

Jurnal Pengendalian Hayati
(*Journal of Biological Control*)

DOI: doi.org/10.19184/jph.v2i2.17141

Pengendalian Penyakit Pustul *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Pada Kedelai Dengan *Bacillus* spp. Asal Filosfer Gulma di Pertanaman Kedelai

Pustules Disease Control of Xanthomonas axonopodis pv. *glycines* on Soybeans with *Bacillus* spp. Origin of Phyllosphere Weeds in Soybean Crop

Siti Rahayu* dan Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Jember 68121

ABSTRACT

Soybean pustule disease by *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (Xag) is one of the important diseases of soybean plant. Application *Bacillus* spp. origin of weed phyllosphere has a great potential as an alternative to control because it is isolated to origin of same region as Xag is the phyllosphere. Research by Nurcahyanti and Ayu obtained the best five isolates of *Bacillus* spp. of weeds phyllosphere in soybean cropping in inhibiting Xag in vitro. This study used the complete random draft (RAL) 6 treatment, 4 repeats, each unit consists of 4 plants with treatment application of 5 isolates of *Bacillus* spp. namely K = control; A = *Bacillus* JG 1.3; B = *Bacillus* JG 3.6; C = *Bacillus* JG 1.4.1; D = *Bacillus* BGd 1.1; E = *Bacillus* Bp 2.2. The results showed that application of *Bacillus* spp. could inhibit Xag in vitro with bacteriostatic mechanism and isolates *Bacillus* BGd 1.1 has the greatest inhibition of 14.25 mm. Fifth *Bacillus* spp. can suppress the development of disease and isolates *Bacillus* BGd 1.1 has best results with the incubation period during 13 HSI, the severity of disease 10.07%, infection rate 0.045 unit/day as well as the effectiveness of control 85.72%. The fifth isolates of *Bacillus* spp. can not increase the number of leaves but can increase number of branches and isolates *Bacillus* JG 1.3, *Bacillus* JG 1.4.1 and *Bacillus* BGd 1.1 can increase the height of soybean crop.

Keywords: Soybean, *Bacillus* spp., weed phyllosphere, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (Xag)

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan tanaman pangan sumber protein nabati tinggi. Di Indonesia kedelai mempunyai prospek besar untuk usaha budidaya berdasarkan konsumsi

perkapita sebesar 10,79kg/tahun dengan proyeksi konsumsi kedelai dan proyeksi penduduk 280 juta jiwa pada tahun 2020. Batasan dalam budidaya kedelai yang dapat menyebabkan kerugian hasil dan kualitas kedelai

salah satunya disebabkan oleh penyakit tanaman yaitu pustul bakteri (Rukmana dan Yudirachman, 2014).

Penyakit pustul bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (*Xag*) merupakan salah satu penyakit penting tanaman kedelai yang dapat mengakibatkan kerugian hingga 7-11% (Semangun, 1993), (Chatri, 2016). Penggunaan bakterisida akan menimbulkan resistensi pada mikroba dan juga berdampak negatif terhadap lingkungan (Djojosumarto, 2008). Alternatif pengendalian yang ramah lingkungan yang banyak digunakan yaitu Agen Pengendali Hayati (APH) salah satunya *Bacillus spp.* (Khaeruni dan Gusnawaty, 2012).

Bacillus sp. yang diisolasi dari filosfer berpeluang besar sebagai alternatif pengendalian patogen pustul kedelai karena bakteri diisolasi dari asal yang sama dengan patogen yaitu filosfer (Rukayadi et al., 2000). Isolasi *Bacillus* sp. dari filosfer gulma berkaitan dengan keberadaan gulma yang ada sepanjang tahun pada pertanaman kedelai (Harsono, 2017). Hasil penelitian sebelumnya oleh Nurcahyanti dan Ayu, (2018) diperoleh 31 isolat *Bacillus* spp. dan 5 isolat diantaranya mempunyai kemampuan yang baik dalam menghambat *Xag* secara *in vitro*. Berdasarkan hal itu, 5 isolat tersebut perlu diuji kemampuannya dalam menghambat *Xag* secara *in vivo* dan pengaruhnya dalam menstimulasi pertumbuhan tanaman kedelai.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2019 sampai dengan Juni 2019, bertempat di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan screen house Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu tabung reaksi, cawan petri, pinset, jarum ose, scalpel, mikro pipet, pipet tetes, tips, timbangan analitik, sendok plastik, vortex, bunsen, *object glass*, *handsprayer*, *autoclave*, *erlenmeyer*, *Laminar Air Flow Cabinet (LAF)*, gelas ukur 500 ml, *syringe* 1 ml, wrap, korek api, inkubator, ependolf, L glass, kompor gas, panci, dan pipet tetes. Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain *Bacillus spp.* asal filosfer gulma pertanaman kedelai dan isolat *Xag* (koleksi Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti, SP., M.Sc), tanah steril, kompos, kertas label, alumunium foil, larutan klorofom, alkohol 90%, medium YPGA (*Yeast Peptone Glukose Agar*), plastik, polibag ukuran (15 x 30) cm, air steril, WA (*Water Agar*), kapas steril, pepton 0,5%, pupuk Urea, SP-36, dan KCl serta benih kedelai varietas Anjasmoro.

Metode Percobaan

Penelitian dilakukan pada 2 tahap yaitu di laboratorium dan di *screen house*. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 6 perlakuan, 4 ulangan, setiap unit penelitian terdiri dari 4 tanaman dan ditanam pada 2 polibag. Perlakuan berupa aplikasi lima isolat *Bacillus spp.*, dengan K = kontrol; A = *Bacillus* JG 1.3; B = *Bacillus* JG 3.6; C = *Bacillus* JG 1.4.1; D = *Bacillus* BGd 1.1; E = *Bacillus* Bp 2.2. Analisis menggunakan sidik ragam (Anova) dan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf kepercayaan 5%.

