

## MEKANISME ANTIBIOSIS *BACILLUS SUBTILIS* B315 UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT LAYU BAKTERI KENTANG

Nur Prihatiningsih<sup>1</sup>, Triwidodo Arwiyanto<sup>2</sup>, Bambang Hadisutrisno<sup>2</sup> & Jaka Widada<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian Unsoed Purwokerto Kampus Karangwangkal

Jl dr. Suparno Purwokerto 53123

<sup>2</sup>Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta

E-mail: prihatiningsihnur@gmail.com

### ABSTRACT

**Antibiosis mechanism of *Bacillus subtilis* B315 for controlling potato bacterial wilt disease.** *Bacillus subtilis* B315 isolated from rhizospheric potato has antibiosis mechanism against *Ralstonia solanacearum* in vitro and become potentially used as controlling method of bacterial wilt in the field. The objectives of this research were to study the mechanism of *B. subtilis* B315 in controlling bacterial wilt disease, to study of *B. subtilis* B315 potency as both biocontrol and plant growth promoter, and to evaluate the mechanism as biocontrol agent. This green house experiment used CRD (*Completely Randomized Design*) with 5 treatments and 6 replicates. The treatments were control (without *B. subtilis* B315), *B. subtilis* B315 wild type, antibiosis mutant M16, antibiosis mutant M4, and antibiosis mutant M14. Variables observed were incubation period, disease index, infection rate, effectiveness of control, and growth components (i.e number of bud, plant height, leaf area, plant fresh and dry weight). The result of this research showed that *B. subtilis* B315 could delay incubation period, suppressed the disease index up to 64,9% and could promote the plant growth (leaf area). *B. subtilis* B315 had the antibiosis and other mechanisms that induced systemic resistance. The implication of this research was that *B. subtilis* B315 could be used for biocontrol the bacterial wilt and promoted the potato growth.

**Key words:** antibiosis, *Bacillus subtilis* B315, bacterial wilt disease control, potato plant growth promote

### ABSTRAK

**Mekanisme antibiosis *Bacillus subtilis* b315 untuk pengendalian penyakit layu bakteri kentang.** *Bacillus subtilis* B315 yang diisolasi dari rizosfer kentang mempunyai mekanisme antibiosis terhadap *Ralstonia solanacearum* secara in vitro. Mekanisme antibiosis secara in vitro ini sebagai potensi *B. subtilis* B315 untuk mengendalikan penyakit layu bakteri di lahan kentang. Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari mekanisme antibiosis *B. subtilis* B315 untuk pengendalian penyakit layu bakteri kentang, dan mempelajari potensi *B. subtilis* B315 sebagai pemicu pertumbuhan tanaman kentang, serta mengevaluasi mekanisme *B. subtilis* B315 sebagai agensia pengendali hayati. Metode yang digunakan adalah percobaan di rumah kaca dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuannya adalah kontrol (tanpa *B. subtilis* B315), *B. subtilis* B315 tipe alami, mutan antibiosis M16, mutan antibiosis M4, mutan antibiosis M14. Variabel yang diamati adalah masa inkubasi, indeks penyakit, laju infeksi, efektivitas pengendalian, komponen pertumbuhan tanaman (jumlah tunas, tinggi tanaman, luas daun, bobot brangkas segar dan kering). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* B315 sebagai agensia pengendali hayati penyakit layu bakteri kentang dapat menunda masa inkubasi, menekan indeks penyakit layu bakteri dengan efektivitas 64,9%, menekan laju infeksi dan mampu memicu peningkatan pertumbuhan tanaman yang dilihat dari luas daun. *B. subtilis* B315 sebagai agensia pengendali hayati mempunyai mekanisme antibiosis dan mekanisme lain yaitu penginduksi ketahanan sistemik. Implikasi hasil penelitian ini adalah *B. subtilis* B315 dapat digunakan sebagai agensia pengendali hayati dan pemicu peningkatan pertumbuhan tanaman kentang.

