

Pengendalian Penyakit Layu pada Pisang dengan Bakteri Antagonis *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*

Paniman Ashna MIHARDJO dan Abdul MAJID

Fakultas Pertanian Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37 Jember 68121

ABSTRACT. Fusarium wilt on bananas caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* were important and were distributed most of the centre of bananas farm in Indonesia. Both Culture technically and chemically were unable to control this pathogen because they ability to form Clamydospore and to infect alternative hosts. The use of antagonistic bacteria such as *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* were able to control plant pathogens both in rhizosphere or in phyllosphere because their ability to produce secondary metabolites such as siderophore, antibiotics, volatile substances, Cyanide acid, extracellular enzymes and phytohormones. This research was conducted in Laboratory of Plant Pathology and greenhouse of Pest and Plant Diseases Department. The steps of research included exploration of antagonistic bacteria using Schaad methods, identification using Schaad, Palleron, Lelliot and Stead Methods. Last steps were done by in vitro and in vivo tests. The result showed that combination of two bacterias were able to inhibit the pathogen in vitro (70,2% - 88,1%), while in vivo test with three to four applications in frequency were able to decrease disease intensity up to 81, 6%.

Keyword (s): *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, Fusarium wilt, Banana

PENDAHULUAN

Penyakit layu Fusarium pisang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* F.sp. *Cubense*. Penyakit ini sangat merugikan dan sulit di kendalikan baik dengan kultur tehnik seperti rotasi tanam maupun secara kimiawi. Hal ini dikarenakan patogen memiliki kemampuan untuk bertahan dalam tanah (*soil borne*) dalam bentuk Klamidospora dan memiliki kisaran inang yang luas (Sivamani dan Gnanamanickam, 1997). Oleh karena itu perlu upaya pengendalian yang efektif dan ramah lingkungan yaitu dengan memanfaatkan agens pengendali hayati (Asrul dkk., 2004). Di antara agens hayati yang banyak dimanfaatkan adalah bakteri *P. fluorescens* dan *Bacillus subtilis*.

P. fluorescens banyak dilaporkan mampu mengendalikan patogen tumbuhan terbawa tanah (Hass and keel, 2003; Kazempour, 2004; Ongena *et al.*, 2000) dan diketahui mampu bertahan lama hidup baik di rizosfer maupun di filosfer (Beattle and lindow, 1995). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri kelompok pseudomonas pendar fluor mampu mengendalikan penyakit penyakit, baik diperakaran maupun di daun (Gupte *et al.*, 2001; Majid, 2002; Elad *et al.*, 1985; Raaljmakerm, 1995). Selain bakteri psedomonas pendar fluor, bakteri *Bacillus subtilis* juga merupakan bakteri yang potensial untuk mengendalikan penyakit tular tanah (Broadbent *et al.*, 1991; Janisewics dan rotman, 1988).

Janisewics dan rotman (1988) menyatakan bahwa beberapa bakteri antagonis jika dikombinasikan ternyata dapat mengendalikan penyakit secara simultan dan sinergi, sehingga makin efektif. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian potensi kombinasi

bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* dalam mengendalikan penyakit layu fusarium pada pisang. Kombinasi perlakuan tersebut diharapkan dapat meningkatkan adaptabilitas terhadap kultivar, tanah, patogen dan lingkungan sehingga memiliki potensi yang lebih unggul serta dapat mengendalikan penyakit secara simultan dan sinergi.

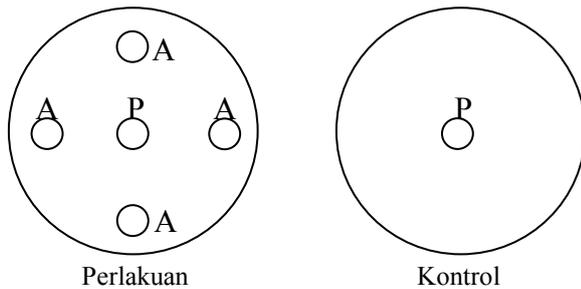
METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan dan Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Jember. Tahapan penelitian meliputi Eksplorasi bakteri antagonis di lakukan dengan metode (Schaad, 2001). Sedangkan identifikasi bakteri dilakukan dengan metode Schaad (2001) dan Palleroni (1984), Lelliot dan stead (1978). Penelitian efektifitas Bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* terhadap penyakit layu fusarium pada pisang dilakukan melalui dua tahap yaitu penelitian secara *in vitro* dan penelitian secara *in vivo*.