Perbanyakan *Xag*

Xag diremajakan dalam media YPGA dengan jarum ose selanjutnya diinkubasi selama 48 jam.

Perbanyakan *Bacillus spp*

Bacillus spp diremajakan dalam media YPGA dengan jarum ose selanjutnya diinkubasi selama 48 jam.

Uji Gram

Uji gram dilakukan dengan cara diambil satu ose *Xag* pada objek glass kemudian ditetes dengan KOH 3%, diaduk kemudian diangkat perlahan, jika isolat lengket atau terangkat maka bakteri tersebut termasuk gram negatif dan sebaliknya (Schaad et al., 2001).

Uji Hipersensitif Daun Tembakau

Suspensi bakteri kerapatan 10₈ cfu/ml diinfiltasikan pada daun tembakau menggunakan syringe tanpa jarum kemudian diinkubasi selama 48 jam. Hal yang sama dilakukan pula pada uji kontrol dengan suspesi air steril. Jika terdapat nekrosis pada daerah inokulasi maka bakteri tersebut merupakan bakteri patogen (Wati dkk., 2017).

Uji Patogenesitas

Sebanyak 0,2 ml suspensi *Xag* kerapatan 10₈cfu/ml disuntikkan pada daun kedelai menggunakan syringe 1ml (tanpa jarum). Hal yang sama dilakukan dengan air steril guna perlakuan kontrol (Zinsuo et al., 2015). Uji patogenesitas dinyatakan positif apabila bakteri menimbulkan gejala pada daun kedelai dan sebaliknya.

Uji Penghambatan dan Mekanisme

Penghambatan *Bacillus spp.* terhadap *Xag*

Pengujian penghambatan bertujuan untuk mengetahui daya hambat isolat *Bacillus* sp. terhadap penyakit pustul kedelai (*Xag*). Pengujian tersebut menggunakan metode *dual plating* (Lisboa et al., dalam Nurfitriani dkk., 2016).

Isolat *Bacillus spp.* dititikan satu titik dengan tip steril pada media YPGA di cawan petri kemudian diinkubasi 48 jam. Petri kemudian dibalik dan ditetesi klorofom 1 ml pada bagian tutupnya. Petri dibalik kembali setelah 2 jam. 200 µl suspensi *Xag* umur 48 jam dalam 4 ml medium WA 0,6% hangat kuku dituang dalam petri tersebut. Pengamatan zona hambat *Bacillus spp.* terhadap *Xag* dilakukan setelah 24 jam inkubasi (Nurcahyanti dkk., 2013).

Uji mekanisme penghambatan dilakukan dengan mengambil satu skapel pada zona hambatan kemudian dimasukkan dalam 0,5% pepton. Pengamatan pada 48 jam inkubasi berupa kekeruhannya dengan ketentuan apabila pepton tampak bening maka *Bacillus sp.* mampu membunuh *Xag* (bersifat bakterisidal) dan apabila pepton keruh maka *Bacillus sp.* hanya mampu menekan pertumbuhan *Xag* (bersifat bakteriostatik) (Nurcahyanti dkk., 2013).

Penanaman dan Perawatan Kedelai

Penanaman kedelai diawali dengan persiapan media tanam berupa campuran kompos dan tanah steril dengan perbandingan 1:2 kemudian didiamkan selama 1 minggu (Yanti dkk., 2017). Campuran tanah dimasukkan dalam polibag. Tiap polibag ditanam 2 benih pada lubang sedalam 3-4 cm. Penyiraman dilakukan setiap pagi dan sore hari atau sesuai kebutuhan. Penyiangan dilakukan secara manual seminggu sekali. Pemupukan pertama bersamaan dengan waktu tanam berupa pupuk Urea 0,1 g per tanaman, pupuk SP-36 0,2 g per tanaman dan pupuk KCL 0,4 g per tanaman dan pemupukan kedua diberikan pada 3 minggu setelah tanam berupa pupuk Urea dengan dosis 0,1 g per tanaman (Rukmana dan Yudirachman, 2014).

Inokulasi *Xag*

Inokulasi bakteri *Xag* kerapatan 10₈cfu/ml dengan cara disemprotkan pada daun tanaman kedelai umur 3 minggu pada sore hari kemudian ditempatkan pada tempat yang teduh (Zinsou *et al.*, 2015).

Aplikasi *Bacillus spp*

Aplikasi bakteri *Bacillus spp.*, dilakukan dengan cara penyemprotan suspensi *Bacillus sp.* (10₈cfu/ml) volume 10 ml/tanaman pada daun pertanaman kedelai 1 minggu setelah inokulasi *Xag* (Yanti dkk., 2017). Aplikasi dilakukan pada sore hari agar agen hayati tidak rusak dan mampu melindungi tanaman secara optimal.

Variabel Pengamatan.

