



**ISOLASI DAN SKRINING RHIZOBAKTERI UNTUK PENGENDALIAN
PATOGEN *Fusarium oxysporum* PADA TANAMAN PANILI (*Vanilla planifolia*)**

Lita Nopiya Sari¹, Oetami Dwi Hajoeningtjas², Sukamto³

^{1,2} Prodi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto

³ Peneliti Balai Penelitian Rempah dan Obat (Balitro) Bogor
email: ¹litanopiya@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman *Vanilla planifolia* adalah tanaman yang menghasilkan bubuk vanili yang biasanya dijadikan pengharum makanan. Penyakit utama yang menjadi kendala dalam budidaya vanili adalah penyakit busuk batang, yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Salah satu teknik pengendalian hayati yang akhir-akhir ini berkembang pesat ialah penggunaan mikroorganisme yang berasosiasi secara alami dengan perakaran tanaman dan memiliki kemampuan untuk memperbaiki pertumbuhan dan mengendalikan penyakit tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakteristik cendawan untuk penekanan jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* melalui teknik isolasi dan skrining Rhizobakteri. Hasil yang diperoleh menunjukkan rata-rata jumlah koloni bakteri pada sampel vanili perlakuan V1 (218.5/pengenceran 10^{-4}) lebih kecil daripada perlakuan V2 (343.5/pengenceran 10^{-4}). Sedangkan hasil pengamatan uji antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri ke-1, untuk sampel vanili V1 rata-rata jarak 4 mm, lebih kecil dibandingkan V2 yaitu 7.2 mm. Pada uji antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri ke-2, kontrol menunjukkan rata-rata jarak 39.5 mm tanpa hambatan, dan hasil pada sampel vanili untuk perlakuan V1 rata-rata jarak 100 mm dengan hambatan 7.14 mm, sedangkan V2 menunjukkan hasil lebih tinggi dengan rata-rata jarak 177 mm dengan hambatan 11.06 mm.

Kata Kunci: *Vanilla planifolia*, isolasi, rhizobakteri, *Fusarium oxysporum*

1. PENDAHULUAN

Tanaman *Vanilla planifolia* adalah tanaman yang menghasilkan bubuk vanili yang biasanya dijadikan pengharum makanan. Vanili banyak digunakan pada industri makanan sebagai penyedap rasa. Harga komoditas pertanian ini cukup mahal, sehingga vanili disebut juga emas hijau. Dapat dimaklumi jika harganya mahal karena masih jarang yang membudidayakannya dan proses pascapanennya pun lebih rumit dibandingkan dengan komoditas yang lain. Vanili diperjualbelikan dalam bentuk bubuk vanili/vanila, yang dihasilkan dari buahnya yang berbentuk polong. Tanaman vanili ini merupakan tanaman tahunan yang tergolong dalam jenis suku Orchideaceae yang memiliki berbagai macam spesies (lebih dari 1500 spesies). Genus *Vanilla* memiliki penyebaran yang sangat luas, hampir terdapat di seluruh dunia, baik itu di wilayah tropis dan sub tropis, mulai dari wilayah tropis Amerika hingga tropis Asia, New Guinea dan Afrika Barat (Hadisutrisno, 2004).

Dalam sejarahnya, tanaman vanili pertama kali ditemukan bangsa Aztec, di hutan Mexico sekitar tahun 1530. Mereka menyebut tanaman ini dengan sebutan panili atau perneli. Penduduk asli Meksiko memang telah lama mengenal buah vanili kering untuk dijadikan penyegar minuman coklat. Tetapi vanili baru menjejak Eropa sekitar tahun 1721. Vanili akhirnya menyebar ke berbagai negara. Tanaman vanili masuk Indonesia dibawa bangsa Belanda sekitar tahun 1819. Tujuan awal tanaman vanili ditanam di Kebun Raya Bogor yaitu untuk memperkaya koleksi taman Botani yang digagas Prof.Dr. Reinwadt. Baru sekitar tahun 1864 vanili menyebrang ke Temanggung, Jawa Tengah. Selanjutnya tanaman tersebut menyebar ke beberapa wilayah seperti Bali, Jateng, Jatim, Sumut, Sumsel, Sulsel, Sulteng, NTB, NTT dan Papua. Sekitar tahun 1960 sampai 1970, pulau Jawa mejadi daerah terpesat dalam proses perkembangan tanaman vanili. Hal ini memunculkan banyak sentra budidaya tanaman vanili yang memungkinkan komoditi ini diekspor. Sehingga wajar jika vanili Indonesia lebih dikenal dengan nama "*Java Vanilla Beans*" (Hadisutrisno, 2004).

