*. *Pseudomonas* merupakan salah satu genus dari Famili *Pseudomonadaceae*. Bakteri ini berbentuk batang lurus atau lengkung, ukuran tiap sel bakteri 0.5-0.1 μm x 1.5-4.0 μm , tidak membentuk spora dan bereaksi negatif terhadap pewarnaan Gram. *Pseudomonas* terbagi atas grup, diantaranya adalah sub-grup berpendarfluor (Fluorescent) yang dapat mengeluarkan pigmen phenazine (Brock & Madigan 1988).

Kebolehan menghasilkan pigmen phenazine juga dijumpai pada kelompok tak berpendarfluor yang disebut sebagai spesies *Pseudomonas multivorans*.

Sehubungan itu maka ada empat spesies dalam kelompok Fluorescent yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescent*, *P. putida*, dan *P. multivorans* (Stanier et al 1965). *Pseudomonas* sp. telah diteliti sebagai agen pengendalian hayati penyakit tumbuhan (Hebbar et al. 1992; Weller 1983).

Diseluruh dunia perhatian kepada golongan bakteri *Pseudomonas* sp. ini dimulai dari penelitian yang dilakukan di University of California, Barkeley pada tahun 70-an. Burr et al (1978) dan Kloepper et al (1980) mengatakan bahwa strain *P. fluorescens* dan *P. putida* yang diaplikasikan pada umbi kentang telah menggalakkan pertumbuhan umbi kentang. Schroroth dan Hancock (1982) mengatakan bahwa pseudomonad pendarfluor meningkatkan hasil panen umbi kentang 5-33%, gula beet 4-8 ton/ha. dan menambah berat akar tumbuhan radish 60-144%. Strain ini dan strain-strain yang sama dengannya disebut sebagai rizobakteri perangsang per tumbuhan tanaman (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR). Sebutan sebagai rizobakteri pada bakteri *Pseudomonas* spp. sehubungan dengan kemampuannya mengkoloni disekitar akar dengan cepat (Schroroth & Hancock 1982).

Kloepper dan Schroth (1978) mengatakan bahwa kemampuan PGPR sebagai agen pengendalian hayati adalah karena kemampuannya bersaing untuk mendapatkan zat makanan, atau karena hasil-hasil metabolit seperti siderofor, hidrogen sianida, antibiotik, atau enzim ekstraselluler yang bersifat antagonis melawan patogen (Kloepper & Schroth. 1978; Thomashow & Weller 1988; Weller 1988).

Wei et al. (1991) mengatakan bahwa perlakuan benih timun menggunakan strain PGPR menyebabkan ketahanan sistemik terhadap penyakit antraknosa yang disebabkan *Colletotrichum orbiculare*. Alstrom (1991) menyebutkan aplikasi *P. fluorescens* strain S97 pada benih kacang telah menimbulkan ketahanan terhadap serangan penyakit hawar disebabkan *P. syringe* pv. *phaseolicola*. Maurhofer et al. (1994) mengatakan *P. fluorescens* strain CHAO menyebabkan ketahanan pada tumbuhan tembakau terhadap serangan virus nekrotik tembakau.

Baru-baru ini telah dibuktikan bahwa *Pseudomonas* spp. dapat menstimulir timbulnya ketahanan tanaman terhadap infeksi jamur patogen akar, bakteri dan virus (Van Peer et al 1991; Wei et al. 1994; Zhou et al. 1992; Alstrom 1991). Leeman et al. (1995) menyatakan bahwa ekstrak lipopolisakarida (LPSs) dari membran luar *P. fluorescens* WCS417 menyebabkan ketahanan sistemik terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* pada tumbuhan bunga carnation. Voisard et al (1989) mendapati bahwa sianida yang dihasilkan *P. fluorescens* strain CHAO merangsang pembentukan akar rambut pada tumbuhan tembakau dan menekan pertumbuhan *Thielaviopsis basicola* penyebab penyakit busuk akar, diduga bahwa sianida mungkin penyebab timbulnya ketahanan sistemik (ISR). Maurhofer et al (1994) mengatakan bahwa siderofor pyoverdine dari *P. fluorescens* strain CHAO adalah sebab timbulnya ketahanan sistemik pada tumbuhan tembakau terhadap infeksi virus nekrosis tembakau.

Perlakuan bakteri pada benih tumbuhan lobak dan umbi kentang menggunakan *P. fluorescens* strain WCS374 menunjukkan pengaruh pertumbuhan yang nyata (Geels & Schippers 1983). Sedangkan *P. putida* strain WCS374 telah

meningkatkan pertumbuhan akar dan produksi umbi kentang (Baker et al 1987; Geels & Schippers 1983). Leemon et al. (1995) mengatakan bahwa siderofor dari *P. fluoresces* WCS374 dapat berperan sebagai perangsang pertumbuhan tumbuhan dan menekan pertumbuhan *F. oxysporon* f sp. *raphani* penyebab penyakit layu Fusarium pada tumbuhan lobak. Hambatan terhadap penyakit layu Fusarium pada tumbuhan carnation diduga disebabkan persaingan terhadap unsur besi (Duijff 1993). Wei et al. (1991) mengatakan bahwa ketahanan sistemik akan terjadi pada timun terhadap infeksi *Colletotrichum orbiculare* setelah inokulasi benih timun dengan strain PGPR Alstrom (1991) mengatakan bahwa perlakuan benih kacang dengan *P. Fluorescens* strain S97 menyebabkan ketahanan sistemik terhadap infeksi *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Zhou et al. (1992) dan Zhou dan Paulitz (1994) mengntakan bahwa strain *Pseudomonas* spp. menyebabkan ketahanan sistemik tumbuhan timun terhadap *Pythium aphanidetmatum*. Contoh-contoh PGPR yang mampu berperan sebagai agen penyebab ketahanan sistemik tersebut di atas adalah karena perlakuan akar, tanah, atau biji dengan rizobakteri.

