

Pemanfaatan Mikroorganisme Antagonis untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Bakteri (*Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*) pada Kapas

Titiek YULIANTI dan Nurul HIDAYAH

Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Jl. Raya Karangploso - Malang

ABSTRACT. Bacterial blight of cotton caused by *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* is one of the important cotton diseases. The pathogen infects all of part of the plant from seedling to fully develop plant. In South Sulawesi, bacterial blight caused severe damage to the plant resulting yield lost up to 50 %. Biological control is now a popular control method for plant diseases. This study aimed to explore bacterial antagonists of bacterial blight. Exploration was conducted in Asembagus, Singosari and Karangploso. Bacteria were isolated from soil and cotton plant parts (root, sleaf, and stem). Six of 140 isolates were able to inhibit the growth of *X. campestris* pv. *malvacearum* *in vitro*. However, only 2 isolates (Asb-D-3 and Asb-D-5) have capability of reducing the disease severity on 48,48% and 45,64% respectively.

Keywords: *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, cotton, antagonist, biological control

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit utama pada pertanaman kapas di Indonesia adalah penyakit hawar bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *malvaceamm*. Penyakit ini menyerang seluruh stadia tanaman, mulai tanaman berkecambah sampai tanaman dewasa dan berbuah. Penyakit berkembang pada suhu 30-36 °C dengan kelembaban udara di atas 85 %. Penyakit ini cukup potensial menurunkan produksi kapas di Indonesia. Daerah endemik hawar bakteri selama ini adalah di daerah Cikoang (Sulawesi Selatan). Menurut pihak PTP 23 (komunikasi pribadi) di Cikoang penurunan produksi akibat penyakit ini berkisar 10-23 %. Kanro (1989) menyatakan bahwa serangan yang berat mampu menurunkan produksi sampai 50 %.

Sampai saat ini belum ditemukan metode pengendalian yang efektif. Sistem pengendalian yang ada, misalnya penggunaan bakterisida, varietas tahan, sanitasi sisa-sisa tanaman sakit, serta penggunaan benih tanpa kabu-kabu dari tanaman yang sehat masih belum memberikan hasil yang memuaskan.

Banyaknya laporan tentang tercemarnya lingkungan dan musnahnya sejumlah spesies mikroorganisme akibat pemakaian pestisida kimia yang intensif menyebabkan para peneliti berusaha mencari alternatif pengendalian yang lebih aman, ramah lingkungan, serta sudah tersedia di alam. Pengendalian hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan dan banyak dikaji kemungkinan pengembangannya. Khusus untuk bakteri ini, masih belum banyak diteliti tentang peran bakteri phylloplane (bakteri penghuni kanopi) sebagai antagonis *X. C.* pv. *malvacearum*. Eksploitasi mikroorganisme antagonis untuk mengendalikan penyakit hawar bakteri pada tanaman kapas perlu dilakukan untuk mengurangi penggunaan pestisida kimia.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari mikroorganisme antagonis bagi *X. c.* pv. *malavacearum* baik yang berasal dari bahan tanaman (akar, daun, tunas, buah, maupun batang) maupun dari tanah sekitar pertanaman kapas

Xanthomonas campestris pv. *malvacearum* (E.F. Smith) Dye merupakan nama terakhir yang umum digunakan untuk bakteri patogen penyebab penyakit hawar bakteri pada kapas (Dye *et al.*, 1980). Penyakit akan berkembang jika lingkungannya menunjang. Suhu optimum untuk perkembangan penyakit ini adalah 30-36 °C dengan kelembaban di atas 85 % (Allen, 1988) Sumber infeksi primer penyakit ini adalah benih dan sisa-sisa tanaman. Infeksi terhadap kotiledon terjadi akibat kotiledon kontak dengan kulit biji atau sisa-sisa tanaman selama proses perkecambahan. Infeksi sekunder terjadi setelah kecambah muncul di atas permukaan tanah melalui angin ataupun percikan air hujan dan irigasi. Menurut Allen (1988) gejala muncul 7-14 hari setelah infeksi. Hillocks (1992) menegaskan bahwa bila jaringan palisade dan mesofil hancur, ketika itulah terlihat lesi kering berwarna tua pada permukaan daun.

Beberapa cara pengendalian sudah dianjurkan, misalnya penggunaan varietas tahan, sanitasi, penggunaan benih 'acid delinted' dari tanaman sehat, ataupun penggunaan antibiotik streptomycin sulfat. Namun hasilnya masih belum memuaskan (Yulianti dan Ibrahim, 1997).