**Kata kunci:** antibiosis, *Bacillus subtilis* B315, pengendalian penyakit layu bakteri, pemicu pertumbuhan tanaman kentang

### PENDAHULUAN

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) di Indonesia merupakan komoditas hortikultura yang mendapat prioritas untuk dikembangkan, dan berpotensi untuk dipasarkan di dalam negeri maupun ekspor. Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia*

*solanacearum* ini merupakan kendala dalam budidaya kentang karena dapat menyebabkan kematian tanaman dan merugikan hasil 75% (Semangun, 1989) dan lebih dari 75% di Karnataka (Gadewar *et al.*, 1991). Lebih lanjut dijelaskan oleh Ghosh *et al.* (2009) bahwa hubungan antara kehilangan hasil dan intensitas penyakit adalah linier. Pengendalian penyakit layu bakteri yang

telah dilakukan adalah dengan cara fitosanitari dan kultur teknis seperti penggunaan umbi bebas penyakit, rotasi tanaman, dan *intercropping* serta bahan kimia seperti fumigasi dengan *methyl bromide*, *sodium hypochlorite* dan bakterisida (Champoiseau *et al.*, 2010; Muthoni *et al.*, 2012).

Penggunaan varietas kentang yang tahan terhadap penyakit layu bakteri dianggap lebih murah dan praktis, karena dengan pestisida kimia sintetik tidak efektif, fitosanitari dan kultur teknis sulit diaplikasikan di lapangan dan agensia pengendali hayati belum tersedia secara komersial (Muthoni *et al.*, 2012). Sebagai alternatif pengendalian yang berwawasan lingkungan adalah dengan menggunakan agensia hayati sebagai biopestisida. Bakteri yang berpotensi sebagai biopestisida dan aman dalam pengelolaan tanaman adalah genus *Agrobacterium*, *Pseudomonas* dan *Bacillus* (Beric *et al.*, 2012). Genus *Bacillus* mempunyai kemampuan mensintesis beberapa senyawa yang berguna dalam bidang pertanian dan industri. Beberapa metabolit sekunder dihasilkan oleh beberapa spesies dan strain *Bacillus* yang menunjukkan aktivitas antibakteri dan antijamur terhadap patogen tanaman (Yu *et al.*, 2002; Ongena & Jacques, 2008).

*Bacillus subtilis* B315 diperoleh dari rizosfer kentang sehat di antara kentang yang layu di daerah endemik, di Desa Serang Kecamatan Karangreja Kabupaten Purbalingga dengan ketinggian tempat 1200 m dpl. Pada pengujian sebelumnya secara *in vitro*, *B. subtilis* B315 mampu menekan pertumbuhan *R. solanacearum* dengan mekanisme antibiosis, menunjukkan zona hambatan sebesar 18 mm dan dengan mekanisme penghambatan bersifat bakteriostatik. Menurut Junaid *et al.* (2013), *B. subtilis* dapat menghasilkan antibiotik sebagai mekanisme antibiosis seperti Bacillomycin D dan iturin yang dihasilkan oleh *B. subtilis* AU195 dan QST713.

Mekanisme pengendalian hayati menurut Lo (1998) dan Junaid *et al.* (2013) dapat berupa (1) antibiosis, (2) kompetisi, (3) mikoparasitisme, (4) enzim pendegradasi dinding sel, dan (5) penginduksi ketahanan, (6) pemacu pertumbuhan dan (7) pengkoloni rizosfer. Pengendalian secara hayati terhadap patogen tanaman menjadi lebih penting karena tidak menimbulkan residu, aman bagi lingkungan, dan berpengaruh positif pada tanaman. Selain itu, menurut Choudhary & Johri (2008) agensia hayati seperti *Bacillus* spp. dapat berperan sebagai pupuk hayati dan agensia pengendali hayati melalui mekanisme antibiosis, sekresi enzim pelisis, dan penginduksi ketahanan sistemik (*Induced Systemic Resistance* = ISR).

Salah satu mekanisme penekanan oleh strain anggota genus *Bacillus* adalah antibiosis yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan pada kultur *Bacillus* spp. yang ditumbuhkan pada medium secara berlapis dengan bakteri patogen. Antibiosis merupakan mekanisme antagonis dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik atau senyawa mirip antibiotik seperti enzim pelisis, senyawa yang mudah menguap, siderofor, dan substansi toksik lainnya (Haggag & Mohamed, 2007). Antibiotik secara umum didefinisikan sebagai senyawa organik dengan berat molekul rendah, yang dihasilkan sebagai metabolit sekunder dan menghambat pertumbuhan atau aktivitas metabolisme mikroba lain pada konsentrasi rendah. Krebs *et al.* (1998) menyatakan bahwa strain *Bacillus* yang diisolasi dari tanah teridentifikasi sebagai *B. subtilis* mempunyai kemampuan sebagai antibakteri, antijamur, pemacu pertumbuhan tanaman dan penginduksi ketahanan sistemik (Prihatiningsih, 2013). Formulasi *B. subtilis* sebagai pengendali hayati dengan produk "FZB24" telah didaftarkan di Jerman sebagai agensia penguat tanaman.