Mekanisme kerja dari agen pengendalian hayati umumnya digolongkan sebagai persaingan zat makanan, parasitisme, dan antibiosis (Fravel 1988; Weller 1988). Peranan antibiotik dalam pengendalian hayati telah dikaji oleh Siminoff dan Gottlieb (1951). Penelitian mereka menunjukkan bahwa kemampuan *Streptomyces griseus* pengeluar antibiotik streptomisin dan strain mutasi yang tidak menghasilkan antibiotik dalam menekan pertumbuhan *Bacillus subtilis* ternyata tidak berbeda tingkat antagonisnya, penelitian ini telah membuat

Siminoff dan Gottlieb (1951) berkesimpulan bahwa antibiotik bukan satu-satunya penyebab timbulnya antagonis.

Kemajuan dalam rekayasa genetik telah membolehkan penelitian terhadap mutan dijalankan dengan lebih akurat dan terperinci sehingga banyak hipotesis tentang antibiotik telah dibuktikan, misalnya *Pseudomonas fluorescens* adalah agen pengendalian hayati penyakit take-all pada gandum yang disebabkan *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Bakteri ini terbukti menghasilkan antibiotik phenazin yang menekan pertumbuhan *G. graminis* dalam pengendalian hayati (Thomashow & Weller 1987; Thomashow et al. 1986; Weller et al. 1985).

Howell dan Stipanovic (1979) telah mengidentifikasi antibiotik pyrrolnitrin (3-chloro-4-[2'-nitro-3'-chloro-phenyl]-pyrrole) dari kultur *P. fluorescens*. Pada penetiannya, antibiotik ini sangat efektif menekan pertumbuhan *Rhizoctonia solani*, patogen penyebab penyakit rebah kecambah pada anak tanaman kapas. Antibiotik ini juga menekan pertumbuhan jamur lain yang berinteraksi dengan penyakit rebah kecambah diantaranya *Thielaviopsis basicola*, *Alternaria* sp., *Verticillium dahliae*, dan beberapa jenis *Fusarium*, bagaimanapun dikatakan bahwa antibiotik ini tidak berpengaruh terhadap *Pythium ultimum*. Selanjutnya Howell dan Stipanovic (1979) mengatakan bahwa perlakuan bakteri *P. fluorescens* pada tanah yang terkontaminasi *R. solani* telah menambah ketahanan anak tanaman kapas terhadap patogen tersebut 30-79 persen, sedangkan perlakuan antibiotik pyrrolnitrin menambah ketahanan 13-70 persen. Ini berarti bakteri *P. fluorescens* berpotensi sebagai agen pengendalian hayati penyakit

tumbuhan. *Pseudomonas sp.* telah diteliti sebagai agen pengendalian hayati penyakit tumbuhan (Hebbar et al. 1992; Weller 1983).

Diseluruh dunia perhatian kepada golongan bakteri *Pseudomonas sp.* ini dimulai dari penelitian yang dilakukan di University of California, Berkeley pada tahun 70-an. Burr et al (1978) dan Kloepper et al (1980) mengatakan bahwa strain *P. fluorescens* dan *P. putida* yang diaplikasikan pada umbi kentang telah menggalakkan pertumbuhan umbi kentang. Schroroth dan Hancock (1982) mengatakan bahwa pseudomonad pendarfluor meningkatkan hasil panen umbi kentang 5-33%, gula beet 4-8 ton/ha dan menambah berat akar tumbuhan radish 60-144%. Strain ini dan strain-strain yang sama dengannya disebut sebagai rizobakteri perangsang per tumbuhan tanaman (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*, PGPR). Sebutan sebagai rizobakteri pada bakteri *Pseudomonas spp.* sehubungan dengan kemampuannya mengkoloni disekitar akar dengan cepat (Schroroth & Hancock 1982). Kloepper dan Schroth (1978) mengatakan bahwa kemampuan PGPR sebagai agen pengendalian hayati adalah karena kemampuannya bersaing untuk mendapatkan zat makanan, atau karena hasil-hasil metabolit seperti siderofor, hidrogen sianida, antibiotik, atau enzim ekstraselluler yang bersifat antagonis melawan patogen (Kloepper & Schroth. 1978; Thomashow & Weller 1988; Weller 1988). Wei et al. (1991) mengatakan bahwa perlakuan benih timun menggunakan strain PGPR menyebabkan ketahanan sistemik terhadap penyakit antraknosa yang disebabkan *Colletotrichum orbiculare*. Alstrom (1991) menyebutkan aplikasi *P. flurescens* strain S97 pada benih kacang telah menimbulkan ketahanan terhadap serangan penyakit hawar

disebabkan *P. syringe* pv. *phaseolicola*. Maurhofer et al. (1994) mengatakan *P. fluorescens* strain CHAO menyebabkan ketahanan pada tumbuhan tembakau terhadap serangan virus nekrotik tembakau. Baru-baru ini telah dibuktikan bahwa *Pseudomonas spp* dapat menstimulir timbulnya ketahanan tanaman terhadap infeksi jamur patogen akar, bakteri dan virus (Van Peer et al 1991; Wei et al. 1994; Zhou et al. 1992; Alstrom 1991). Leeman et al.(1995) menyatakan bahwa ekstrak lipopolisakarida (LPSs) dari membran luar *P. fluorescens* WCS417 menyebabkan ketahanan sistemik terhadap infeksi *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* pada tumbuhan bunga *carnation*. Voisard et al (1989) mendapati bahwa sianida yang dihasilkan *P. fluorescens* stroin CHAO merangsang pembentukan akar rambut pada tumbuhan tembakau dan menekan pertumbuhan *Thielaviopsis basicola* penyebab penyakit busuk akar, diduga bahwa sianida mungkin penyebab timbulnya ketahanan sistemik (ISR). Maurhofer et al (1994) mengatakan bahwa siderofor pyoverdine dari *P. fluorescens* strain CHAO adalah sebab timbulnya ketahanan sistemik pada tumbuhan tembakau terhadap infeksi virus nekrosis tembakau. Perlakuan bakteri pada benih tumbuhan lobak dan umbi kentang menggunakan *P. fluorescens* strain WCS374 menunjukkan pengaruh pertumbuhan yang nyata (Geels & Schippers 1983). Sedangkan *P. putida* strain WCS374 telah meningkatkan pertumbuhan akar dan produksi umbi kentang (Baker et al 1987; Geels & Schippers 1983). Leemon et al. (1995) mengatakan bahwa siderofor dari *P. fluoresces* WCS374 dapat berperan sebagai perangsang pertumbuhan tumbuhan dan menekan pertumbuhan *F. oxysporon f sp. raphani* penyebab penyakit layu *Fusarium* pada tumbuhan lobak. Hambatan terhadap