- a). Karakteristik bakteri pustul kedelai
- b). Karakteristik lima isolat *Bacillus spp.*
- c). Penghambatan *Bacillus spp.* terhadap *Xag* secara *in vitro*

d). Masa Inkubasi Penyakit. Masa Inkubasi Penyakit adalah waktu yang dibutuhkan patogen dalam menimbulkan gejala penyakit. Pengamatan diakukan setiap hari mulai pasca inokulasi patogen *Xag* hingga tanaman tampak bergejala (Khaeruni dan Gusnawaty, 2012).

e). Insidensi Penyakit. Insidensi Penyakit dilakukan dengan mengamati gejala eksternal pada tanaman. Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali. Insidensi penyakit dihitung dengan menggunakan metode Abbott dengan rumus berikut :

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

KP : Tingkat kejadian penyakit / Insidensi penyakit;

n : Jumlah tanaman bergejala yang diamati;

N : Jumlah tanaman total yang diamati.

f). Keparahan Penyakit (I). Pengamatan dilakukan pada daun atas, daun tengah dan daun bawah atau 9 daun per tanaman setiap satu minggu sekali. Rumus perhitungan menggunakan rumus Townsend dan Heuberger (Santosa dan Triyono, 1999):

$$I = \frac{\sum_{i=0}^n (n_i \times v_i) \times 100\%}{Z \times N}$$

Keterangan :

I : Tingkat keparahan penyakit;

n_i : Daun tanaman terinfeksi ke-1;

v_i : Skor dengan kategori penularan ke-1;

N : Jumlah tanaman yang diamati;

Z : Nilai skala dari kategori penularan tertinggi (Skor 5).

Metode skoring menurut Sinclair sebagai berikut :

Skor (0) : Tidak ada gejala

Skor (1) : Luas bercak pustul 1-5%

Skor (2) : Luas bercak pustul 6-10%

Skor (3) : Luas bercak pustul 11-25%

Skor (4) : Luas bercak pustul 25-50%

Skor (5) : Luas bercak pustul >50%

g). Laju Infeksi Penyakit. Analisis laju infeksi penyakit menggunakan rumus epidemiologi menurut Vander Plank (1963), sebagai berikut:

$$r = \frac{2,3}{(t_j - t_i)} \left[\log \left\{ \frac{x_j}{1-x_j} \right\} - \log \left\{ \frac{x_i}{1-x_i} \right\} \right]$$

Keterangan:

r : laju infeksi;

t_i : waktu pengamatan awal pada hari ke-i;

t_j : waktu pengamatan berikut pada hari ke-j;

x_i : keparahan penyakit pada hari ke- i ;
 x_j : keparahan penyakit pada hari ke- j .

h). Efektivitas Pengendalian *Bacillus spp.* terhadap Penyakit Pustul Kedelai. Perhitungan tersebut bertujuan untuk mengetahui persentase pengendalian penyakit pustul oleh *Bacillus spp.* di screen house. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$EP = \frac{I \text{ Kontrol} - I \text{ Perlakuan}}{I \text{ Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

EP : Efektivitas pengendalian dengan antagonis

(%);

I kontrol : persentase keparahan penyakit pada kontrol;

I perlakuan : persentase penyakit pada perlakuan dengan aplikasi *Bacillus spp.*

i). Pertumbuhan. Pengamatan pertumbuhan tanaman kedelai meliputi tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah cabang yang diamati setiap minggu.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Bakteri Pustul Kedelai

Karakteristik *Xag* berwarna kuning, bentuk koloni bulat hingga tidak beraturan, tepi rata, mengkilap, cembung (Gambar 1). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Lambani dan Jahagirdar (2017) bahwa koloni *Xag* berbentuk bulat hingga tidak beraturan, rata, mengkilap, cembung dan berwarna kuning hingga kuning cerah.



Gambar 1. Koloni bakteri penyebab pustul kedelai

Hasil uji fisiologis dan biokimia *Xag* tersebut termasuk bakteri gram negatif, mampu menghidrolisis pati, menyebabkan nekrotik pada daun tembakau dan positif uji patogenesitas sehingga isolat tersebut termasuk dalam *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* virulen. Karakteristik tersebut sesuai dengan pernyataan Lambani dan Jahagirdar (2017), dalam penelitiannya bahwa *Xag* berGram negatif dan mampu menghidrolisis pati.



Gambar 2. Pengujian terhadap Xag (A) Uji gram, (B) Uji Pati, (C) Uji Hipersensitif Tembakau, (D) Uji Patogenesitas

Karaktersitik *Bacillus spp.*

Isolat *Bacillus spp.* bereaksi negatif terhadap uji hipersensitif tembakau (Gambar 3.). Karakteristik morfologi *Bacillus spp.*, sesuai dengan hasil penelitian Nurcahyanti dan Ayu (2018), (Tabel 1.).

Tabel 1. Karakteristik Morfologi *Bacillus spp.*

Isolat	Gambar	Diameter (mm)	Karakteristik Morfologi Koloni		
			Warna	Elevation	Tepi
<i>Bacillus</i> JG 1.3		57	Putih susu	Datar	Tidak beraturan
<i>Bacillus</i> JG 3.6		29	Putih kusam	Datar	Tidak beraturan
<i>Bacillus</i> JG 1.4.1		40	Putih susu	Datar	Tidak beraturan
<i>Bacillus</i> BGd1.1		13	Putih kusam	Datar	Tidak beraturan
<i>Bacillus</i> Bp 2.2		22	Putih kusam	Datar	Rata
					Bulat



Gambar 3. Pengujian HR isolat *Bacillus spp.*

Penghambatan *Bacillus spp.* terhadap *Xag* secara *in vitro*

Lima isolat *Bacillus spp.* memiliki daya hambat yang berbeda (Tabel 2.). Kelima isolat *Bacillus spp.*, mempunyai mekanisme hambatan bersifat bakteriostatik yaitu menghambat *Xag* dan tidak membunuh patogen.