Salah satu penyakit utama yang menjadi kendala dalam budidaya vanili adalah penyakit busuk batang, yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Penyakit ini menyebabkan kerugian yang sangat besar akibat matinya tanaman (50% - 100%), memperpendek umur produksi dari 10 kali panen menjadi dua kali, bahkan tidak dapat berproduksi, serta mutu buah sangat rendah (Hadisutrisno, 2004).

Hingga saat ini pengendalian organisme pengganggu tumbuhan (OPT) dalam budidaya tanaman pangan dan hortikultura masih mengandalkan penggunaan pestisida sintetik (herbisida, fungisida, insektisida), tetapi pada beberapa dekade terakhir pengendalian OPT mulai beralih pada penggunaan teknik pengendalian hayati sebagai alternatif pengendalian secara kimiawi. Salah satu teknik pengendalian hayati yang akhir-akhir ini berkembang pesat ialah penggunaan mikroorganisme yang

berasosiasi secara alami dengan perakaran tanaman dan memiliki kemampuan untuk memperbaiki pertumbuhan dan mengendalikan penyakit tanaman. Penggunaan rhizobakteri sebagai agensia hayati yang memacu pertumbuhan tanaman, memperbaiki kesehatan tanaman, dan meningkatkan hasil tanaman, diprediksi akan menjadi kajian menarik yang terus berkembang di bidang pertanian pada masa mendatang (Sutarti dan Wahab, 2010).

Sejauh ini masalah penyakit busuk batang vanili belum bisa diatasi secara efektif dan belum ada kultivar unggul vanili yang tahan terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* penyebab penyakit busuk batang. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya penekanan jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* melalui teknik isolasi dan skrining Rhizobakteri. Evaluasi daya hambat rhizobakteri terhadap pertumbuhan koloni patogen secara *in vitro* merupakan langkah awal untuk mengetahui keefektifannya sebagai agensia hayati (Nureahyani *et al.*, 2012).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Lab Hama dan Penyakit Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor pada tanggal 02 Januari – 31 Januari 2018.

Alat yang digunakan adalah gelas ukur besar terbuat dari kaca, gelas ukur besar terbuat dari besi, botol media, timbangan analitik, sendok plastik, wadah plastik, gelas ukur, tabung reaksi dan rak, alumunium foil, spons penutup, karet pengikat, mikropipet, botol jam, keranjang, autoklaf, cutter, plastik bening, keranjang besi, gunting tanaman, kulkas, kompor, panci dan penutup, petridish, kertas koran, LAF, pemantik api, tisu, *glow*, shaker elektrik, *triangle glass*, pipet tip, botol UC1000, botol ukur, alat tulis, saringan kasa putih, pengaduk gelas, corong gelas, ose, tusuk gigi steril, besi berujung lubang bulat, karet, inkubator, spidol, penggaris dan kain pelapis. Bahan yang digunakan yaitu rizobakteri, sampel panili, jamur *Fusarium oxysporum*, PDA, king B, Alkohol 70%, dan aquades.