Mekanisme antibiosis dari suatu agensia hayati dapat dibuktikan dengan cara membuat mutan antibiosis, yaitu mutan yang kehilangan sifat antibiosis namun sifat yang lain masih sama dengan tipe alaminya. Mutasi merupakan perubahan materi genetik yang dapat terjadi karena beberapa faktor seperti mutasi spontan dan mutasi induksi karena mutagen. Mutasi dapat pula diartikan sebagai perubahan sekuens nukleotida dari molekul DNA, biasanya digunakan untuk perubahan pada skala relatif kecil, sedangkan rekombinasi melibatkan perubahan segmen polinukleotida di antara molekul DNA yang berbeda dan dapat menyebabkan penyusunan ulang (Brown, 1989).

Mutan bakteri adalah turunan bakteri tipe alami (tipe liar = *wild type*), yaitu terjadinya perubahan gen pada bakteri tersebut akibat terjadi mutasi, yang dapat dilihat dari fenotipiknya (Sreeju *et al.*, 2011). Mutan antibiosis *B. subtilis* RP24 menurut Grover *et al.* (2009) dikelompokkan menjadi mutan yang tidak menghambat (*no antagonism*) dan mutan yang menghambat sebagian (*partial antagonism*). Mikroba dapat mengalami mutasi dengan mutasi spontan atau terinduksi dengan mutagen yang dapat berupa mutagen kimia, fisik seperti sinar UV. Pelczar *et al.* (2006) menyebutkan bahwa salah satu tipe mutasi adalah terbentuknya mutan yang menunjukkan kemampuan fermentasi yang berubah, meningkat atau menurunnya kemampuan menghasilkan metabolit.

Permasalahan yang dihadapi adalah apakah pengendalian penyakit layu bakteri dengan *B. subtilis* B315 mengikuti mekanisme antibiosis seperti halnya pengujian antagonisme *B. subtilis* B315 terhadap *R. solanacearum in vitro* atau mempunyai mekanisme lainnya. Tujuan penelitian ini adalah: (1) mempelajari mekanisme antibiosis *B. subtilis* B315 untuk pengendalian penyakit layu bakteri kentang, (2) mempelajari potensi *B. subtilis* B315 sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, dan (3) mengevaluasi mekanisme *B. subtilis* B315 sebagai agensia pengendali hayati. Hipotesis yang diajukan adalah *B. subtilis* B315 efektif untuk mengendalikan penyakit layu bakteri kentang dengan mekanisme antibiosis, dan mampu memacu pertumbuhan tanaman melalui mekanisme lain yang dimiliki yaitu sebagai penginduksi ketahanan sistemik.

## METODE PENELITIAN

**Tempat dan Waktu.** Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Fakultas Pertanian UGM dan di kebun percobaan Fakultas Pertanian Unsoed Purwokerto yang terletak di Desa Serang Kecamatan Karangreja Kabupaten Purbalingga pada ketinggian tempat 1200 m dpl. Penelitian dimulai bulan Februari sampai dengan Juli 2012.

**Penyiapan Bahan.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bakteri antagonis *B. subtilis* B315, mutan antibiosis *B. subtilis* B315M16, *B. subtilis* B315M4 dan *B. subtilis* B315M14 yang telah dimutasi dengan EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) pada penelitian sebelumnya. Bakteri patogen *R. solanacearum* Pr7 yang diisolasi dari tanaman kentang layu di Desa Serang Kecamatan Karangreja Kabupaten Purbalingga. Tanaman kentang yang digunakan dalam penelitian adalah varietas Atlantik, bibit diperoleh dari penangkar benih di Desa Grogol Kecamatan Batur Kabupaten Banjarnegara. Bahan kimia yang digunakan adalah medium biakan YPGA (*yeast extract peptone glucose agar*) dan YPG cair.