penyakit layu *Fusarium* pada tumbuhan *carnation* diduga disebabkan persaingan terhadap unsur besi (Duijff 1993). Wei et al. (1991) mengatakan bahwa ketahanan sistemik akan terjadi pada timun terhadap infeksi *Colletotrichum orbiculare* setelah inokulasi benih timun dengan strain PGPR Alstrom (1991) mengatakan bahwa perlakuan benih kacang dengan *P. fluorescens* strain S97 menyebabkan ketahanan sistemik terhadap infeksi *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Zhou et al. (1992) dan Zhou dan Paulitz (1994) mengatakan bahwa strain *Pseudomonas spp.* menyebabkan ketahanan sistemik tumbuhan timun terhadap *Pythium aphanidematum*. Contoh-contoh PGPR yang mampu berperan sebagai agen penyebab ketahanan sistemik tersebut di atas adalah karena perlakuan akar, tanah, atau biji dengan rizobakteri. Mekanisme kerja dari agen pengendalian hayati umumnya digolongkan sebagai persaingan zat makanan, parasitisme, dan antibiosis (Fravel 1988; Weller 1988). Peranan antibiotik dalam pengendalian hayati telah dikaji oleh Siminoff dan Gottlieb (1951). Penelitian mereka menunjukkan bahwa kemampuan *Streptomyces griseus* pengeluar antibiotik streptomisin dan strain mutasi yang tidak menghasilkan antibiotik dalam menekan pertumbuhan *Bacillus subtilis* ternyata tidak berbeda tingkat antagonisnya, penelitian ini telah membuat Siminoff dan Gottlieb (1951) berkesimpulan bahwa antibiotik bukan satu-satunya penyebab timbulnya antagonis. Kemajuan dalam rekayasa genetik telah membolehkan penelitian terhadap mutan dijalankan dengan lebih akurat dan terperinci sehingga banyak hipotesis tentang antibiotik telah dibuktikan, misalnya *P. fluorescens* adalah agen hayati. Pengendalian hayati penyakit *take-all* pada gandum yang disebabkan *Gaeumannomyces graminis* var.

tritici. Bakteri ini terbukti menghasilkan antibiotik phenazin yang menekan pertumbuhan *G. graminis* dalam pengendalian hayati (Thomashow & Weller 1987; Thomashow et al. 1986; Weller et al. 1985).

2.6 Bakteri Sebagai Agen Penghasil Antibiotik

Antibiotik umumnya adalah senyawa organik dengan berat molekul rendah yang dikeluarkan oleh mikroorganismenya. Pada kadar rendah, antibiotik dapat merusak pertumbuhan atau aktivitas metabolit mikroorganismenya lain (Fravel 1988). Rose (1979) mengatakan bahwa pada tahun 1979 diperkirakan telah dikenal 3000 jenis antibiotik dengan penambahan 50-100 jenis antibiotik baru setiap tahunnya. Hubungan antara aktivitas pengendalian hayati antibiotik secara *in vivo* dengan aktifitas secara *in vitro*. Keluaran antibiotik chetomin secara *in vitro* oleh *Chaetomium globosum* berkorelasi positif dengan antagonismenya terhadap *Venturia inequalis* pada bibit pohon apel (Cullen & Andrews 1984). Hal yang sama adalah adanya zon hambatan *Agrobacterium radiobacter* terhadap *A. tumefaciens* secara *in vitro* dan kemampuannya sebagai agen pengendalian hayati di lapang pada tanaman persik. Satu penelitian yang dilakukan oleh Broadbent et al. (1971) telah menguji secara *in vitro* 3500 mikroorganismenya sebagai agen antagonis, dari penelitian ini diperkirakan 40% mikroorganismenya menekan pertumbuhan satu atau lebih patogen dan 4% diantaranya berpotensi sebagai agen pengendalian hayati di tanah. Broadbent et al. (1971) berkesimpulan bahwa organism yang menekan pertumbuhan secara *in vitro* juga akan menekan pertumbuhan patogen di tanah, mikroorganismenya yang tidak menekan pertumbuhan secara *in vitro* juga tidak menekan pertumbuhan dalam tanah. Namun perlu

diketahui bahwa pengeluaran antibiotik sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan nutrisi mikroorganisme. Filtrasi medium pembiakan bebas sel atau ekstrak dari filtrasi telah diuji kemungkinan peranannya sebagai antibiosis dalam pengendalian hayati. Filtrasi bebas sel *T. flavus* efektif terhadap mikrosklerotium *V. dahliae* pada tanah steril (Fravel et al 1987). Filtrasi dari medium pertumbuhan mutan *T. harzianum* menekan pertumbuhan patogen busuk basah *S. cepivorum* (Papavizas et al. 1982). Manakala filtrasi steril dari kultur *Bacillus subtilis* diaplikasikan tiga kali seminggu mengendalikan penyakit karat pada tanaman kacang dilapangan nyata lebih baik dari fungisida mancozeb dengan aplikasi satu kali seminggu (Baker et al. 1985).

Baru-baru ini satu penelitian tentang peranan antibiotik di dalam tanah menunjukkan bahwa kebanyakan hasil metabolit seperti antibiotik terikat pada tanah liat dan bahan organik tanah, atau terurai dengan cepat oleh mikroflora. Kebanyakan antibiotik tidak dapat terlepas dari tanah liat (Pinck et al. 1962). Howell dan Stipanovic (1979) telah mengidentifikasi antibiotik pyrrolnitrin (3-chloro-4-[2'-nitro-3'-chloro-phenyl]-pyrrole) dari kultur *P. fluorescens*. Pada penetiannya, antibiotik ini sangat efektif menekan pertumbuhan *Rhizoctonia solani*, patogen penyebab penyakit rebah kecambah pada anak tanaman kapas. Antibiotik ini juga menekan pertumbuhan jamur lain yang berinteraksi dengan penyakit rebah kecambah diantaranya *Thielaviopsis basicola*, *Alternaria sp.*, *Verticillium dahliae*, dan beberapa jenis *Fusarium*, bagaimanapun dikatakan bahwa antibiotik ini tidak berpengaruh terhadap *Pythium ultimum*. Selanjutnya Howell dan Stipanovic (1979) mengatakan bahwa perlakuan bakteri *P.*