Cara kerja yang dilakukan ialah pembuatan media King B. Pengambilan sampel panili. Pengenceran dilakukan secara bertingkat. Membuat media PDA. Menghitung koloni bakteri. Menanam *Fusarium* dan bakteri. Menghitung jarak antagonis *Fusarium* dengan rhizobakteri. Menanam bakteri pada media. Mengadu *Fusarium* dengan rhizobakteri yaitu memindahkan bakteri yang telah ditanam sebelumnya ke media PDA tersebut dan diadu lagi dengan fusarium, panjang goresan bakteri 2 cm dan jarak antara fusarium dengan bakteri 3 cm. Pengamatan dilakukan dengan membuat tabel terdiri dari nama isolat, ulangan, jarak dan hambatan (pada pengamatan ke 2), mengukur jarak lebar fusarium dari titik tengah sampai ujung miselia, mengukur hambatan yaitu jarak antara miselia fusarium dengan bakteri (pada pengamatan ke dua), pengamatan dilakukan dua kali yaitu pada tanggal 26 januari dan 29 januari 2018.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Teknik isolasi dan skrining Rhizobakteri pada akar vanili diawali dengan cara pembuatan media, mencari sampel akar vanili di sekitar lokasi balai penelitian, melakukan pengenceran dan pengenceran bertingkat, membuat media PDA, menghitung koloni bakteri, menanam *Fusarium* dan bakteri, menghitung jarak antagonis *Fusarium* Dengan Rhizobakteri, menanam ulang bakteri, membuat lagi media PDA, mengadu *Fusarium* dengan Rhizobakteri, dan melakukan pengamatan.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri pada sampel vanili perlakuan V1 (218.5/pengenceran 10^{-4}) lebih kecil daripada perlakuan V2 (343.5/pengenceran 10^{-4}) (Tabel 1.). Sedangkan hasil pengamatan uji antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri ke-1, untuk sampel vanili V1 rata-rata jarak 4 mm, lebih kecil dibandingkan V2 yaitu 7.2 mm (Tabel 2.). Uji antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri ke-2, kontrol menunjukkan rata-rata jarak 39.5 mm tanpa hambatan, dan hasil pada sampel vanili untuk perlakuan V1 rata-rata jarak 100 mm dengan hambatan 7.14 mm, sedangkan V2 menunjukkan hasil lebih tinggi dengan rata-rata jarak 177 mm dengan hambatan 11.06 mm (Tabel 3 dan Tabel 4).

Tabel 1. Jumlah Koloni Bakteri Pada Sampel Vanili

| Sampel | Ulangan | Pengenceran | |
|------------------------------------|------------------|--------------|--------------|
| <i>Vanilla planifolia</i> (Vanili) | | 10^{-3} | 10^{-4} |
| V1 | 1 | 360 | 212 |
| | 2 | 335 | 225 |
| | Rata-rata | 347,5 | 218,5 |
| V2 | 1 | 352 | 375 |
| | 2 | 475 | 312 |
| | Rata-rata | 413,5 | 343,5 |

Tabel 2. Hasil Pengamatan Uji Antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri Ke 1 pada Sampel Vanili

| Sampel | Ulangan | Jarak (mm) | |
|------------------------------------|---------|------------|------|
| <i>Vanilla planifolia</i> (Vanili) | 1 | A | 7 mm |
| | | B | - |
| | | C | - |
| | 2 | D | - |
| | | A | - |
| | | B | - |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | - |
| | 3 | B | - |
| | | C | - |
| | | A | - |

| | | | |
|-----------------------------|---|---|----------------|
| | | D | - |
| | | A | 3 mm |
| 4 | | B | 3 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 1 mm |
| 5 | | B | 6 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 7 mm |
| 6 | | B | - |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 1 mm |
| 7 | | B | - |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 6 mm |
| V2 | 1 | B | 6 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 3 mm |
| Sampel Ulangan Jarak | | | |
| Vanilla planifolia (Vanili) | | | (mm) |
| | 2 | B | - |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 2 mm |
| | 3 | B | 8 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 10 mm |
| | 4 | B | 8 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | - |
| | 5 | B | - |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | - |
| | 6 | B | 3 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| | | A | 10 mm |
| | 7 | B | 8 mm |
| | | C | - |
| | | D | - |
| Rata-rata | | | 3,28 mm |

Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji Antagonis Fusarium dengan Rhizobakteri Ke 2 pada Kontrol

| Kontrol | Ulangan | Tgl/Bln/Thn | | |
|------------------|---------|--------------|----------------|---------------|
| | | 26/01/18 | 29/01/18 | |
| | | Jarak (mm) | Jarak (mm) | Hambatan (mm) |
| | 1 | 16 | 39 | - |
| | 2 | 16 | 40 | - |
| Rata-rata | | 16 mm | 39,5 mm | |

Tehrani dan Ramezani (2003) melaporkan bahwa rizobakteri yang merupakan mikroba antagonis adalah yang memiliki daya hambat di atas 51 % terhadap patogen tular tanah seperti *F. oxysporum* Schlecht. Hal ini seperti yang ditunjukkan pada hasil penelitian ini (Tabel 4), dengan rata-rata jarak 23,6 mm dengan hambatan 18,46 mm (> 51 %). Adanya rizobakteri tersebut mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur Fusarium secara *in vitro*.