**Infestasi *R. solanacearum* dan *B. subtilis* B315.** *R. solanacearum* diinfestasikan ke dalam tanah dengan cara disemprotkan dalam tanah sambil diaduk agar *R. solanacearum* merata dilakukan 2 hari sebelum tanam. Kepadatan populasi *R. solanacearum* yang diaplikasikan adalah  $10^8$  cfu/ml. Aplikasi *B. subtilis* B315 dan mutan antibiosis dilakukan dengan cara perendaman umbi bibit kentang 30 menit sebelum tanam dengan kerapatan populasi  $10^8$  cfu/ml pada masing-masing perlakuan. Perlakuan yang diujikan pada tanaman kentang di rumah kaca dapat dilihat pada Tabel 1.

Perlakuan *B. subtilis* B315 adalah dengan cara perendaman benih (umbi bibit) ke dalam suspensi *B. subtilis* B315 dengan kerapatan  $10^8$  cfu/ml dan dosis 1000 ml suspensi untuk 8 umbi. Setiap perlakuan terdiri atas empat tanaman dan diulang enam kali, dirancang secara Acak Kelompok Lengkap. Variabel yang diamati: masa inkubasi, indeks penyakit, laju perkembangan penyakit (*infection rate* = r), populasi jamur total, dan *R. solanacearum*.

Komponen pertumbuhan tanaman antara lain jumlah daun, luas daun, tinggi tanaman, bobot segar dan kering brangkas, dan komponen hasil tanaman meliputi, jumlah umbi, bobot per umbi, dan bobot umbi per tanaman. Data pendukung adalah suhu dan kelembaban udara, serta suhu dan kelembaban tanah, pH tanah, DHL (daya hantar listrik), kandungan C organik, N total, dan P tersedia, K tersedia serta ketahanan agregat.

Perhitungan Indeks Penyakit layu bakteri berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$IP = \frac{\sum_{i=1}^k (k \times nk)}{Z \times N} \times 100\%$$

dengan:

IP = indeks penyakit

n = jumlah tanaman pada kategori k

k = kategori penyakit

N = jumlah tanaman yang diamati

Z = nilai kategori penyakit tertinggi

Tabel 1. Susunan perlakuan

No	Simbol	Perlakuan
1	K	tanpa <i>B. subtilis</i> B315
2	B1	<i>B. subtilis</i> B315 tipe alami
3	B2	mutan antibiosis M16
4	B3	mutan antibiosis M4
5	B4	mutan antibiosis M14

Skala penilaian kerusakan (kategori) menurut Arwiyanto & Hartana (2001):

- 0 = tidak ada gejala
- 1 = 1–10% daun layu
- 2 = 11–30% daun layu
- 3 = lebih dari 30% daun layu

Perhitungan laju infeksi berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh van der Plank (1963) sebagai berikut:

$$X_t = X_0 \cdot e^{rt}$$

dengan:

$X_t$  = proporsi penyakit pada waktu  $t$

$X_0$  = proporsi penyakit pada awal pengamatan

$e$  = konstanta logaritma (2,718)

$r$  = laju infeksi/laju perkembangan penyakit (unit/hari)

$t$  = waktu

Nilai  $r$  dihitung berdasarkan kriteria penyakit layu bakteri termasuk *simple interest disease* (SID), maka:

$$r = \frac{2,3}{t} \left( \log \frac{1}{1 - X_t} - \log \frac{1}{X_0} \right)$$

Data karakterisasi *Bacillus* spp. dan uji antagonistik dianalisis secara deskriptif, sedangkan data penelitian di rumah kaca dianalisis dengan sidik ragam dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf kesalahan 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami dan mutan antibiosisnya mempengaruhi masa inkubasi, indeks penyakit dan laju infeksi (Tabel 2). Perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami mampu menunda masa inkubasi sampai dengan 7 hari. Perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami menunjukkan masa inkubasi 36 hst, sedangkan rata-rata pada kontrol menunjukkan masa inkubasi selama 29,2 hari (Tabel 2), meskipun pada umur 26 hst tanaman yang diberi perlakuan kontrol dan mutan antibiosis M16 sudah menunjukkan gejala layu.