Tabel 2. Hasil Uji daya Hambat *Bacillus spp.* terhadap *Xag*

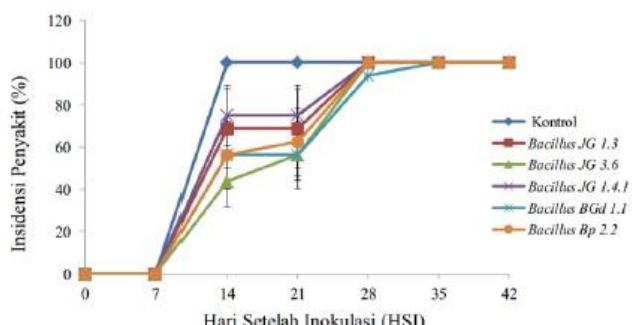
Isolat	Gambar	Zona Hambat (mm)	Isolat	Gambar	Zona Hambat (mm)
<i>Bacillus JG 1.3</i>		7,25	<i>Bacillus BGd 1.1</i>		14,25
<i>Bacillus JG 3.6</i>		11,25	<i>Bacillus Bp 2.2</i>		7,5
<i>Bacillus JG 1.4.1</i>		10,5			

Pada gambar 5. (A) menunjukkan gejala awal penyakit pustul kedelai berupa bercak kecil atau bintik kecil berwarna hijau pucat pada 12 HSI. Bintik kecil tersebut kemudian membentuk pustul berwarna putih pada kedua bagian daun. Pada gambar 5. (B) pustul membentuk bercak berwarna kecoklatan (15HSI). Bercak kemudian menyatu membentuk bercak yang lebih besar sehingga menyebabkan daun mudah robek.



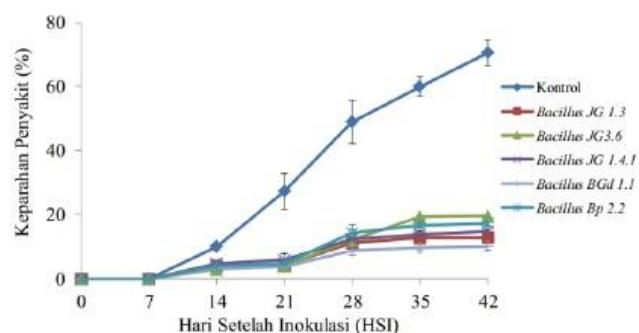
Gambar 5. Gejala Pustul Kedelai, (A) Gejala awal umur 12 HSI, (B) Gejala lanjut umur 15HSI

Pengendalian penyakit pustul kedelai menggunakan *Bacillus spp.*, mampu memperpanjang masa inkubasi (Tabel 3.). Masa inkubasi perlakuan kontrol selama 10 HSI. Perlakuan *Bacillus JG 1.3*, *Bacillus JG 1.4.1* dan *Bacillus BGd 1.1* memiliki masa inkubasi 3 hari lebih lama dibandingkan kontrol sementara perlakuan *Bacillus JG 3.6* dan *Bacillus Bp 2.2* memperpanjang masa inkubasi selama 2 HSI dibandingkan kontrol.



Gambar 6. Insidensi Penyakit Pustul Bakteri Xag.

Aplikasi *Bacillus spp.*, dapat menekan kejadian penyakit dibandingkan kontrol (Gambar 6.). Kejadian penyakit tampak pada 14 HSI. Kejadian penyakit perlakuan kontrol telah mencapai 100% pada 14 HSI. 14 HSI hingga 21 HSI isolat *Bacillus JG 1.3*, *Bacillus JG 1.4.1* dan *Bacillus BGd 1.1* tidak mengalami perkembangan kejadian penyakit sementara isolat *Bacillus JG 3.6* dan *Bacillus Bp 2.2* meningkat. Pada pengamatan 28 HSI semua perlakuan telah mencapai kejadian penyakit sebesar 100% kecuali perlakuan *Bacillus BGd 1.1* yang mencapai kejadian penyakit 100% pada 35HSI.



Gambar 7. Keparahan Penyakit Pustul Bakteri Xag

Penggunaan *Bacillus spp.*, dapat menghambat insidensi penyakit dibandingkan kontrol (Gambar 7.). Perkembangan penyakit mulai muncul pada 14 HSI. Hasil perlakuan *Bacillus JG 1.3*, *Bacillus JG 1.4.1*, *Bacillus BGd 1.1* dan *Bacillus Bp 2.2* mengalami peningkatan pada 14 HSI hingga 28 HSI sementara pada 28 HSI sampai 42 HSI berkembang lambat kecuali *Bacillus JG 3.6* yang masih meningkat hingga 35 HSI kemudian berkembang lambat hingga 42 HSI. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Bacillus spp.*, membutuhkan rentang waktu yang berbeda-beda agar dapat menekan perkembangan penyakit *Xag*.

Aplikasi *Bacillus spp.* dapat menekan perkembangan keparahan penyakit dibandingkan kontrol (Tabel 3.). Perlakuan *Bacillus BGd 1.1* dan *Bacillus JG 1.3* memiliki pengaruh yang sama dalam menurunkan keparahan penyakit dibandingkan kontrol sementara perlakuan *Bacillus JG 3.6*, *Bacillus JG 1.4.1* dan *Bacillus Bp 2.2* mempunyai kemampuan yang sama dalam menurunkan keparahan penyakit dibandingkan kontrol. Efektivitas pengendalian yang paling tinggi terdapat pada isolat *Bacillus BGd 1.1* sebesar 85,72%. Perkembangan keparahan penyakit dipengaruhi oleh laju infeksi (unit/hari). Aplikasi *Bacillus spp.* dapat menurunkan laju infeksi *Xag* dibandingkan kontrol dengan isolat *Bacillus BGd 1.1* memiliki laju infeksi paling rendah yaitu 0,045unit/hari.