Pengujian Efektivitas Bakteri Antagonis secara *in vitro*. Pengujian kemampuan antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* terhadap *F.oxysporum* secara *in vitro* ditujukan untuk mengetahui dan menyeleksi isolat yang telah diidentifikasi dari beberapa lokasi dan menunjukkan potensi penghambatan yang paling besar terhadap patogen. Selanjutnya 3 isolat yang terpilih akan digunakan untuk pengujian secara *in vivo*.

Pengujian antagonistik dilakukan dengan menggunakan metode *Dual cultures* (Montealegre *et al.*, 2003). Satu cakram kultur murni patogen *F. Oxysporum* diletakkan

ditengah –tengah media uji dalam petridis. Sebanyak satu ose masing- masing bakteri yang diuji (5×10^9 CFU/ml) digoreskan membentuk lingkaran dengan diameter 6 cm mengelilingi cakram *F. oxysporum* dan diinkubasi selama 7 hari (Gambar 1). Pengamatan dilakukan dengan menghitung zona hambatan hingga pada hari ke 7 setelah inokulasi. Isolat bakteri antagonis yang memiliki kemampuan menghambat terbesar terhadap patogen *F. oxysporum* diduga memiliki potensi paling unggul. Selanjutnya di perbanyak dan digunakan untuk penelitian dan pengujian lanjutan.



Gambar 1. Bentuk uji antagonis bakteri *P.fluorescens* dan *B.subtilis* (A) terhadap patogen *F.oxysporum* (P) secara *in vitro* (Montealegre *et al.*, 2003).

Presentase penghambatan pertumbuhan Jamur patogen oleh bakteri antagonis dihitung berdasarkan rumus :

$$I = \frac{d_1 - d_2}{d_1} \times 100\%$$

I = Presentase penghambatan

d_1 = Diameter koloni Jamur *F. oxysporum* pada kontrol

d_2 = Diameter koloni jamur *F. oxysporum* pada perlakuan

Pengujian Efektivitas Antagonis secara *In Vivo*.

Pengujian dilakukan untuk mengetahui keunggulan dan efektifitas bakteri antagonis dalam mengendalikan penyakit layu fusarium. Penelitian dilakukan di *Green House*.

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, dua faktor. Faktor Pertama adalah macam bakteri antagonis (A) yang terdiri dari bakteri *P. fluorescens* (A1), *Bacillus subtilis* (A2), kombinasi *P. fluorescens* dan *B. subtilis* (A3), *Fungisida Dhitane M 45* (A4) sebagai pembanding. Faktor Ke dua adalah frekwensi aplikasi bakteri (B) yang terdiri dari 0 kali (B1), 1 kali (B2), 2 kali (B3), 3 kali (B4), dan 4 kali (B5). Kombinasi perlakuan di ulang sebanyak tiga kali.

Bibit pisang yang digunakan adalah bibit yang berumur 2 bulan variets kepok. Inokulasi suspensi bakteri antagonis yang pertama dilakukan bersamaan dengan penanaman bibit dengan cara menyiramkan pada pangkal batang pisang dengan kerapatan 10^4 cfu, sebanyak 25 ml per pot, sedangkan pada kontrol digunakan air steril. Aplikasi bakteri selanjutnya dilakukan sesuai dengan rancangan penelitian dengan interval aplikasi 7 hari sekali. Inokulasi Jamur patogen dilakukan 1 kali yaitu pada awal penanaman bibit dengan cara menyiramkan suspensi jamur *F. oxysporum* dengan kerapatan $1,5 \times 10^6$

/ ml sebanyak 25 ml per pot. Pengamatan intensitas penyakit dilakukan hingga 60 hari setelah tanam dengan cara skoring sebagai berikut:

Skor	Keterangan
0	Daun sehat
1	1 helai daun kuning
2	2 – 3 daun kuning
3	4 - 5 daun kuning
4	> 5 daun kuning/mati