Berdasarkan hasil analisis statistik indeks penyakit layu bakteri, pengaruh pada perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami dan mutan antibiosis M16 berbeda nyata. Namun demikian dibandingkan dengan 2 mutan antibiosis yang lain (M4 dan M14) perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami tidak berbeda nyata. *B. subtilis* B315 tipe alami mampu menekan penyakit layu bakteri dengan efektivitas penekanan 64,9%, sedangkan mutan M16 hanya mampu menekan 49,9%. Efektivitas penekanan

terhadap penyakit layu bakteri pada mutan antibiosis M14 sama dengan *B. subtilis* B315 tipe alami.

Kemampuan mutan antibiosis dalam penekanan penyakit layu bakteri menunjukkan bahwa *B. subtilis* B315 mempunyai mekanisme lain dalam pengendalian hayati terhadap penyakit layu bakteri. Mekanisme lain dari agensia pengendali hayati adalah secara tidak langsung sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan menginduksi ketahanan sistemik. Lo (1998) menyatakan bahwa mekanisme pengendalian hayati meliputi 1) antibiosis, 2) kompetisi, 3) mikoparasitisme, 4) enzim pendegradasi dinding sel, dan 5) ketahanan terimbas atau terinduksi.

Peran *B. subtilis* B315 sebagai penginduksi ketahanan sistemik dapat dilihat dari berkurangnya penyakit lain pada tanaman kentang seperti hawar daun oleh *Phytophthora infestans* dengan intensitas penyakit kurang dari 10%. Hasil penelitian di rumah kaca ini konsisten dengan hasil penelitian secara *in vitro* pada penelitian sebelumnya bahwa mutan antibiosis M14 mampu menghambat *R. solanacearum* dan di rumah kaca mampu menekan indeks penyakit dengan efektivitas 64,9%. Mutan antibiosis M16 kehilangan kemampuan menghambat *R. solanacearum in vitro*, dan di rumah kaca mampu menghambat indeks penyakit layu bakteri sebesar 49,9%. Hal inilah yang menunjukkan bahwa *B. subtilis* B315 mempunyai mekanisme lain dalam menekan penyakit layu bakteri.

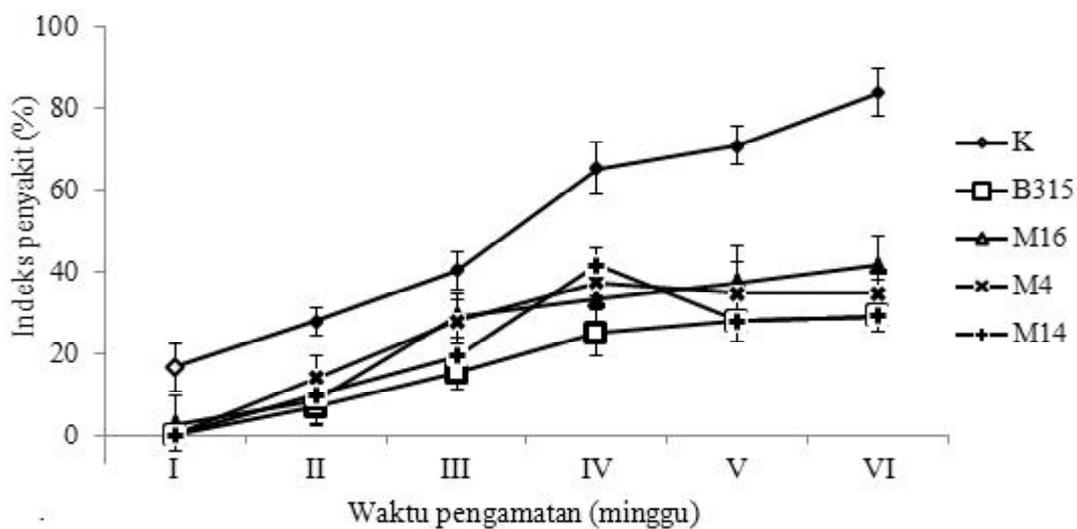
Perkembangan penyakit layu bakteri pada kentang dengan perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami dan mutan antibiosis menunjukkan kurva monomolekular (Gambar 1), yaitu perkembangan penyakit tipe bunga sederhana (*simple interest disease* = SID), karena *R. solanacearum* adalah patogen tular tanah. Contreras-Medina *et al.* (2009) mengemukakan bahwa perkembangan penyakit dengan model monomolekular terjadi pada penyakit dengan patogen berdaur tunggal selama musim tanam (SID). Patogen yang mengikuti daur tunggal selama musim tanam adalah patogen tular tanah termasuk bakteri *R. solanacearum*. Penekanan indeks penyakit layu bakteri pada kentang dengan perlakuan *B. subtilis* B315 dengan cara perendaman benih, menunjukkan efektivitas penekanan sebesar 64,9%. Gejala penyakit layu bakteri di rumah kaca dengan aplikasi *B. subtilis* B315 ditunjukkan dalam Gambar 2.