Perkembangan penyakit pustul pada gambar 8 menunjukkan perbedaan keparahan yang terhadap aplikasi *Bacillus spp.*. Daun kedelai (kontrol) memiliki gejala paling parah dibandingkan perlakuan dengan aplikasi *Bacillus spp.*. Daun bergejala tampak bercak pustul dan

robek. Gejala pustul kedelai yang paling parah setelah kontrol adalah perlakuan *Bacillus* JG 3.6, kemudian berturut yaitu *Bacillus* Bp 2.2, *Bacillus* JG 1.3, *Bacillus* JG 1.4.1 dan bercak pustul paling rendah terdapat pada perlakuan *Bacillus* BGd 1.

Tabel 3. Masa Inkubasi, Insidensi penyakit, Keparahan penyakit, Laju Infeksi dan Efektivitas Pengendalian Penyakit Pustul Kedelai

Perlakuan	Masa Inkubasi	Insidensi	Keparahan	Laju	Efektivitas
	(hari)	Penyakit 42HSI (%)	Penyakit 42HSI (%)	Infeksi (unit/hari)	(%)
Tanpa <i>Bacillus</i> spp.	10	100	70,51a	0,118	-
<i>Bacillus</i> JG 1.3	13	100	12,97cd	0,052	81,61
<i>Bacillus</i> JG 3.6	12	100	19,58b	0,063	72,23
<i>Bacillus</i> JG 1.4.1	13	100	12,72bc	0,055	81,96
<i>Bacillus</i> BGd 1.1	13	100	10,07d	0,045	85,72
<i>Bacillus</i> Bp 2.2	12	100	17,22bc	0,060	75,58

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata dalam Uji Duncan 5%.



Gambar 8. Gejala Pustul Kedelai Tiap Perlakuan pada 28 HSI, (A) Kontrol, (B) *Bacillus* JG 1.3, (C) *Bacillus* JG 3.6, (D) *Bacillus* JG 1.4.1, (E) *Bacillus* BGd 1.1, (F) *Bacillus* Bp 2.2

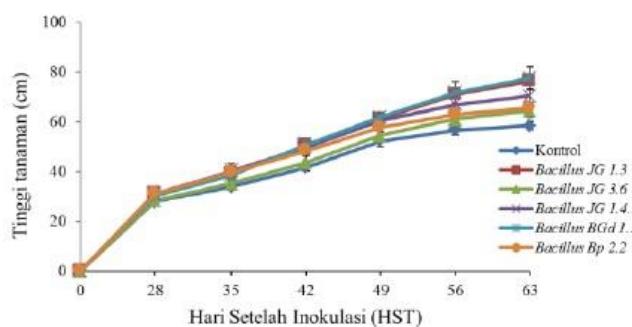
Pertumbuhan Tanaman Kedelai dengan Aplikasi *Bacillus* spp.

Penggunaan *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit pustul kedelai juga dapat membantu pertumbuhan tanaman berupa tinggi tanaman, jumlah cabang dan tetapi tidak mampu mempengaruhi jumlah daun.

Perkembangan tinggi tanaman kedelai semua mengalami kenaikan hingga 63 HST (Gambar 10). Pada 49HST hingga 63HST perlakuan *Bacillus* JG 1.3, dan *Bacillus* BGd 1.1 terus mengalami peningkatan lebih besar daripada perlakuan *Bacillus* JG 3.6, *Bacillus* JG 1.4.1, *Bacillus* Bp 2.2 dan kontrol.

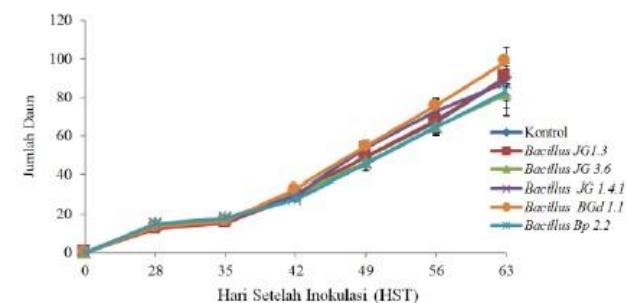


Gambar 9. Tanaman Kedelai Umur 63HST, (A) Kontrol, (B) *Bacillus* JG 1.3, (C) *Bacillus* JG 3.6, (D) *Bacillus* JG 1.4.1, (E) *Bacillus* BGd 1.1, (F) *Bacillus* Bp 2.2



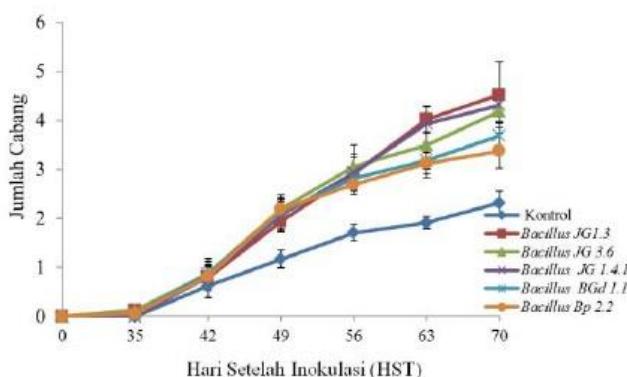
Gambar 10. Perkembangan Tinggi Tanaman Kedelai

Perlakuan *Bacillus* spp., tidak berpengaruh dalam meningkatkan jumlah daun tanaman kedelai yang ditunjukkan dengan pertumbuhan yang sama (Gambar 11.)