fluorescens pada tanah yang terkontaminasi *R. solani* telah menambah ketahanan anak tanaman kapas terhadap patogen tersebut 30-79 persen, sedangkan perlakuan antibiotik pyrrolnitrin menambah ketahanan 13-70 persen. Ini berarti bakteri *P. fluorescens* berpotensi sebagai agen pengendalian hayati penyakit tumbuhan. Howell dan Stipanovic (1980) telah mengidentifikasi *P. fluorescens* strain Pf-5 yang antagonis terhadap *Pythium ultimum*. Dari kultur *P. fluorescens* Pf-5 diisolasi antibiotik pyoluteorin (4,5-dichloro-1 H-pyrrol-2-yl-2,6-dihydrokxyphenyl ketone). Antibiotik ini menekan pertumbuhan *P. ultimum* tapi tidak berpengaruh terhadap *R. solani*. Perlakuan benih kapas langsung dengan kultur bakteri *P. fluorescens* Pf-5 telah menambah ketahanan benih terhadap serangan *P.ultimum* 28-71 persen, sedangkan perlakuan benih dengan antibiotic pyoluteorin meningkatkan ketahanan benih 33-65 persen. Kedua percobaan di atas menunjukkan bahwa penggunaan langsung kultur bakteri *P. fluorescens* lebih efektif mengendalikan penyakit dibandingkan penggunaan antibiotiknya.

2.7 Bakteri Sebagai Agen Penghasil Siderofor

Siderofor adalah senyawa organik selain antibiotik yang dapat berperan dalam pengendalian hayati penyakit tumbuhan. Siderofor diproduksi secara ekstrasel, senyawa dengan berat molekul rendah dengan afinitas yang sangat kuat terhadap besi (III). Kemampuan siderofor mengikat besi (III) merupakan pesaing terhadap mikroorganisme lain, banyak bukti-bukti yang menyatakan bahwa siderofor berperan aktif dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen (Fravel 1988). Selain peranannya sebagai agen pengangkutan besi (III), siderofor juga aktif sebagai faktor pertumbuhan, dan beberapa diantaranya berpotensi

sebagai antibiotic (Neilands 1981). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa siderofor berpendarfluor kuning-kehijauan yang dihasilkan oleh pseudomonad pendarfluor disebut sebagai pseudobactin bermanfaat untuk pertumbuhan tanaman (Neilands & Leong 1986; Leong 1986). Pigmen pendarfluor hijau-kekuningan larut dalam air, dikeluarkan oleh kebanyakan spesies *Pseudomonas*. Diantara spesies yang banyak diteliti sehubungan dengan pigmen ini adalah *P. airuginosa*, *P. ovalis*, *P. mildenbergil*, *P. reptilivora*, *P. geniculata*, *P. calciprecipitans*. Pengenalan terhadap pigmen ini tidak susah, terutama jika bakteri dikulturkan pada medium King's B (KB). Ciri-ciri sebagai pengeluar pigmen ini masih digunakan sebagai penanda taksonomi untuk identifikasi bakteri ini yang disebut sebagai bakteri *Pseudomonas* pendarfluor (Meyer et al. 1987).

Pseudobaktin akan dihasilkan *Pseudomonas* B 10 jika dikulturkan pada medium stress besi. Penelitian menunjukkan bahwa *pseudobactin* hijau-kekuningan efektif menekan pertumbuhan *E. carotovora*, manakala pseudobactin merah-kecoklatan tidak menekan pertumbuhan *E. carotovora*. Menurut Kloepper et al. (1980) secara *in vitro*, *pseudobactin* menekan pertumbuhan karena pengikatan besi (III). Perlakuan tumbuhan umbi kentang dengan suspensi sel bakteri strain B 10 dan pseudobaktin menunjukkan pertambahan pertumbuhan yang berarti. Populasi jamur patogen parle sekitar akar juga menjadi berkurang karena perlakuan bakteri strain B 10. Pembentukan koloni (cfu) per 10 cm akar; atau berkurang 59 persen) dan dengan perlakuan pseudobaktin (1.4 cfu per 10 cm akar; atau berkurang 74 persen) berbanding perlakuan dengan air (5.5 cfu per 10 cm akar), sedangkan perlakuan bakteri mutan takberpendarfluor yang tidak

menghasilkan siderofor tidak menekan pertumbuhan *E. carotovora* dan tidak pula menyebabkan pertambahan pertumbuhan pada umbi kentang walaupun bakteri mengkoloni akar tumbuhan (Kloepper et al.1980). Hasil di atas menunjukkan bahwa pseudomonad pendarfluor berperan dalam mempercepat pertumbuhan karena siderofor yang dihasilkannya efisien mengikat besi (III) pada zon akar, menyebabkan besi (III) tidak tersedia bagi mikroorganisme rhizoplane termasuk mikroorganisme patogen tumbuhan (Leong 1986). Menurut Neilands dan Leong (1986) mungkin semua pseudomonad pendarfluor dapat menghasilkan siderofor sejenis pseudobaktin yang masing-masing berbeda dalam hal jumlah dan susunan asam amino dalam rantai peptide. Pseudomonas pendarfluor banyak diteliti sehubungan dengan kemampuan bakteri ini sebagai perangsang pertumbuhan (Plant Growth Promoting Rhizobacteria=PGPR) dan menekan serangan penyakit yang disebabkan *Fusarium oxysporum* dan penyakit akar yang disebabkan *Gaeumannomyces graminis*. Mekanisme kerja PGPR diketahui sebagai senyawa yang berfungsi sebagai pemasok zat makanan, bersifat antibiosis, atau sebagai hormon pertumbuhan, atau penggabungan dari berbagai cara tersebut. Pseudomonad pendarfluor yang diisolasi dari tanah yang secara alami menekan pertumbuhan *Fusarium* juga menekan pertumbuhan *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* penyebab penyakit take-all (Wong & Baker 1984), penelitiannya membuktikan bahwa tidak hubungan antara hambatan antibiosis yang dihasilkan bakteri secara invitro di atas agar dan hambatannya terhadap penyakit pada tanaman di dalam polibag. Menurut Wong dan Baker (1984) hasil ini menunjukkan bahwa mekanisme pengendalian patogen karena persaingan zat

besi. Menurut Neilands dan Leong (1986) jamur-jamur patogen tidak menunjukkan kemampuan menghasilkan siderofor jenis yang sama dengan yang dihasilkan bakteri *Pseudomonas spp.* sehingga jamur patogen mengalami defisit unsur besi menyebabkan pertumbuhan patogen menjadi terhambat.