Secara alami sebenarnya mikroorganisme berinteraksi satu sama lain membentuk suatu keseimbangan. Perubahan ekosistem akibat pertanian intensif menyebabkan salah satu mikroorganisme diuntungkan, tetapi yang lain dirugikan. Kondisi ini menyebabkan terjadinya epidemi penyakit. Agar keseimbangan alam kembali, maka mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap patogen harus ditingkatkan atau diintroduksi ke lingkungan di mana sering terjadi penyakit. Sebenarnya

pennukaan daun ataupun bagian tanaman yang lain banyak dihuni oleh mikroorganisme saprofit seperti bc:Ucteri, kapang, ataupun cendawan yang mungkin bersifat antagonis bagi *X c. pv. malvacearom*. Menurut Venna (1986) populasi bakteri phyllosphere semakin meningkat dengan meningkatnya umur serta kelembaban di atas daun. Bagian tanaman yang paling tinggi populasinya berturut-turut adalah daun, tunas, pucuk, buah, dan batang. Biasanya mereka terdiri dari kelompok koloni kuning cerah dan koloni putih.

Beberapa bakteri yang dilaporkan mampu menekan pertumbuhan dan perkembangan hawar bakteri antara lain adalah: *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, dan *Sterptomyces anllliatus*. Selain dari kelompok bakteri, mikroorganisme yang bersifat antagonistik terhadap *X c. pv. malvacearum* juga ada yang berasal dari kelompok cendawan, misalnya: *Penicillium* sp., *P. urticae*, *P. multicolor*, *P. wahmanii*, dan *P. variabile*. Selain dari tanaman kapas segar, bakteri *Agrobacterium* yang diisolasi dari sisa-sisa tanaman dilaporkan mampu menurunkan serangan *X c. pv. malvacearum* (Habish, et al., 1968). Mekanisme antagonis pada phyllosphere dijelaskan oleh Sing and Faull (1988) sebagai kompetisi nutrisi dan ruang, antibiosis, dan hiperparasitisme

Untuk mengetahui peran mikroorganisme phyllosphere ini terhadap *X c. pv. malvacearum* perlu dilakukan eksplorasi dan pengujian di laboratorium dan rumah kaca.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium dan rumah kaca fitopatologi, Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat. Bakteri antagonis diisolasi dari sampel tanah dan bahan tanaman kapas yang diperoleh dari di Asembagus, Karangploso, dan Singosari. Isolasi antagonis berasal dari tanah menggunakan metode Arwiyanto (1997), yaitu metode pegenceran sebagai berikut: 10 gram tanah dicampur dengan 90 mL bufer fosfat 0,1 M pH7,0 ditambah pepton 0,1 %. Suspensi tersebut diputar selama 30 menit. Kemudian diencerkan dengan buffer yang sama sampai 10^{-3} . Pada pengenceran terakhir diambil 0,1 ml dan diteteskan ke atas media tryptic soy agar + 100 ppm sikloheksimid (untuk membunuh jamur) lalu diratakan. Biakan kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C . Sedangkan isolasi bakteri yang berasal dari bagian tanaman menggunakan prosedur dari Dhingra and Sinclair (1986) yang dimodifikasi, 10 gram bagian tanaman dihancurkan dulu sebelum dicampur, lalu disaring dengan kain saring. Kemudian diencerkan sampai 10^{-3} dengan buffer fosfat. Suspensi dibiakkan pada media agar daun dan tripic soy agar. Koloni tunggal yang diperoleh dipindah untuk dimurnikan dan diperbanyak untuk penelitian tahap selanjutnya.

Uji invitro. Uji antagonisme *in vitro* menggunakan, metode zona hambatan. Suspensi *X c. pv. malvacearum* 0,1 ml dituang ke atas medium nutrien agar lalu

diratakan. Satu titik biakan murni bakteri antagonis berumur 48 jam ditumbuhkan di atasnya. Sebagai kontrol suspensi dituang ke atas media tanpa bakteri antagonis. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada 30°C . Parameter yang diamati adalah: zone hambatan yang terbentuk

Uji invivo. Bakteri yang secara *in vitro* memberikan hasil terbaik dan bersifat antagonis secara konsisten digunakan dalam pengujian *in vivo*. Metode yang digunakan adalah gabungan metode Verma (1986) dengan metode Dhingra and SinClair (1986). Tanaman kapas berumur 2 minggu dibersihkan dengan larutan alkohol 70 % selama 30 detik kemudian dispray dengan suspensi bakteri antagonis sebelum diinokulasi dengan *X c. pv. malvacearum*. Penyemprotan bakteri antagonis dilakukan 24 jam sebelum inokulasi patogen pada bagian bawah daun, demikian juga untuk *X c. pv. malvacearum*. Setelah diinokulasi, tanaman diinkubasi dalam kontainer plastik tertutup yang di bawahnya diberi air sehingga kelembabannya tinggi (85-100 %). Sebagai kontrol daun diinokulasi dengan bakteri antagonis saja atau patogen saja.