Kemampuan suatu agen hayati khususnya rizobakteri dalam menekan patogen biasanya melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan. Mekanisme pengendalian agens hayati terhadap patogen dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Pengendalian secara langsung menurut Zhang (2004), dapat terjadi melalui mekanisme antibiosis, kompetisi, parasitisme dan lisis. Menurut Fernando *et al.* (2005), mekanisme penghambatan mikroba antagonis terhadap patogen adalah dengan menghasilkan antibiotik, toksin, kompetisi ruang dan nutrisi, menghasilkan siderofor, dan HCN. Kemampuan rizobakteri dalam menghasilkan senyawa antibiotik untuk menghambat pertumbuhan patogen juga telah dilaporkan beberapa peneliti, antara lain oleh Reddy (2014), yang menyatakan bahwa spesies bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. mampu menekan pertumbuhan patogen tanaman dengan memproduksi senyawa antibiotik yang bersifat antijamur. Menurut Kuswinanti *dkk.* (2014), hingga saat ini kelompok bakteri yang paling banyak dimanfaatkan sebagai agens pengendali hayati adalah *Pseudomonas berfluoresen* (Weller *et al.* 2002) dan beberapa strain dari *Bacillus* (Choudhary dan Johri, 2009).

Tabel 4. Hasil Pengamatan Uji Antagonis Fusarium dengan Rhizobakteri Ke 2 pada Sampel Vanili

| Isolat Vanili | Ulangan | Tgl/Bln/Thn | | |
|---------------|---------|-------------|------------|---------------|
| | | 26/01/18 | 29/01/18 | |
| | | Jarak (mm) | Jarak (mm) | Hambatan (mm) |
| V1.1 | 1 | 5 | 7 | 16 |
| | 2 | 7 | 7 | 16 |
| V1.4.A | 1 | 11 | 13 | 2 |
| | 2 | 15 | 17 | 3 |
| V1.4.B | 1 | 14 | 16 | 2 |
| | 2 | 14 | 10 | 3 |
| V1.5.A | 1 | 14 | 11 | 5 |

| | | | | |
|------------------|---------|--------------|----------------|-----------------|
| | 2 | 14 | 10 | 5 |
| V1.5.B | 1 | 12 | 14 | 9 |
| | 2 | 13 | 13 | 10 |
| V1.6 | 1 | 12 | 16 | 3 |
| | 2 | 12 | 18 | 2 |
| V1.7 | 1 | 10 | 10 | 13 |
| | 2 | 11 | 12 | 11 |
| V2.1.A | 1 | 11 | 9 | 10 |
| | 2 | 10 | 11 | 16 |
| V2.1.B | 1 | 14 | 24 | 3 |
| | | Tgl/Bln/Thn | | |
| Isolat Vanili | Ulangan | 26/01/18 | 29/01/18 | |
| | | Jarak (mm) | Jarak (mm) | Hambatan (mm) |
| | 2 | 15 | 22 | 2 |
| V2.2 | 1 | 7 | 9 | 15 |
| | 2 | 7 | 8 | 14 |
| V2.3.A | 1 | 11 | 12 | 10 |
| | 2 | 11 | 11 | 6 |
| V2.3.B | 1 | 13 | 10 | 8 |
| | 2 | 12 | 13 | 9 |
| V2.6 | 1 | 9 | 10 | 11 |
| | 2 | 7 | 9 | 16 |
| | | Tgl/Bln/Thn | | |
| Isolat Vanili | Ulangan | 26/01/18 | 29/01/18 | |
| | | Jarak (mm) | Jarak (mm) | Hambatan (mm) |
| V2.7.A | 1 | 9 | 9 | 9 |
| | 2 | 9 | 7 | 15 |
| V2.7.B | 1 | 8 | 7 | 17 |
| | 2 | 9 | 9 | 16 |
| Rata-rata | | 21 mm | 23,6 mm | 18,46 mm |

Metode uji daya hambat isolat rizobakteri terhadap patogen merupakan salah satu metode seleksi awal untuk menentukan isolat rizobakteri yang berfungsi sebagai agensia pengendali penyakit tanaman. Kegiatan uji lanjutan terhadap karakter fisiologis dan biokimiawi rizobakteri berhubungan dengan kemampuannya sebagai agensia antagonis patogen (biopestisida) dalam mensekresikan enzim ekstraseluler (seperti kitinase, protease dan selulase), memproduksi senyawa hidrogen sianida (HCN), karakter fisiologis, dan biokimiawi rizobakteri yang berhubungan dengan kemampuannya sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, yaitu dalam melarutkan fosfat dan memproduksi hormon tumbuh asam indol asetat (IAA) (Sutariati dan Wahab, 2010).