Bakterisasi biji diikuti dengan perendaman akar dengan bakteri antagonis di rumah kaca sangat efektif mengendalikan penyakit layu bakteri. Hasil penelitian di lapangan pada tanah yang terinfestasi *R. solanacearum* secara alami, dengan perlakuan bakteri antagonis mampu

Tabel 2. Masa inkubasi, indeks penyakit dan laju infeksi penyakit layu bakteri kentang setelah aplikasi *B. subtilis* B315

Perlakuan	Masa inkubasi (hst)	Indeks penyakit (%)	Laju infeksi (r) (unit/hari)	Efektivitas penekanan (%)
K	29,2 b	83,3 a	0,0459	-
B1	36,0 a	29,2 c	0,0098	64,9
B2	35,7 a	41,7 b	0,0146	49,9
B3	35,4 a	34,7 bc	0,0180	58,3
B4	36,3 a	29,2 c	0,0098	64,9

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf kesalahan 5%. hst: hari setelah tanam, K: tanpa *B. subtilis* B315; B1: *B. subtilis* B315 tipe alami; B2: mutan antibiosis M16; B3: mutan antibiosis M4; B4: mutan antibiosis M14.

Gambar 1. Perkembangan penyakit layu bakteri setelah perlakuan *Bacillus* sp. B315 tipe alami dan mutan antibiosisGambar 2. Gejala layu bakteri pada kontrol (A), perlakuan mutan *Bacillus* sp. B315M16 (B) dan tanaman sehat pada perlakuan *Bacillus* sp. B315 tipe alami

menekan intensitas layu bakteri sampai 40% (Yulianti *et al.*, 1999). Karuna *et al.* (2003) menyatakan bahwa bakterisasi antagonis dengan *B. subtilis* pada biji tomat sangat efektif untuk mengendalikan penyakit layu bakteri oleh *R. solanacearum*.

Berdasarkan hasil pengamatan komponen pertumbuhan dan hasil kentang setelah perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami dan mutan antibiosis menunjukkan bahwa pada komponen pertumbuhan, hanya jumlah tunas dan luas daun yang berbeda nyata (Tabel 3). Perlakuan mutan M16 tidak berbeda nyata dengan perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami dan kontrol pada jumlah tunas, dan juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan mutan M4 dan M14, namun *B. subtilis* B315 tipe alami dan kontrol berbeda nyata dengan mutan M4 dan M14.

Perlakuan mutan M14 menunjukkan hasil terbaik dalam meningkatkan luas daun yaitu 287,56 cm<sup>2</sup>, sedangkan pada kontrol (tanpa *Bacillus*) luas daun hanya 182,25 cm<sup>2</sup>. Luas daun pada perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami sebesar 205,11 cm<sup>2</sup> yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, yaitu M16 sebesar 232,58 cm<sup>2</sup>. Padahal mutan M14 adalah kelompok mutan III yang masih mampu menghambat *R. solanacearum in vitro* meskipun zona hambatannya kecil (3,3 mm) atau penghambatannya hanya mencapai 36,26% (Prihatiningsih, 2013). Dengan kata lain mutan ini kehilangan sedikit sifat antibiosisnya, namun sifat yang lain misalnya dalam meningkatkan komponen pertumbuhan seperti luas daun tidak hilang atau masih sama dengan tipe alaminya. Hal ini dapat dikatakan bahwa *B. subtilis* B315 mempunyai mekanisme lain dalam mengendalikan penyakit layu bakteri kentang, yaitu dengan memacu pertumbuhan tanaman.