Persen intensitas (P) penyakit dihitung dengan rumus :

$$P = \frac{\sum xv}{N \times Z} \times 100 \%$$

n = Jumlah tanaman yang diamati dengan skor tertentu

v = Nilai skor

N = Jumlah daun yang diamati

Z = Nilai skor yang tertinggi

Analisa Data. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan baik di laboratorium maupun Di rumah kaca di analisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). hasil penelitian selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dilakukan pada taraf kepercayaan 95 % . Pengujian beda nyata dilakukan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk perlakuan dilaboratorium dan Uji jarak Duncan untuk perlakuan di rumah kaca. Keandalan kombinasi perlakuan bakteri antagonis terhadap penyakit layu fusarium pada pisang ditunjukkan dengan semakin kecilnya intensitas penyakit layu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

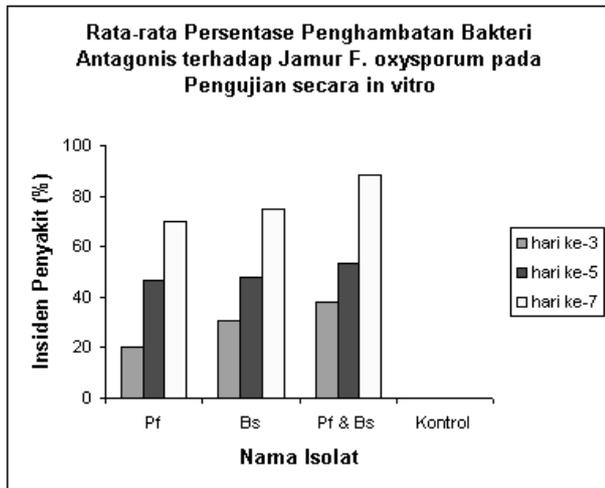
Hasil pengamatan gejala penyakit menunjukkan bahwa masa inkubasi penyakit berbeda antara kontrol dan perlakuan dengan aplikasi antagonis. Pada kontrol gejala muncul pada hari ke 10, sedangkan pada perlakuan dengan aplikasi antagonis bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* gejala penyakit ,mengalami penundaan hingga pada hari ke 17 – 20 hari setelah inokulasi (his). Penundaan masa inkubasi tersebut menunjukkan bahwa bakteri antagonis yang digunakan telah mampu bekerja untuk menghambat perkembangan patogen, yaitu dengan menggunakan mekanisme antibiotik maupun dengan cara mekanisme induksi ketahanan terhadap penyakit. Oejiono (1994) menyatakan bahwa bakteri antagonis dapat menghambat perkembangan patogen dengan cara memproduksi antibiotik dan siderofor.

Pada tanaman yang tidak terserang patogen (Aplikasi bakteri Antagonis) menunjukkan rata rata pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan yang tidak di beri antagonis. Hal ini terjadi mungkin disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah karena kemampuan antagonis untuk menghasilkan beberapa senyawa yang berfungsi baik sebagai *bioprotektan* juga senyawa

biostimulan dan biofertilizer yang berfungsi sebagai pemacu dan menyuburkan tanaman .

Pengujian secara *in vitro* di Laboratorium

Hasil pengujian antagonisme secara invitro bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *Bacillus subtilis* baik yang diaplikasikan secara tunggal maupun kombinasi dari kedua bakteri tersebut dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar1. Rata rata Persentase penghambatan bakteri antagonis terhadap jamur *F. oxysporum* pada pengujian secara *in vitro*

Gambar 1. menunjukkan bahwa bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* maupun kombinasi dari kedua tersebut ternyata mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *F.oxysporum* dalam cawan petri. Namun demikian pada masing masing perlakuan tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang nyata baik aplikasi secara tunggal maupun perlakuan kombinasi antagonis dan berbeda nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Pada perlakuan *P.fluorescens*, *B.subtillis* dan kombinasi *P fluorescens* dan *B. subtilis* mampu menghambat patogen masing masing sebesar 70,2 %, 74,6% dan 88,1% sedangkan pada kontrol tidak terjadi hambatan.

Menurut Oejiono (1994) mekanisme penghambatan patogen oleh mikrobia antagonis umumnya disebabkan karena proses antibiosis, kompetisi nutrisi dan parasitisme. Menurut Kurniawan (1996) aktifitas bakteri antagonis *P. fluorescens* dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen dalam media biakan di sebabkan oleh kemampuannya untuk mengambil unsur besi dari media dengan membentuk kompleks besi pigmen . Pigmen yang dihasilkan bakteri ini lebih memperlihatkan sifat fungistatik Lebih lanjut wakimoto *et. al* (1986) menyatakan bahwa kemampuan menghambat pertumbuhan jamur *F.oxysporum* tersebut adalah karena adanya zat antibiosis yang dihasilkan oleh bakteri dan secara difusi melalui medium dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen serta karena produksi siderofor yang dapat menghelat ion ion besi yang dibutuhkan oleh patogen . Sehingga ketersediannya

dalam medium menjadi berkurang atau sama sekali tidak tersedia.

Kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen secara *in vitro* membuktikan bahwa bakteri tersebut mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai agens hayati untuk mengendalikan penyakit layu yang disebabkan oleh patogen *F. oxysporum* .

Pengujian secara *in vivo* pada Polibag di Rumah kaca.

Hasil pengujian antagonisme *P. fluorescens*, *B.subtillis* dan kombinasi *P fluorescens* dan *B. subtilis* terhadap insiden penyakit layu fusarium pada pisang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Insiden Penyakit layu fusarium pada pisang pada berbagai kombinasi perlakuan pada pengamatan 15 ; 30; dan 45 hari setelah inokulasi (hsi) (%)

Perlakuan	Pengamatan (his)		
	15	30	45
Aplikasi antagonis 1 kali			
Tanpa antagonis	2.1	22.4	78.8 a
<i>P.fluorescens</i>	1.4	18.5	50.4b
<i>B.subtillis</i>	1.4	21.8	54.7 b
<i>P.fluorescens</i> dan <i>B.subtillis</i>	1.2	13.0	39.8 c
Aplikasi antagonis 2 kali			
Tanpa antagonis	1.4	26.4	80.4 a
<i>P.fluorescens</i>	1.4	13.6	53.3 b
<i>B.subtillis</i>	1.4	21.9	50.7 b
<i>P.fluorescens</i> dan <i>B.subtillis</i>	0.0	10.8	40.5 c
Aplikasi antagonis 3 kali			
Tanpa antagonis	2.5	24.8	85.1a
<i>P.fluorescens</i>	0.0	12.5	23.5d
<i>B.subtillis</i>	1.4	12.5	20.4df
<i>P.fluorescens</i> dan <i>B.subtillis</i>	1.4	9.8	14.6f
Aplikasi antagonis 4 kali			
Tanpa antagonis	1.4	21.0	83.5 a
<i>P.fluorescens</i>	0.0	9.9	25.2 d
<i>B.subtillis</i>	0.0	10.9	20.1 df
<i>P.fluorescens</i> dan <i>B.subtillis</i>	1.4	7.9	12.4 f
Aplikasi Ditane 45 (Pembanding)	0.0	1.4	25.6 d

Huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji jarak berganda Duncan,s 5 %

Tabel 1 menunjukkan bahwa insiden penyakit layu fusarium pada pisang pada pengamatan 15 hari setelah inokulasi belum menunjukkan tingkat serangan yang berarti pada semua perlakuan aplikasi macam bakteri antagonis maupun pada kontrol. Insiden penyakit rata rata masih sekitar 1 %.. Begitu juga pada perlakuan frekwensi aplikasi baik 1,2,3 maupun 4 kali juga tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Bahkan pada perlakuan dengan Fungisida Dithane M. 45 semua tanaman belum ada yang terserang oleh jamur *F. oxysporum* penyebab penyakit layu pada pisang. Pada pengamatan 30 hari setelah inokulasi tanda –tanda peningkatan insiden penyakit mulai terjadi. Pada perlakuan aplikasi bakteri antagonis insiden penyakit rata rata lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Pada Kontrol (tanpa perlakuan bakteri antagonis) insiden

penyakit berkisar antara 21,0-26,4 % sedangkan pada perlakuan dengan pemberian antagonis insiden penyakit dapat ditekan, yaitu berkisar antara 7,9%-21,9 %.