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan ulangan lima kali. Satu unit perlakuan adalah satu cawan Petri untuk pengujian *in vitro* sedangkan untuk pengujian *in vivo* satu unit perlakuan adalah 25 tanaman. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisa statistik dan uji BNT pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil eksplorasi bakteri dari tanah dan tanaman kapas di daerah Asembagus, Karangploso, dan Singosari diperoleh 140 jenis bakteri yang mempunyai penampakan koloni berbeda. Jumlah terbesar diperoleh dari tanah menyusul daun, akar, buah dan batang. Jenis yang diperoleh dari Asembagus dan Karangploso lebih banyak daripada yang berasal dari Sigosari (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri hasil isolasi dari tanah dan bagian tanaman kapas

| Asal Sampel | Tanah | Akar | Batang | Daun | Buah | Jumlah |
|-------------|-------|------|--------|------|------|--------|
| Asembagus | 15 | 10 | 3 | 15 | 5 | 48 |
| Karangploso | 13 | 10 | 5 | 17 | 3 | 48 |
| Singosari | 21 | 4 | 2 | 10 | 7 | 44 |
| Jumlah | 49 | 24 | 10 | 42 | 15 | 140 |

Uji *in vitro*

Dari 140 isolat yang berhasil dimurnikan, ternyata hanya 6 isolat yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *X c. pv. malvacearum*, semuanya berasal dari daun. Isolat-isolat tersebut berasal dari Asembagus (4 isolat) dan Karangploso (2 isolat). Namun yang memberikan hasil konsisten dari beberapa kali pengujian *in vitro* hanya 4

isolat yang berasal dari Asembagus. Pada tabel 2. di bawah ini hanya isolat yang menghasilkan zona hambatan yang ditampilkan. Sedangkan kontrol dan isolat lain yang tidak menghasilkan zona hambatan nilainya dianggap sarna dengan kontrol (0) tidak ditampilkan dan tidak diikutkan dalam analisa statistik. Zona hambatan terbesar dihasilkan oleh isolat yang berasal dari daun Asembagus (Asb D-3) dengan nilai rata-rata: 33.78 mm².

Tabel 2. Luas zona hambatan yang dihasilkan oleh bakteri antagonis

| No. | Nomor Isolat | Luas zona hambatan (mm ²) |
|-----|--------------|---------------------------------------|
| 1. | Asb-D3 | 33.78 d |
| 2. | Asb-D5 | 6.96 b |
| 3. | Asb-D8 | 14.70 c |
| 4. | Asb-D9 | 5.06 ab |
| 5. | Kr-D1 | 1.70 ab |
| 6. | Kr-D12 | 1.38 a |
| | BNT 5 % | 5.275 |

Sifat koloni dari enam isolat yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *X c. pv. malvacearum* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat koloni bakteri antagonis

| No | Isolat | Sifat : |
|----|---------|---|
| 1. | Asb-D-3 | Putih, bercabang, keruh, berkembang melebar dan berlekuk pada bagian tepi. |
| 2. | Asb-D-5 | Putih keruh agak bulat. Menghasilkan warna merah 'kecoklatan pada media jika sudah tua (3 hari) |
| 3. | Asb-D-8 | Putih kekuningan, tipis, pertumbuhan relatif lebih cepat |
| 4. | Asb-D-9 | Kuning cerah menghasilkan warna hijau, merah kecoklatan pada media jika sudah tua (3 hari) |
| 5. | Kr-D-1 | Putih |
| 6. | Kr-D-12 | Putih keruh pertumbuhan melebar dan agak berlekuk. |

Uji *in vivo*

Isolat bakteri yang bersifat antagonis *in vitro* diuji kemampuannya dalam menghambat perkembangan penyakit hawar bakteri pada bibit kapas (*in vivo*). Ternyata isolat yang menghasilkan zona hambatan banyak bukan berarti yang paling baik menekan perkembangan penyakit. Dibandingkan dengan isolat Asb-D-3 dan Asb-D-8, isolat Asb-D-5 mempunyai zona hambatan lebih sempit, tetapi pada pengujian *in vivo*

kemampuannya menekan perkembangan penyakit lebih konsisten dan terbaik (tabel 4.). Intensitas penyakit pada bibit kapas yang disemprot dengan isolat Asb-D-5 menurun sebesar 16.69 %.