Gambar 11. Perkembangan Jumlah Daun Tanaman Kedelai

Perlakuan *Bacillus* spp., berpengaruh dalam meningkatkan jumlah cabang tanaman kedelai (Gambar 12.). Pada 28HST hingga 63 HST perlakuan *Bacillus* JG1.3, *Bacillus* JG 1.4.1 mengalami peningkatan jumlah cabang yang lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya. Perlakuan kontrol mengalami perkembangan jumlah cabang yang lebih sedikit daripada perlakuan dengan aplikasi *Bacillus* spp.



Gambar 12. Perkembangan Jumlah Cabang Tanaman Kedelai.

Pada Tabel 4. Kelima isolat *Bacillus* spp., pada 63HST tidak dapat meningkatkan jumlah daun. Aplikasi kelima isolat *Bacillus* spp., memiliki pengaruh yang sama dalam meningkatkan jumlah cabang. Isolat *Bacillus* BGd 1.1, *Bacillus* JG 1.3 dan *Bacillus* JG 1.4.1 mampu meningkatkan tinggi tanaman sementara isolat *Bacillus* Bp 2.2 dan *Bacillus* JG 3.6 tidak dapat meningkatkan tinggi tanaman dibandingkan kontrol.

Tabel 4. Pertumbuhan Tanaman Kedelai

Perlakuan	Tinggi Tanaman	Jumlah Daun	Jumlah Cabang
	63 HST(cm)	63 HST	63 HST
Tanpa <i>Bacillus</i> spp.	58,50c	90,08a	2,31b
<i>Bacillus</i> JG 1.3	76,29a	90,50a	4,52a
<i>Bacillus</i> JG 3.6	64,27bc	81,75a	4,19a
<i>Bacillus</i> JG 1.4.1	70,37ab	87,88a	4,31a
<i>Bacillus</i> BGd 1.1	77,51a	98,69a	3,69a
<i>Bacillus</i> Bp 2.2	65,53bc	83,06a	3,38a

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata dalam Uji Duncan 5%.

PEMBAHASAN

Penyakit pustul kedelai yang disebabkan oleh *Xag* memiliki gejala awal berupa bintik-bintik kecil berwarna hijau kekuningan kemudian pada gejala lanjut bercak berwarna coklat dan timbul pustul terlihat pada bawah daun kedelai berwarna putih atau coklat. Bercak kemudian menyatu dan menyebabkan daun mudah robek. Gejala dapat dilihat menyebar pada tepi hingga tulang daun. Gejala tersebut sesuai dengan pernyataan Rismunandar (1986) bahwa infeksi *Xag* mengakibatkan daun terdapat titik-titik berwarna hijau kekuningan dan pada bagian tengah berwarna sawo matang agak merah. Titik-titik tersebut kemudian berkembang menjadi bisul yang nampak pada bagian bawah daun, tidak berair dan dapat

melebar serta membentuk bercak sehingga daun akan berwarna sawo matang. Menurut Semangun (1993), daun kedelai dengan infeksi berat dapat menyebakan daun mengering dan rentan sobek.

Bacillus spp., asal filosfer gulma di pertanaman kedelai mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menghambat *Xag* secara *in vitro* berdasarkan uji penghambatan dan mekanisme penghambatan (Tabel 2.). Pembentukan zona hambat tersebut merupakan respon *Bacillus* spp. terhadap patogen dengan mengeluarkan zat antimikroba atau biasa disebut dengan mekanisme antibiosis. Perbedaan zona hambat yang dibentuk oleh *Bacillus* spp. tersebut sesuai dengan Al Saraireh *et al.*, (2015), yang menyatakan bahwa perbedaan zona hambat tersebut terjadi karena *Bacillus* spp., pada beberapa strain menghasilkan konsentrasi dan macam zat antimikroba yang berbeda-beda. Zat antimikroba *Bacillus* spp., yang mampu menghambat perkembangan bakteri yaitu *surfactin*, *iturin*, *bacillomycin*, *azalomycin*, *acicicin*, *anthrobactin*, *rhodotorola acid*, *valinomycin*, *stenothrincin*, *colistin*, *enterochelin* dan *nocardamin* (Narayanasamy, 2013). Mekanisme penghambatan *Bacillus* spp. terhadap *Xag* yang bersifat bakteriostatik artinya *Bacillus* spp. hanya mampu menghambat *Xag* namun tidak membunuh *Xag*. Mekanisme penghambatan yang bersifat bakteriostatik pada konsentrasi tinggi dapat bersifat bakterisidal (Waluyo dalam Wati dkk., 2017).

Pengujian secara *in vitro* menunjukkan bahwa kelima isolat *Bacillus* spp. memiliki diameter koloni yang berbeda-beda. Diameter koloni isolat *Bacillus* spp. yang berbeda-beda tersebut menunjukkan kecepatan pertumbuhan yang berbeda-beda. Perbedaan kecepatan pertumbuhan *Bacillus* spp. berkaitan dengan kemampuannya dalam mengkolonisasi filosfer tanaman.