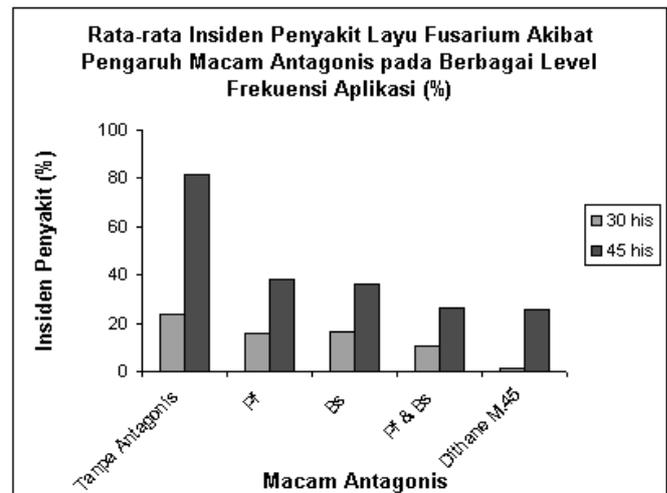
Sedangkan pada perlakuan dengan frekwensi aplikasi yang berbeda juga cenderung berpengaruh terhadap insiden penyakit yang ada. Pada frekwensi aplikasi 1 kali dan 2 kali insiden penyakit dapat menurun, akan tetapi penurunannya hampir tidak menunjukkan perbedaan antara ke dua perlakuan tersebut. Sementara itu pada perlakuan dengan frekwensi aplikasi bakteri antagonis 3 dan 4 kali insiden penyakit lebih rendah dibandingkan dengan 1 dan 2 kali aplikasi. Namun demikian apabila dibandingkan antara frekwensi aplikasi bakteri antagonis 3 dan 4 kali tidak menunjukkan perbedaan dalam menurunkan insiden penyakit. Hal ini berarti bahwa aplikasi bakteri antagonis tidak cukup hanya diberikan hanya satu kali namun perlu dilakukan secara berulang yaitu hingga sebanyak 3-4 kali aplikasi. Frekwensi aplikasi ini dirasakan telah cukup efektif dapat menekan insiden penyakit, sehingga aplikasi berikutnya dirasa tidak perlu lagi karena dapat menyebabkan inefisiensi, hal ini mengingat bahwa pada aplikasi dengan frekwensi 4 kali ternyata tidak meningkatkan efektifitas dari bakteri antagonis.

Sementara itu pada aplikasi fungisida dithane M45 insiden penyakit baru mulai terjadi pada pengamatan 30 hari setelah inokulasi dengan persentase yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan bakteri antagonis yaitu hanya sebesar 1,4 %. Sedangkan pada perlakuan yang lain gejala penyakit sudah mulai tampak pada 10-17 hari setelah inokulasi.

Pada pengamatan 45 hari setelah inokulasi semakin menunjukkan perbedaan yang sangat jelas antara semua perlakuan dengan kontrol. Pada pengamatan ini terjadi peningkatan insiden penyakit pada semua kombinasi perlakuan, dan menunjukkan perbedaan yang nyata. Insiden penyakit tertinggi terjadi pada kontrol yaitu mencapai 78,8 – 85,1 %. Sedangkan insiden penyakit terendah terdapat pada kombinasi perlakuan aplikasi *P.fluorescens* dan *B. subtilis* yang diaplikasikan bersamaan dengan frekwensi aplikasi 3 dan 4 kali dengan insiden penyakit masing masing sebesar 12,4% dan 14,6 %. Hal ini berbeda nyata apabila dibandingkan dengan aplikasi secara tunggal dari masing masing bakteri antagonis tersebut dengan insiden penyakit lebih tinggi dari pada apabila bakteri tersebut dikombinasikan yaitu mencapai 20,3-25,6 % pada frekwensi aplikasi 3 dan 4 kali. Hal ini berarti bahwa aplikasi bakteri antagonis dapat berpengaruh secara nyata menurunkan insiden penyakit layu fusarium pada pisang.

Pada tabel tersebut juga diketahui bahwa frekwensi aplikasi bakteri antagonis dapat berpengaruh menurunkan insiden penyakit dan menunjukkan perbedaan yang nyata terutama antara aplikasi 1 dan 2 kali bila dibandingkan dengan aplikasi 3 dan 4 kali. Pada frekwensi aplikasi 1 dan 2 kali insiden penyakit berkisar antara 39,8 % -54,7 %. Sedangkan pada frekwensi aplikasi 3 dan 4 kali insiden penyakit lebih rendah yaitu berkisar antara 12,4 % - 25,2 %.

Data hasil pengamatan pengaruh dari macam bakteri antagonis yang digunakan menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.