BAB 111

BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, Makassar yang berlangsung pada 5 Mei 2009 – selesai.

3.2 Metode Pelaksanaan

3.2.1 Penyediaan Ekstrak kompos

Ekstrak Kompos yang digunakan adalah yang berasal dari ekstraksi kompos yang telah dibuat sebelumnya. Pembuatan kompos dilakukan dengan sistem tertutup pada suatu tempat khusus dengan ukuran volume 250 liter. Bahan dasar yang digunakan adalah jerami tanaman padi, sedangkan starter bahan organik diperoleh dari tempat pembuangan sampah akhir (TPA) Tamangapa, Makassar, Sulawesi Selatan.

Jerami disusun secara bergantian dengan starter bahan organik sampah, sampai seluruh kapasitas volume dari tempat kompos terisi penuh. Setelah kompos berumur satu minggu susunan jerami dan starter bahan organik sampah diaduk secara merata di dalam tempat kompos. Kompos ini kemudian dibiarkan selama 2 bulan. Setelah itu kompos ini dibuka dan dibiarkan selama 1 minggu untuk menstabilkan temperatur kompos agar sama dengan temperatur sekelilingnya.

Isolasi bakteri *P. fluorescens* diambil melalui pengenceran ekstrak kompos 10^{-10} . Kemudian hasil pengenceran tersebut ditumbuhkan pada media NA. Sehari setelahnya, akan didapat isolat bakteri *Pseudomonas sp.* Isolat kemudian dipindahkan ke medium kings B. Selanjutnya, untuk mendapatkan isolat murni *P. fluorescens* dilakukan beberapa uji perbandingan karakteristik dengan *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas solanacearum*, antara lain dapat dilihat pada tabel 2. berikut :

Karakteristik	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>
Uji KOH 3 %	Gram Negatif (-)	Gram Positif (+)	Gram Negatif (-)
Uji Hipersensitif pada tembakau	Negatif (-)	Negatif (-)	Positif (+)
Pigmen fluorescens dilihat dengan sinar Ultraviolet	Kuning kehijauan	Kuning kehijauan	Kuning kehijauan

3.2.3 Penyediaan *P. fluorescens* dalam media tanpa agar (Cair)

Formulasi metabolit sekunder *P. fluorescens* dibuat dalam bentuk cair. Dilakukan dengan menggunakan media Nutrient Glukosa Agar (NGA) dan Kings B.

- Nutrient Broth + Glukosa
 1. Nutrient broth 8 gr
 2. Glukosa 5 gr
 3. Aquades 1000 ml

- Kings B (tanpa agar)
 1. Protease peptone 20 gr
 2. Glycerol 10 ml
 3. K₂HPO₄ 1,5 gr
 4. MgSO₄·7H₂O 1,5 gr
 5. Aquades 1000 ml

Kedua media cair disterilkan terlebih dahulu, kemudian di inokulasikan dengan bakteri *P. fluorescens* dalam keadaan aseptik lalu dishaker selama 1 minggu hingga terbentuk metabolik sekundernya. Sebelum dishaker, larutan terlebih dahulu dihitung koloni bakterinya yaitu 10⁸ cfu/ml dan diberikan buffer (MgSO₄) untuk menjaga tekanan larutan selama proses shaker berlangsung.

3.2.4 Penyaringan

Penyaringan dilakukan setelah formulasi media cair *P. fluorescens* dishaker selama ± 7 hari. Pada alat penyaringan diberikan kertas saring yang bertujuan menyaring kontaminan yang mungkin masuk ke dalam media pada saat proses shaker berlangsung. Setelah penyaringan, maka akan terbentuk larutan media cair yang mengandung metabolit sekunder dari antagonis *P. fluorescens* tersebut.

3.2.5 Pengujian Secara Semi *Invivo*

Diaplikasikan dengan menggunakan sampel buah kakao berusia ±3 minggu sebanyak 5 buah sebagai ulangan pada masing-masing perlakuan. Karena seluruh percobaan terdapat 5 perlakuan, maka buah sampel seluruhnya berjumlah 25 buah. Sampel buah yang terinfeksi busuk buah *P. palmivora* dipotong bulat-

bulat dengan alat stemborer ($D = \pm 1$ cm), kemudian diinfeksi dengan cara ditambalkan pada masing-masing sampel buah, antara lain:

- Kontrol (K_0) (potongan sampel buah infeksi direndam dalam aquades steril selama 10 menit, kemudian ditambalkan pada buah sampel)
- Perlakuan 1 (K_1) (potongan sampel buah infeksi direndam dalam ekstrak kompos selama 10 menit, kemudian ditambalkan pada buah sampel)
- Perlakuan 2 (K_2) (potongan sampel buah infeksi direndam formulasi NGA selama 10 menit, kemudian ditambalkan pada buah sampel)
- Perlakuan 3 (K_3) (potongan sampel buah infeksi direndam formulasi Kings B selama 10 menit, kemudian ditambalkan pada buah sampel)
- Perlakuan 4 (K_4) (potongan sampel buah infeksi direndam formulasi NGA + Kings B + Ekstrak kompos, kemudian ditambalkan pada buah sampel)