Pengujian secara *in vivo* menunjukkan bahwa *Bacillus* spp. mampu memperpanjang masa inkubasi, menurunkan keparahan penyakit dan laju infeksi dibandingkan kontrol (Tabel 3). Isolat *Bacillus* JG 1.3, *Bacillus* JG 1.4.1 dan *Bacillus* BGd 1.1 mampu memperpanjang masa inkubasi paling lama yaitu 3 hari dibandingkan kontrol, sementara isolat *Bacillus* JG 3.6 dan *Bacillus* Bp 2.2 memperpanjang masa inkubasi selama 2 hari dibandingkan kontrol. Isolat *Bacillus* BGd 1.1 dan *Bacillus* JG 1.3 mampu menurunkan keparahan penyakit paling baik daridapa isolat *Bacillus* JG 3.6, *Bacillus* JG 1.4.1 dan *Bacillus* Bp 2.2. Kemampuan isolat *Bacillus* spp. dalam menekan perkembangan penyakit diduga berasal dari kemampuan antibiosis berdasarkan uji daya hambatan *Bacillus* spp. terhadap *Xag* secara *in vitro*. Menurut Narayanasamy (2013), salah satu mekanisme *Bacillus* spp. sebagai bioprotektan dalam menghambat patogen adalah melalui mekanisme antibiosis. Kelima *Bacillus* spp. juga

memiliki daya tahan yang baik terhadap lingkungan seperti pernyataan Lindow and Brandl (2003), bahwa kondisi temperatur dan kelembaban yang fluktuatif,

paparan UV, pencucian oleh hujan dan embun serta nutrisi yang terbatas di lingkungan filosfer dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Isolat *Bacillus spp.* yang sebelumnya telah ditumbuhkan dalam biakan murni dengan jangka waktu yang relatif lama juga diduga menurunkan kemampuannya dalam mengendalikan *Xag* di lapangan sehingga pengujian *in vivo* tidak sebaik pada pengujian *in vitro*. *Induce resistant* (ketahanan terinduksi) merupakan mekanisme lain yang terdapat pada isolat *Bacillus spp.* Menurut Compant *et al.*, (2005) *Bacillus spp* sebagai Plant Growth Promoting Phyllosphere Bacteria (PGPB) mampu menginduksi ketahanan tanaman dengan memperkuat dinding sel tanaman, dan meningkatkan sintesis bahan kimia untuk melawan patogen atau stress terhadap lingkungan.

Kelima isolat *Bacillus spp.* tidak dapat meningkatkan jumlah daun tetapi mampu meningkatkan jumlah cabang. Isolat *Bacillus* BGd 1.1, *Bacillus* JG 1.3 dan *Bacillus* JG 1.4.1 mampu meningkatkan tinggi tanaman sedangkan isolat *Bacillus* Bp 2.2 dan *Bacillus* JG 3.6 tidak dapat meningkatkan tinggi tanaman (Tabel 4.). Kemampuan *Bacillus spp.* dalam meningkatkan jumlah cabang dan tinggi tanaman diduga berasal dari kemampuan daya hambatan *Bacillus spp.* terhadap *Xag* yang dimiliki sehingga dapat mengkolonisasi lingkungan filosfer agar terlindung dari *Xag* sehingga tanaman dapat tumbuh dengan baik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kelima *Bacillus spp.* asal filosfer gulma di pertanaman kedelai dapat menghambat *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* secara *in vitro* dan isolat *Bacillus* BGd 1.1 dapat menghambat *Xag* paling besar yaitu 14,25 mm.
2. Kelima *Bacillus spp.* asal filosfer gulma di pertanaman kedelai dapat menghambat perkembangan penyakit pustul bakteri kedelai dan isolat *Bacillus* BGd 1.1 merupakan isolat terbaik dengan efektivitas 85,72%.
3. *Bacillus spp.* asal filosfer gulma di pertanaman kedelai tidak berpengaruh dalam meningkatkan jumlah daun tetapi dapat meningkatkan jumlah cabang dan isolat *Bacillus* BGd 1.1, *Bacillus* JG 1.3, *Bacillus* JG 1.4.1 dapat meningkatkan tinggi tanaman.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, saran yang dapat disampaikan untuk penelitian berikutnya yaitu sebaiknya dilakukan analisis aktivitas senyawa antimikrobia *Bacillus spp.* dalam menekan *Xag*. Saran selanjutnya yaitu sebaiknya setelah aplikasi *Bacillus spp* dilakukan analisis produksi hormon pertumbuhan pada tanaman uji untuk

mengetahui seberapa besar peningkatan hormon pertumbuhan pada tanaman uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Alhuda, S. dan A. Nugroho. 2017. Efikasi herbisida ametrin dan paraquat dalam mengendalikan gulma pada tanaman jagung (*zea mays* L.) varietas pertwi 3. Produksi Tanaman, 5(6): 989-998.
- Al Saraireh, H., W. A. Al Zereini, dan K. A. Tarawneh. 2015. Antimicrobial activity of secondary metabolites from a soil *Bacillus* sp. 7B1 isolated from South Al-Karak, Jordan. Biological Sciences, 8(2): 127-132.
- Chatri, M. 2016. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan Edisi Pertama*. Jakarta: KENCANA.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clement dan E. A. Barka. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Applied and Environmental Microbiology, 71(9): 4951- 4959.
- Dirmawati, S. R. 2005. Penurunan intensitas penyakit pustul bakteri kedelai melalui strategi tanam tumpangsari dan penggunaan agensia hayati. AGRIJATI, 1(1): 6-11.
- Djojosumarto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Egamberdieva, D. 2016. *Bacillus spp.: A Potential Plant Growth Stimulator and Biocontrol Agent Under Hostile Environmental Conditions*. London: Springer.
- Fachruddin, L. 2007. *Budi Daya Kacang-Kacangan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Gutierrez, L. G., H. Zeriouh, D. Romero, J. Cubero, A. D. Vicente, dan A. P. Garcia. 2013. The Antagonistic Strain *Bacillus subtilis* UMAF6639 also confers protection to melon plants against cucurbit powdery mildew by activation of jasmonate and salicylic acid-dependent defence responses. Microbial Biotechnology, 6(3): 286-274.
- Harsono, A. 2017. *Pengenalan dan Pengelolaan Gulma pada Kedelai*. Malang: Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi.
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* sp. Oseana, 25(1): 31-41.
- Heitkamp, E.C., R.S. Lamppa., P.A. Lambrecht., R.M. Harveson., F.M. Mathew., S.G. Markell. 2014. First report of bacterial pustule on soybean in North Dakota. Plant Health Brief, 15 (4): 155-156.
- Khaeruni, A. R., B. Tjahjono, A. Suwanto, dan M. S. Sinaga. 2008. Virulensi sejumlah isolat *Xanthomonas axonopodis* pv *glycines* asal edamame pada tiga varietas kedelai. HPT Tropika, 8(1): 39-40.
- Khaeruni, A., dan H. S. Gusnawaty. 2012. Penggunaan *Bacillus* Sp. sebagai agens biokontrol untuk

- mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman cabai. *Agroteknos*, 2(3): 182-189.
- Lambani, K., dan S. Jahagirdar. 2017. Morphological, cultural, physiological and biochemical characteristics of bacterial pustule of soybean caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. *Pure and Applied Microbiology*, 11(2):1155-1159.
- Lindow, S. E. dan M. T. Brandl. 2003. Microbiology of the Phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4): 1875-1883.
- Mukhtar, I., I. Khokhar dan, S. Mushatq. 2010. Phyllospheric study of some dominant crop weeds. *Pak. J. Weed Sci. Re*, 16(13): 287-297.
- Narayanasamy, P. 2013. Biological Management of Diseases of Crops. London: Springer.
- Nurcahyanti, S. D., dan D. L. W. N. Ayu. 2018. Eksplorasi *Bacillus* sp. sebagai agen antagonis terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* dari filosfer gulma di pertanaman kedelai. *Belum di Publikasikan*.
- Nurcahyanti, S. D., T. Arwiyanto, D. Indradewa, dan J. Widada. 2013. Isolasi dan Seleksi *Pseudomonad fluorescens* pada risosfer penyambungan tomat. *Berkala Ilmu Pertanian*, 1(1): 15-18.
- Nurfitriani, R., N. P. R. A. Krishanti, A. Akhdiya, dan A. T. Wahyudi. 2016. Penapisan bakteri filosfer penghasil senyawa bioaktif anti *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri pada padi. *Sumberdaya Hayati*, 2(1): 19-24.
- Pitojo, S. 2003. *Benih Kedelai*. Yogyakarta: Kanisius.
- Puspitasari, F. D., M. Shovitri, dan N. D. Kuswytasari. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri aerob proteolitik dari tangki septik. *Sains dan Seni ITS*, 1(1): 1-4.
- Rahayu, M. 2016. Patologi dan Teknis Pengujian Kesehatan Benih Tanaman Aneka Kacang. *Buletin Palawija*, 14(2): 78-88.
- Rismunandar. 1986. *Penyakit Tanaman Pangan dan Pembasmiannya*. Bandung: Sinar Baru.
- Rukmana, R., dan H. Yudirachman. 2014. *Budi Daya dan Pengolahan Hasil Kacang Kedelai Unggul*. Bandung Nuansa Aulia.
- Rukayadi, Y., B. Tjahjono, dan A. Suwanto. 2000. Survival and epiphytic fitness of a nonpathogenic mutant of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3): 1183-1189.
- Sain, S. K., dan H. N. Gour. 2013. Pathological and Physiological characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, incitent of *Glycine max* Leaf Pustules. *Indian Phytopath*, 66(1): 20-27.
- Schaad, N. W., J. B. Jones, dan W. Chun. 2001. *Plant Pathogenic Bacteria Third Edition*. Amerika: The American Phytopathological Society.
- Semangun, H. 1993. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sopialena. 2017. *Segitiga Penyakit Tanaman*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- Suriani, dan A. Muis. 2016. Prospek *Bacillus subtilis* sebagai agen pengendali hayati patogen tular tanah pada tanaman jagung. *Litbang Pert*. 35(1): 37-45.
- Swings, J. G. dan E. L. Civerolo. 1993. *Xanthomonas*. London: Chapman & Hall.
- Van der Plank, J. E. (1963). *Plant Disease: Epidemics and Control*. Academic Press, New York.
- Wati, F. D. A., S. D. Nurcahyanti, dan H. S. Addy. 2017. Eksplorasi *Bacillus* sp., dari perakaran kubis sebagai agen antagonis *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Agritrop*, 15(2): 217 - 225.
- Yanti, Y., T. Habazar, Z. Resti, dan D. Suhalita. 2013. Penapisan isolat rizhobakteri dari perakaran tanaman kedelai yang sehat untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glyciness*). *HPT. Tropika*, 13(1): 24 - 34.
- Yanti, Y., T. Habazar, dan Z. Resti. 2017. Formulasi padat rizhobakteria indigenus *Bacillus thuringiensis* TS2 dan waktu penyimpanan untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glyciness*. *J. HPT. Tropika*, 17(1): 9 - 18.
- Zinsou, V. A., L. A. C. Afouda, N. Zoumarou-Walls, T. Pate-Bata, L. Dossou, dan M. Gotz. 2015. Occurrence and characterisation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glyciness*, causing bacterial pustules on soybean in Guinea Savanna of Benin. *African Crop Science*, 23(3): 203 - 210.