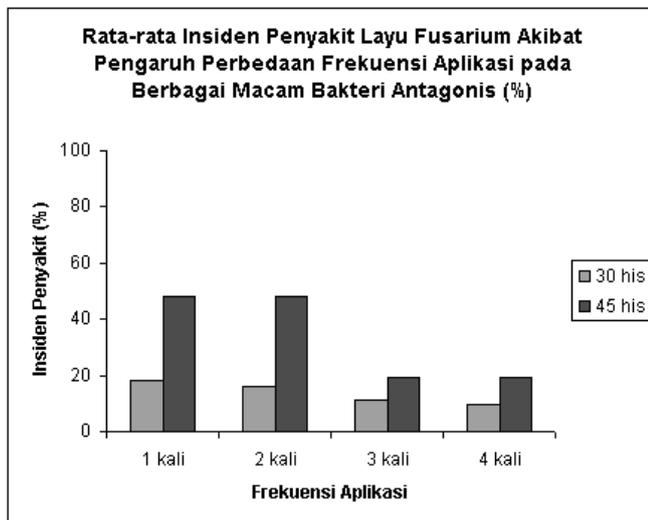
Gambar 2. Rata rata insiden penyakit layu fusarium pada pisang akibat pengaruh macam antagonis pada berbagai level frekwensi aplikasi

Data faktor tunggal pada gambar 2 menunjukkan bahwa macam antagonis berpengaruh sangat nyata dapat menurunkan insiden penyakit bila dibandingkan dengan kontrol yang mencapai 81,9 % pada pengamatan 45 hari setelah inokulasi. Sementara pada aplikasi secara kombinasi antara bakteri *P.fluorescens* dan *B. subtilis* ternyata memberikan hasil yang lebih efektif menekan penyakit layu fusarium pada pisang dan berbeda nyata bila dibandingkan dengan aplikasi secara tunggal. Pada Aplikasi kombinasi insiden penyakit rata rata hanya sebesar 26,3 %. Sedangkan bila diaplikasikan secara tunggal insiden penyakit dapat mencapai kisaran 36,5 %-38,1 % dan tidak memberikan pengaruh yang nyata antara aplikasi *P.fluorescens* dan *B. subtilis*. Ini berarti perlakuan dengan cara mengkombinasikan bakteri antagonis tersebut dapat menekan dan mengurangi penyakit layu fusarium hingga 50 % bila dibandingkan dengan kontrol.

Aplikasi dengan penggunaan fungisida Dithane M 45 untuk menekan penyakit memberikan hasil yang sangat berbeda nyata pada khususnya pada awal pengamatan 15 hari setelah inokulasi hingga 30 hari setelah inokulasi, dimana insiden penyakit jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan aplikasi kombinasi bakteri antagonis yaitu sebesar 1,4 %, sedangkan pada waktu yang sama perlakuan kombinasi bakteri insiden penyakit mencapai 10,3 %. Namun pada pengamatan pada 45 hari setelah inokulasi, insiden penyakit pada aplikasi fungisida ini ternyata meningkat tajam hingga mencapai 25,6 % dan tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan aplikasi kombinasi bakteri antagonis. Kenyataan ini di duga pada awalnya fungisida memang dapat bekerja secara efektif menekan patogen, namun setelah berjalan hingga 45 his, fungisida telah mengalami degradasi sehingga tidak lagi efektif menurunkan penyakit. Sementara pada agens hayati bakteri antagonis justru akan terus berkembang dan hidup sehingga lebih

dapat berperan dalam waktu yang lama bila dibandingkan dengan penggunaan fungisida.

Frekwensi aplikasi bakteri yang berbeda ternyata juga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap insiden penyakit layu fusarium pada tanaman pisang. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Rata rata insiden penyakit layu fusarium pada pisang akibat pengaruh perbedaan frekwensi aplikasi antagonis pada berbagai macam bakteri antagonis.