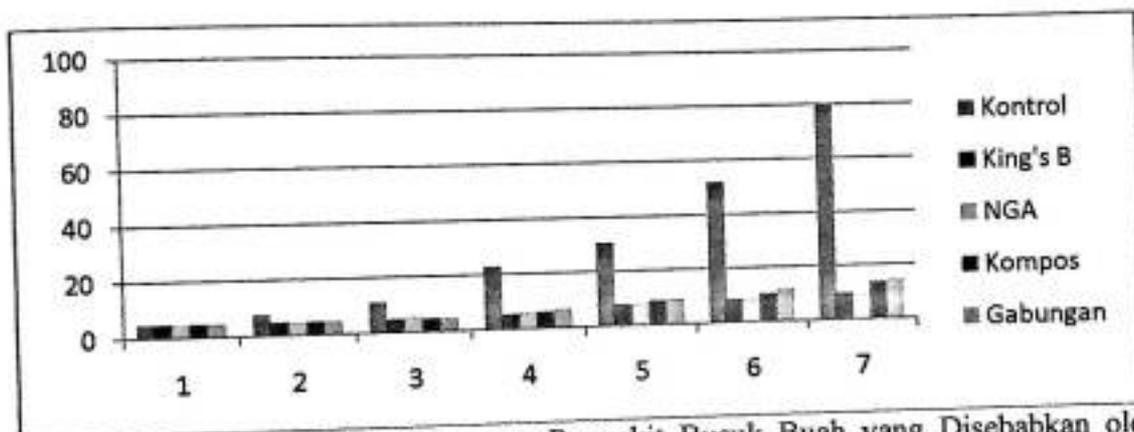
3.2.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap besarnya gejala serangan penyakit busuk buah (*P. palmivora*) setiap hari setelah aplikasi selama 1 minggu pengamatan, dengan mengukur keliling kerusakan. Setelah itu, data dianalisis dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap).

BAB IV

4.1 Hasil

Hasil pengamatan kerusakan pada tiap sampel buah kakao yang disebabkan oleh *P. palmivora* dari hari ke-I hingga hari ke-XII dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah:



Gambar 3. Tingkat Gejala Serangan Penyakit Busuk Buah yang Disebabkan oleh *P. palmivora* pada Buah Kakao

Dari Gambar di atas diketahui bahwa pada hari I pengamatan belum ada perbedaan yang nyata pada tiap perlakuan. Namun pada hari ke II sudah nampak adanya perbedaan antara perlakuan kontrol dengan perlakuan lainnya. Pada hari ke III sampai dengan hari ke VII terlihat jelas bahwa pada perlakuan kontrol lebih tinggi tingkat kerusakannya dibandingkan dengan perlakuan ekstrak kompos, metabolit sekunder pada media NGA serta metabolit sekunder pada media Kings B. Pada hari terakhir, kerusakan tertinggi pada kontrol dengan panjang keliling kerusakan 22 cm dan kerusakan terendah pada perlakuan Kings'B dan NA sebesar 1 cm.

4.2 Pembahasan

Hasil pengamatan pada hari terakhir tingkat gejala serangan penyakit Busuk Buah Kakao yang disebabkan oleh *P. palmivora* pada pengamatan terakhir (pengamatan XIV) menunjukkan bahwa gejala serangan tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol dengan panjang keliling gejala serangan rata-rata berdiameter 16,02 cm, sedangkan terendah pada perlakuan NA dengan rata-rata diameter 1,88 cm. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa gejala serangan pada perlakuan kontrol berbeda nyata dengan seluruh perlakuan lainnya.

Hal ini disebabkan karena adanya metabolit sekunder yang dihasilkan selama proses pengomposan oleh mikroorganisme antagonistik yang terdapat dalam kompos tersebut. Metabolit sekunder yang dihasilkan ini merupakan hal yang penting dalam menghambat ataupun menurunkan intensitas serangan suatu penyakit tanaman (Ketterer, 1990).

Perlakuan dengan metabolit sekunder juga menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan ekstrak kompos, yaitu keduanya mampu menekan perkembangan gejala *P. palmivora*. Hal ini disebabkan oleh kemampuan bakteri antagonis *P. fluorescens* yang mampu menghasilkan senyawa seperti HCN, asam salisilat, pluoluterin, monoacetyl phloroglucinol dan siderofor yang mampu berperan sebagai senyawa penghambat pertumbuhan *P. palmivora*. Selain itu, *P. fluorescens* juga berpotensi untuk menekan penyakit tanaman dan meningkatkan pertumbuhan tanaman, sehingga dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati. *P. fluorescens* mampu mengkoloni dan beradaptasi dengan baik pada akar tanaman maupun pada buah serta menggunakan eksudat tanaman untuk

mensintetis metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktifitas patogen atau memacu ketahanan sistemik dari tanaman terhadap patogen (Kwong dan Huang, 1997).

Berdasarkan Sifat-sifat fenotipik dari *P. fluorescens* yang merupakan isolat Gram negatif, yaitu membentuk enzim katalase, oksidase positif, memerlukan oksigen untuk tumbuh (*aerob*), serta mampu menghidrolisa pati dan arginin, membentuk enzim gelatinase, melakukan denitrifikasi, tidak mengakumulasi *poly-hydroxybutirate*. Sehingga, penggunaan media yang tepat yang mampu mendukung pertumbuhan *P. fluorescens* sangat berpengaruh dalam pembentukan senyawa metabolik dari bakteri tersebut.

Pada media NA yang berasal dari *Nutrien Broth* dan kandungan Glukosa, telah teruji sebagai media yang mampu mencukupi nutrisi pertumbuhan *P. fluorescens* dengan sesuai sehingga perkembangan bakteri akan lebih cepat. Sehingga dengan perkembangan yang baik, maka akan menghasilkan senyawa metabolik yang konsentrasinya lebih tinggi sehingga mampu menekan pertumbuhan cendawan *P. palmivora* yang terinfeksi pada buah kakao sampel.

Sementara pada penggunaan Kings B (Protease peptone, Glycerol, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) yang merupakan medium yang sedikit mengandung ion Fe (Sands, 2001), sehingga bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *P. fluorescens* akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Dalam keadaan pada medium ini, *P. fluorescens* mampu berkembang dengan baik serta meningkatkan metabolik sekundernya pada media.

Perlakuan pencelupan dengan perpaduan antara ekstrak kompos, media NA dan Kings B juga memberikan hasil yang cukup berpengaruh dalam penghambatan gejala busuk buah pada kakao oleh *P. palmivora*. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan mikroorganisme dan metabolik sekunder yang tinggi pada larutan perpaduan antara ekstrak kompos, media NA dan Kings B serta .