4. KESIMPULAN

Hasil yang diperoleh menunjukkan: Rata-rata jumlah koloni bakteri pada sampel vanili perlakuan V1 ($218.5/\text{pengenceran } 10^{-4}$) lebih kecil daripada perlakuan V2 ($343.5/\text{pengenceran } 10^{-4}$). Hasil pengamatan uji antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri ke-1, untuk sampel vanili V1 rata-rata jarak 4 mm, lebih kecil dibandingkan V2 yaitu 7.2 mm. Uji antagonis *Fusarium* dengan Rhizobakteri ke-2, kontrol menunjukkan rata-rata jarak 39.5 mm tanpa hambatan, dan hasil pada sampel vanili untuk perlakuan V1 rata-rata jarak 100 mm dengan hambatan 7.14 mm, sedangkan V2 menunjukkan hasil lebih tinggi dengan rata-rata jarak 177 mm dengan hambatan 11.06 mm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Fernando, W.G.D., Nakkeeran, S., Zhang, Y. 2005. *Biosynthesis of Antibiotics by PGPR and Its Relation in Biocontrol of Plant Diseases* in: Z.A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer. 67-109.
- Hadisutrisno B. 1995. Kajian pengendalian hayati penyakit busuk batang vanili dengan isolat lemah *Fusarium batatatis* Tucker. *Buletin Ilmiah Azolla* 21: 27-35.
- Hadisutrisno B. 2004. *Taktik dan strategi perlindungan tanaman menghadapi gangguan penyakit layu Fusarium*. *Simposium Nasional I. Purwokerto*, 2-3 Maret 2004.
- Sutariati, G.A.K., A. Wahab, 2010. Isolasi dan Uji Kemampuan Rizobakteri *Indigenous* sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit pada Tanaamn Cabai. *J. Hort.* Vol. 20 No. 1, 2010.
- Reddy, P.P. 2014. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection*. India: Springer
- Sutariati, G.A.K. dan A. Wahab. 2010. Isolasi dan Uji Kemampuan Rizobakteri *Indigenous* sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit pada Tanaman Cabai. *J. Hort.* 20(1):86-95
- Sutariati, GAK., Widodo, Sudarsono dan S. Ilyas. 2006. Pengaruh perlakuan rizobakteripemacu pertumbuhan tanaman terhadap viabilitas benih serta pertumbuhan bibit tanaman cabai. *Bul. Agron*, 34(1): 46-54.
- Sutariati, GAK., A. Khaeruni dan A. Madiki. 2011. Bio-Matriconditioning benih dengan rizobakteri untuk meningkatkan mutu fisiologis benih sorgum (*Sorghum bicolor* L.). *Jurnal Agroteknos*, 1(1): 21-26.
- Sutariati, GAK dan L. Safuan., 2012. Perlakuan benih dengan rizobakteri meningkatkan mutu benih dan hasil cabai (*Capsicum annum* L.). *J. Agron. Indonesia*, 40 (2) : 125-131.
- Sutariati, GAK and A. Khaeruni. 2013. Seed biomatriconditioning using rhizobacteria for growth promotion and increase the yield of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) on marginal soil. *Agricultural Science Research Journals*, 3(3): 85-92.
- Tehrani AS. and Ramazani M. 2003. Biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of onion wilt by antagonistic bacteria. *Comm Agr Appl Biol Sci.* 68(4):543–547.
- Zhang, Y. 2004. *Biocontrol of Sclerotia Stem Rot of Canola by Bacterial Antagonists and Study of Biocontrol Mechanisms Involved (Thesis)*. Winnipeg. Canada: Departemen of Plant Science. Universitas of Manitoba. <http://mspace.lib.umanitoba.ca/bitstream/1993/121/1/Yilan's+thesis-MSpace.pdf>.