Tabel 4. Intensitas serangan *X c. pv. malvacearum* pada bibit kapas yang disemprot antagonis

| No. | Perlakuan | 1 minggu | 2 minggu | 3 minggu |
|-----|-----------|-----------------------|----------|-----------------------|
| 1. | Kontrol | 56.04 a ^{*)} | 46.29 | 36.57 a ^{*)} |
| 2. | Asb-D-3 | 43.02 bc | 42.86 | 18.84 c |
| 3. | Asb-D-9 | 46.83 ab | 36.88 | 23.57 bc |
| 4. | Asb-D-8 | 32.37 c | 33.73 | 26.42 b |
| 5. | Asb-D-5 | 33.94 c | 36.74 | 19.88 c |
| | BNT 5% | 11.05 | tn | 6.09 |
| | KK | 19.39 | 23.35 | 18.14 |

^{*)}: Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata dalam uji BNT 5%

Populasi dan jenis bakteri terbanyak berasal dari tanah, tetapi tidak ada satupun dari isolat tersebut yang mempunyai kemampuan menghambat bakteri *X c. pv. malvacearum*. Isolat yang mampu menghambat *X c. pv. malvacearum* semuanya berasal dari daun. Hal ini disebabkan karena bakteri tersebut secara alami biasa berasosiasi dengan *X c. pv. malvacearum* yang umum menyerang daun.

Dengan bertambahnya umur tanaman, intensitas serangan *X c. pv. malvacearum* cenderung menurun, baik pada kontrol maupun pada tanaman yang diberi perlakuan antagonis. Hal ini karena daun-daun yang terserang ada yang rontok sehingga tidak dihitung lagi. Penyemprotan kotiledon dan daun bibit kapas dengan bakteri antagonis semuanya menurunkan intensitas serangan *X c. pv. malvacearum*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri-bakteri tersebut mampu menghambat perkembangan *X c. pv. malvacearum*. Menurut Verma (1986) suatu senyawa biosida yang dihasilkan oleh *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* dan *streptomyces* mampu menghambat pertumbuhan bahkan membunuh *X c. pv. malvacearum*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat bakteri yang bersifat antagonistik bagi *X c. pv. malvacearum* semuanya berasal dari daun, terutama yang berasal dari Asembagus.

Isolat terbaik dalam menghambat perkembangan intensitas serangan *X c. pv. malvacearum* adalah isolat yang berkode Asb-3, Asb-D-5 masing-masing dapat menekan penyakit hawar bakteri di rumah kaca sebesar 48,48% dan 45,64%. Penelitian ini masih merupakan penelitian awal. Penelitian selanjutnya adalah mengidentifikasi bakteri serta membuat formulasi untuk meningkatkan kemampuan antagonisnya.

DAFTAR PUS TAKA

- Allen, S.J. 1988. Diseases of cotton. *Agfact* P5.AB.3. Department of Agriculture. New South Wales. 7 hal.
- Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau: 1. Isolasi bakteri antagonis. *Jurnal Perlindungan Tanaman*. **3**(1): 54-59.
- Dhingra, O.D. and Sinclair, B. 1985. *Basic Plant Pathology Methods*. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. 355 pp.
- Dye, D.W., Bradbury, J.F., Goto, M., Hayward, AC. Lelliot, RA, and Schroth, M.N. 1980. International standard for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Review of Plant Pathology* **59**: 153-168.
- Habish, HA. 1968. Role of antagonistic bacterium in the decline of *X. malvacearum* in wet cotton debris. *Cotton Grow. Review*. **45**: 36.
- Hillock, R.J. 1992. *Bacterial Blight*. in Hillocks, R.J. (ed.). *Cotton Diseases*. CAB International, Wallingford. pp 39-85.
- Singh, J. and Faull, J.L. 1988. *Antagonism and Biological Control*. in Mukelji, K.G. and Garg, K.L. (eds). 1988. *Biocontrol of Plant Diseases*. **2**: 167-177.
- Verma, J.P. 1986. *Bacterial Blight of Cottoll*. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. 278 hal.
- Yulianti, T. dan Ibrahim, N. 1997. Penyakit Hawar Bakteri pada Kapas. *Prosiding Diskusi Kapas Nasional*.