Data dari Gambar 3 menunjukkan bahwa frekwensi aplikasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Pada frekwensi aplikasi sebanyak 1 kali dan 2 kali tidak memberikan perbedaan yang nyata. Namun berbeda nyata bila dibandingkan dengan perlakuan aplikasi 3 dan 4 kali. Sedangkan pada aplikasi 3 dan 4 kali sendiri juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Namun yang jelas aplikasi sebanyak 1 kali dan 2 kali saja memang sudah dapat menurunkan penyakit, namun efektifitasnya dapat ditingkatkan apabila aplikasinya di ulang sebanyak 3 dan 4 kali. Peningkatan frekwensi aplikasi sendiri memang secara nyata dapat meningkatkan efektifitasnya untuk menurunkan penyakit, namun pada batas tertentu jumlah inokulum bakteri antagonis dalam tanah dirasa telah cukup mampu menekan penyakit sehingga penambahan antagonis dirasa sudah cukup dan tidak perlu ditambahkan kembali. Pada penelitian ini aplikasi sebanyak 4 kali ternyata hasilnya sama dengan aplikasi 3 kali, oleh karena itu penambahan frekwensi aplikasi hingga 4 kali tidak dapat meningkatkan efektifitasnya dalam menekan penyakit, sehingga aplikasi bakteri antagonis tersebut dirasa dapat menyebabkan in efisiensi dan tidak perlu dilakukan.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa kombinasi perlakuan macam antagonis dan frekwensi aplikasi berpengaruh dapat menurunkan insiden penyakit secara nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Hasil yang paling baik adalah terdapat pada perlakuan kombinasi bakteri *P.fluorescens* dan *B. subtilis* pada frekwensi aplikasi 3 sampai 4 kali. Hal ini berarti aplikasi kombinasi kedua bakteri tersebut dapat saling bekerja sama meningkatkan efektifitasnya dan bersifat sinergis

bila dibandingkan dengan aplikasi secara tunggal. Kenyataan ini juga dilaporkan oleh Kurniawan (1996) bahwa perlakuan kombinasi antagonis *Gliocladium*, *Trichoderma*, dan *Pseudomonas* menunjukkan persentase penghambatan serangan antraknose lebih besar dibandingkan dengan penggunaannya secara tunggal. Hal ini dimungkinkan oleh adanya efek sinergisme antara agens antagonis tersebut. Schidler et al., (1997) melaporkan adanya efek sinergisme antara *P. fluorescens* Y05 apabila dicampur dengan *Enterobacter* SP.T) dalam menekan perkembangan penyakit busuk kering pada kentang. Mulya dkk. (2000) juga menyatakan bahwa peningkatan efektifitas mikroorganisme antagonis dapat dilakukan dengan mengkombinasikan beberapa jenis antagonis yang kompatibel.

Mekanisme penghambatan perkembangan patogen oleh bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* diduga karena adanya antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Menurut Weller (1988) *P. fluorescens* dapat memproduksi sejenis antibiotik dan siderofor. Antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri tersebut adalah *Phenazine* yang dapat menghambat penyakit. Pada kondisi Fe rendah *P. fluorescens* dapat memproduksi *siderofor pyroverdine*. Oleh karena itu apabila kondisi Fe terbatas dalam rizosfer akan dapat menghambat patogen. Bakteri *B.subtilis* dapat memproduksi antibiotik *piturin* yang dapat memiliki kisaran yang luas dalam menghambat baik bakteri maupun jamur (Phae et al., 1992). Jenis antibiotik dari bakteri tersebut adalah *bacilysin* dan *fengymycin* yang bersifat antifungal (Loeffler et al., 1997)

Selain mekanisme antibiotik bakteri tersebut diduga memiliki beberapa sifat sebagai agens hayati yaitu cepat berkembang biak, kemampuan dominasi tinggi dalam pemanfaatan eksudat akar, dan kemampuan tinggi dalam mengkolonisasi akar (Schippers et al., 1987). Tjahyono (2000) mengemukakan bahwa *P. fluorescens* mempunyai kemampuan yang lebih baik sebagai pengkoloni akar dibandingkan dengan *B.subtilis* dan punya kemampuan tumbuh pada suhu tanah yang lebih rendah. Namun bakteri ini agak spesifik terhadap inang dan patogen sasaran. Keunggulan *B. subtilis* adalah kemampuannya menghasilkan endospora yang tahan terhadap panas dan dingin, juga terhadap pH yang ekstrim, pestisida, pupuk dan lama penyimpanan. Kombinasi ke dua bakteri *P.fluorescens* dan *B. subtilis* diharapkan dapat meningkatkan adaptabilitas terhadap patogen sasaran.

KESIMPULAN

Bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* serta kombinasi dari kedua bakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan koloni jamur patogen *F. oxysporum* penyebab penyakit layu fusarium pada pisang secara *in vitro* rata rata sebesar 70,2% - 88,1%

Pada pengujian secara *in vivo* di rumah kaca bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* serta kombinasi dari kedua bakteri tersebut secara nyata dapat menurunkan insiden penyakit. Namun hasil yang baik

adalah aplikasi dengan mengkombinasikan ke dua bakteri tersebut dengan frekwensi aplikasi 3- 4 kali. Pada kontrol insiden penyakit dapat mencapai 81.6 % sedangkan pada perlakuan kombinasi bakteri insiden penyakit turun hingga 12.4 %

Penggunaan Dithane M 45 pada mulanya dapat menekan penyakit secara nyata, namun Insiden penyakit meningkat setelah pengamatan 45 hari setelah inokulasi.