BAB V

Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan

- Pemberian ekstrak kompos dan metabolit sekunder *P. fluorescens* dapat secara nyata menekan tingkat serangan penyakit Busuk Buah yang disebabkan oleh *P. palmivora* pada buah kakao
- Tidak terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan dengan metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* dengan perlakuan pemberian ekstrak kompos
- Tidak terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan dengan metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* yang ditumbuhkan pada media berbeda
- Perlakuan antara ekstrak kompos dan metabolit sekunder memiliki pengaruh interaksi dalam menurunkan intensitas serangan penyakit busuk buah *Phytophthora palmivora* pada kakao

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan bakteri antagonis yang beragam.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N., 1996. **Ilmu Penyakit Tumbuhan**. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Anonim, 1995. **Kebijakan Pengembangan Kakao Indonesia**. Symposium Kakao 1995. Puslitkoka. Formabikoka.
- _____, 2000. **Statistik Perkebunana Sulawesi Selatan Tahun 1999**. Dinas perkebunan Sulawesi Selatan, Makassar.
- _____, 2008. **OPT Utama Kakao dan Upaya Penanggulangan di Indonesia**. Direktorat Perlindungan Perkebunan, (Online), (<http://ditjenbun.deptan.go.id/perlinbun/linbun>), diakses 26 Mei 2009.
- Amin, N., 1997. **Penggunaan Ekstrak Kompos dalam Pengendalian Penyakit Busuk Buah Kakao *Phytophthora sp.* Pada Tanaman Kakao**. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Gottschall, B., 1988. **Kompostierung Alternative Konzepte 45**, Verlag C. F. Muller, Karlsruhe.
- Rahim, D., 1997. Pathophysiological Study *Xanthomonas campestris* pv. *Maivacearum* Penyebab Penyakit Bercak Daun Bersudut Pada Tanaman Kapas Pasca Sarjana Sistem-Sistem Pertanian UNHAS, Ujung Pandang.
- Rahman, A., 2005. **Efektivitas Fungisida Berbahan Aktif Tembaga Oksida untuk Menekan Intensitas Serangan VSD dan *P. palmivora* pada Kakao**. Skripsi Strata satu Fakultas Pertanian Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W., 2001. **Plant Pathogenic Bacteria**. Third Edition. APS Press. USA
- Spring, D. E; Ellis, M.A; Spotts, R. A; Hoitink, H. A. J; Schmitthenner, A.F. 1980. **Suppression of the Apple collar Rot Patogen in Composted Hadwood Bark**. *Phytophatol.*
- Susanto, L., 2008. **Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman**. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Susanto. 1996. Uji Patogenitas dan Fisiologi Bakteri *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith Yang Diisolasi Dari Rimpang Jahe. Fakultas Pertanian dan Kehutanan UNHAS. Ujung Pandang.
- Z. Klement, dkk. 1990. **Methods In Phytobacteriology**. Akademi Kiado, Budapest.

LAMPIRAN I
Tabel analisis Uji Duncan

1. Hari I

Perlakuan	Panjang Keliling Kerusakan (cm)					Total	Rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	1	1	1	1	1	5	1
King's B	1	1	1	1	1	5	1
NA	1	1	1	1	1	5	1
Kompos	1	1	1	1	1	5	1
Gabungan	1	1	1	1	1	5	1
Jumlah	5	5	5	5	5	25	1

2. Hari II

Perlakuan	Panjang Keliling Kerusakan (cm)					total	rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	1	1	1,8	1	2,9	7,7	1,54
King's B	1	1	1	1	1	5	1
NA	1	1	1	1	1	5	1
Kompos	1	1	1	1	1	5	1
Gabungan	1	1	1	1	1	5	1
Jumlah	5	5	5,8	5	6,9	27,7	1,108

fk 30,692

kk 33,721 %

sk	db	jk	kt	fhit		ftab%	ftab%
perlakuan	4	1,166	0,292	2,089	tn	2,67	4,43
galat	20	2,792	0,140				
total	24	3,958					

3. Hari III

Perlakuan	Diameter kerusakan (cm)					total	rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	1	1,4	2,2	1	5,6	11,2	2,24
King's B	1	1	1	1	1	5	1
NA	1	1	1,7	1	1	5,7	1,14
Kompos	1	1	1	1	1	5	1
Gabungan	1	1	1	1	1	5	1
Jumlah	5	5,4	6,9	5	9,6	31,9	1,276

fk 40,704 %

kk 68,912 %

Sk	db	jk	kt	fhit		ftab%	ftab%
perlakuan	4	5,88	1,470	1,902	tn	2,67	4,43
Galat	20	15,46	0,773				
Total	24	21,35					

4. Hari IV

Perlakuan	Diameter kerusakan (cm)					total	rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	3,1	3,5	7	1	8,4	23	4,6
King's B	1	1	1	1,6	1	5,6	1,12
NA	1	1	2,1	1	1	6,1	1,22
Kompos	1	2,3	1	1	1	6,3	1,26
Gabungan	2,6	1	1	1,5	1	7,1	1,42
Jumlah	8,7	8,8	12,1	6,1	12,4	48,1	1,924

fk 92,544

kk 74,558 %

Sk	db	jk	kt	fhit		ftab%	ftab%
perlakuan	4	44,99	11,25	5,47	**	2,67	4,43
Galat	20	41,16	2,06				
Total	24	86,15					

5. Hari V

Perlakuan	Diameter kerusakan (cm)					total	rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	5,1	5,3	9,4	1,8	9,2	30,8	6,16
King's B	1	2	1	2,7	1	7,7	1,54
NA	1,4	1	3,6	1	1	8	1,6
Kompos	2	2,8	1	2,2	1	9	1,8
Gabungan	3,2	1,4	1	1,7	2	9,3	1,86
Jumlah	12,7	12,5	16	9,4	14,2	64,8	2,592

fk 167,962
kk 63,062 %

sk	db	jk	kt	fhit		ftab%	ftab%
perlakuan	4	79,92	19,98	7,48	**	2,67	4,43
Galat	20	53,44	2,67				
Total	24	133,36					

6. Hari VI

Perlakuan	Diameter kerusakan (cm)					total	rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	6	12,6	11,2	6,1	16,3	52,2	10,44
King's B	1	2,4	1	3,1	1	8,5	1,7
NA	1,8	1	4	1	1	8,8	1,76
Kompos	2,4	3	1	3,1	1	10,5	2,1
Gabungan	3,4	1,6	1,7	2,2	3	11,9	2,38
Jumlah	14,6	20,6	18,9	15,5	22,3	91,9	3,676