Di dibandingkan dengan Dithane 45, penggunaan Agens hayati jangka panjang masih lebih baik dan menguntungkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arshad, M dan W.T. Frankenberger Jr. 1993. Microbial Production of Plant Growth Regulation in soil. *Mikrobial Ecology*, Metting Jr. E. E. (ed). Marcel Dekker Inc. New York : 307-308.
- Broadbent, P.K., F. Baker, Y. Waterworth. 1971. Bacteria Actinomycetes Antagonist to Fungal Root Pathogen in Australia. *Soil Austral. Jour. Biol. Sci.* **82**:54
- Beattle, M.G. and S.E. Linddow. 1995. The secret life on foliar bacterial pathogens on leaves. *Ann. Review of Phytopathology* **33**: 147-219
- Elad, Y. Dan R. Baker. 1985. Influence of Trece Amaouts of Cations and Siderophore Producing Pseudomonads on Chlamyospore Germination of *Fusarium oxysporum*. *Phytopath.* **75**. No. 9 : 1047.
- Gupta, C.D., R.C. Dubey, S.C Kang and D.K. Maheshwari. 2001. Antibiotic mediated necrotrophic effect of *Pseudomonas* GRC2 against two fungal plant pathogens. *Current Sci.* 81:91-94.
- Haas, D. and C. Keel. 2003. Regulation of antibiotic production in rootcolonizing Pseudomonas spp. And relevance for biological control of plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol.* **41**: 117-153.
- Janisiewicz, W.J. and J. Roitman, 1988. Biological Control of Blue Mold and Gray Mold on Apple and Pear with *Pseudomonas capacia*. *Phytopathology* **78** : (12). 1697-1700pp
- Kazempour, M.N. 2004. Biological control of *R. solani*, the causal agent of rice Sheath blight by antagonistic bacteria in Greenhouse and field conditions. *Plant pathology Journal* **3** : 88-96
- Marois, J.J. 1993. Biological Control of Diseases Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubence* dalam Fusarium wilt Banana. APS Press St. Paul, Minnesota : 77-82
- Montealegre, J.R., R. Reyes, L.M. Peres, R. Herrera, P. Silva and X. Besoin. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electronic Journal of Biotechnology* **6**: 115-127
- Majid. 2001. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Fusarium Pada Pisang dengan Pseudomonas fluorescens *Agri Journal*, Vol. 8
- _____. 2002. Pemanfaatan Bakteri Pseudomonas Fluorescens dan Bacillus Subtilis Untuk Mengendalikan Penyakit Rizoctonia Pada Kedelai. *Sain dan Teknologi*, **2**: 7-11
- Palleroni, 1984, *Pseudomonad in Burgeys Manual of Systematik Bakteriologi*. NR.Krieg and J,G Holt (eds) Vol I.
- Raaljmakers, M., M. Leeman, Mark M.P. van Oorschot. I. Der Sluis, B. Schipper dan P.A.H.M. Backer. 1995. Dose-Relationship in Biological Control of Fusarium wilt of Radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopath.* Vol. **85**, 10 : 1075
- Semangun, H. 1991. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Schaad, N.W. 2001. Initial Identification of Common Genera. In: Schaad, N.W., J.B. Jones. And W. Chun (Eds). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd edition. APS Press. St. Paul. Minnesota.
- Schipper, B. 1987. Interaction of Receterious and Beneficial Rhizosphere Microba and The Effect at Cropping Practices. *Ann. Rev. Of Phytopath.* **25**:339-358.
- Sivamani, E. dan S.S. Gnanamanickam. 1997. Biological Control of *Fusarium oxysporum* f.sp *cubence* in Banana by Inoculation With *Pseudomonas fluorescens*. *Plant & Soil.* **107** : 3-9
- Tjahjono, B. 2000. Bakteri untuk pengendalian hayati penyakit tanaman. *Dalam Makalah Seminar Sehari Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Malang. 03p.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with *fluorescens pseudomonas*. *Phytopath.* 463-469.