Fk 337,824
Kk 59,492 %

Sk	db	jk	kt	fhit		ftab%	ftab%
perlakuan	4	287,45	71,86	15,03	**	2,67	4,43
Galat	20	95,65	4,78				
Total	24	383,11					

7. Hari VII

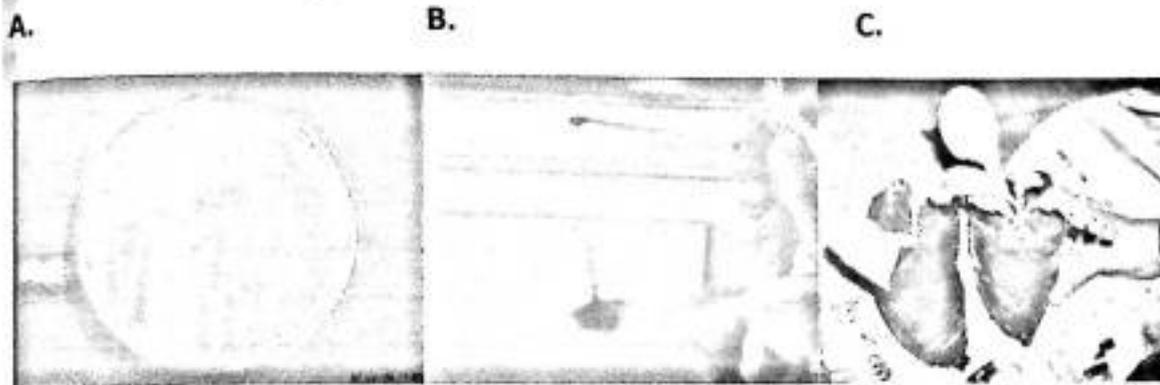
Perlakuan	Diameter kerusakan (cm)					total	rerata
	1	2	3	4	5		
Kontrol	8,2	22	16,1	15,3	18,5	80,1	16,02
King's B	1	2,8	1,6	3,5	1	9,9	1,98
NA	2,1	1	4,3	1	1	9,4	1,88
Kompos	2,5	3,8	1,8	3,5	2,3	13,9	2,78
Gabungan	3,7	2	2,3	2,9	3,8	14,7	2,94
Jumlah	17,5	31,6	26,1	26,2	26,6	128	5,12

Fk 655,360
kk 48,299 %

Sk	db	jk	kt	fhit		ftab%	ftab%
perlakuan	4	746,98	186,74	30,54	**	2,67	4,43
Galat	20	122,30	6,12				
Total	24	869,28					

LAMPIRAN GAMBAR

1. Gambar 1



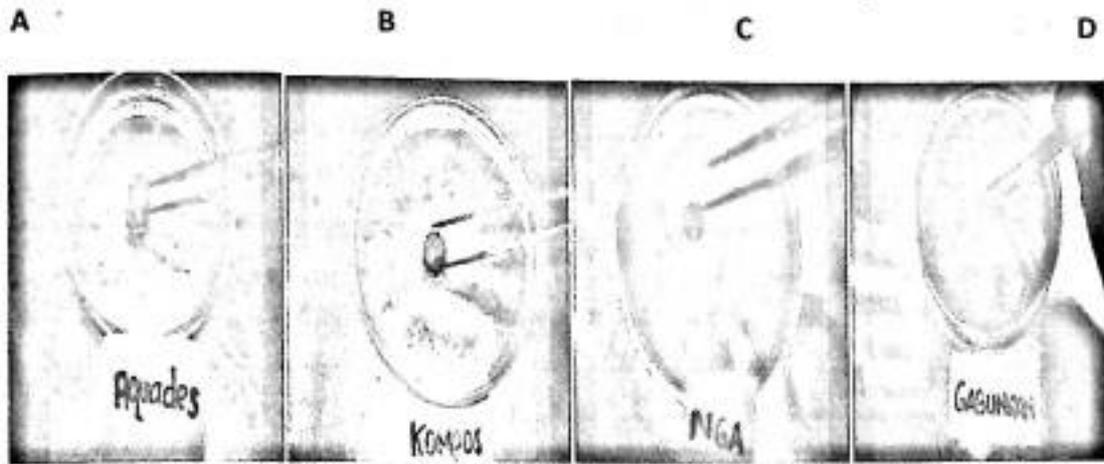
Gambar 1. *Pseudomonas sp* yang di kultur dari Pengenceran Ekstrak Kompos. (A). *Pseudomonas fluorescens* pada media Kings B dilihat dengan sinar UV (B). *Pseudomonas fluorescens* yang diUji KOH (C) Uji Hipersensitivitas pada tembakau.

2. Gambar 2



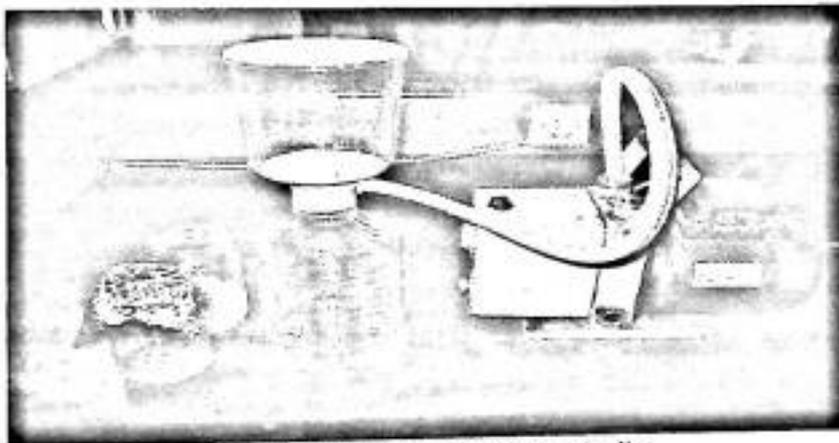
Gambar 2. Media Cair. (A). NGA (B). Kings B

3. Gambar 3



Gambar 3. Perlakuan Perendaman pada potongan Sampel . (A). Perendaman dengan aquades (B). Perendaman dengan kompos (C). Perendaman dengan NGA (D). Perendaman dengan larutan gabungan

4. Gambar 4



Gambar 4. Alat Penyaring Media

5. Gambar 5



Gambar 5. Aplikasi pada buah Kakao