Meskipun efektivitas pengendalian penyakit layu bakteri pada perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami sebesar 64,9%, dan mutan M16 efektif sebesar 49,9%, namun pengaruhnya terhadap komponen pertumbuhan tanaman adalah positif dapat meningkatkan luas daun. Sitompul & Guritno (1995) berpendapat bahwa luas daun merupakan parameter utama dalam pertumbuhan tanaman karena daun secara umum dipandang sebagai organ produsen fotosintat utama. Oleh karena itu pengamatan luas daun sebagai indikator pertumbuhan dan sebagai penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan tanaman yang terjadi seperti pada pembentukan biomassa tanaman. Peningkatan pertumbuhan tanaman ditunjukkan oleh peningkatan luas daun setelah aplikasi *B. subtilis* B315, sehingga dapat menyekap cahaya matahari yang lebih banyak, namun juga disertai peningkatan kemampuan fotosintesis per luas daun yang ditunjukkan oleh nisbah bobot kering brangkas/luas daun yang lebih tinggi yaitu 0,1828 (Tabel 3). Komponen pertumbuhan yang lain yaitu tinggi tanaman, bobot segar dan bobot kering brangkas tidak berbeda nyata pada semua perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan perlakuan *B. subtilis* B315 baik tipe alami maupun mutan antibiosisnya tidak memengaruhi tinggi tanaman, bobot segar dan bobot kering brangkas.

Berdasarkan hasil pengamatan populasi jamur total dan populasi *R. solanacearum* setelah perlakuan *B. subtilis* B315 tipe alami dan mutan antibiosis, menunjukkan bahwa populasi jamur total pada kerapatan 10<sup>3</sup> cfu/g tanah, dan populasi *R. solanacearum* dengan kerapatan 10<sup>4</sup> cfu/g tanah (Tabel 4). Jamur yang tumbuh dari hasil isolasi rizosfer dengan perlakuan *B. subtilis* B315, berupa koloni yang berwarna putih, putih dengan

Tabel 3. Komponen pertumbuhan kentang setelah aplikasi *B. subtilis* B315

Perlakuan	Jumlah tunas	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun	Luas daun (cm <sup>2</sup> )	Bobot segar brangkas (g)	Bobot kering brangkas (g)	Nisbah BKB/LD
K	5,06 a	42,63 a	26,05 a	182,25 d	104,17 a	24,58 a	0,1349
B315	5,09 a	47,92 a	30,17 a	205,11 c	135,00 a	37,50 a	0,1828
B315M16	4,85 ab	47,65 a	26,12 a	232,58 b	132,92 a	35,42 a	0,1523
B315M4	3,71 b	51,17 a	26,50 a	225,60 b	135,83 a	32,92 a	0,1459
B315M14	3,71 b	42,52 a	24,84 a	287,56 a	120,83 a	27,92 a	0,0970

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf kesalahan 5%. K: tanpa *B. subtilis* B315; B: *B. subtilis* B315 tipe alami; B315M16: mutan antibiosis *B. subtilis* B315 (M16); B315M4: mutan antibiosis *B. subtilis* B315 (M4); B315M14: mutan antibiosis *B. subtilis* B315 (M14). BKB: Bobot kering brangkas, LD: luas daun.

Tabel 4. Populasi jamur total dan *R. solanacearum* setelah perlakuan *B. subtilis* B315

Perlakuan	Populasi jamur total ( $10^3$ cfu/g tanah dalam PDA+strep)	Populasi <i>R. solanacearum</i> ( $10^4$ cfu/g tanah dalam (CPG-TTC)
K	10,10	90,90
B1	4,00	15,00
B2	15,50	17,00
B3	4,20	50,00
B4	10,05	30,20

tengah abu-abu dan putih kekuningan. Berdasarkan pada warna koloni jamur yang tumbuh teridentifikasi sebagai jamur yang termasuk kelompok *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., dan *Penicillium* sp. Jamur-jamur tersebut dapat berupa patogen tanaman kentang yang pada daur hidupnya bertahan di dalam tanah, dan juga dapat merupakan jamur kelompok saprofit maupun antagonis. Barea *et al.* (2005) mengemukakan bahwa jamur yang terdapat di rizosfer yaitu *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Trichoderma* sp., yang berasosiasi dengan mikroba lain baik sebagai patogen, saprofit maupun antagonis. Jamur-jamur tersebut berkompetisi dalam kolonisasi, situs infeksi, dan kompetisi dalam memperoleh sumber karbon sebagai nutrisi dan kompetisi dalam sinyal untuk mengkhelat besi.

Populasi *R. solanacearum* setelah akhir penelitian menunjukkan terjadi penurunan dibandingkan dengan populasi pada waktu infestasi ke dalam tanah, yaitu  $23,3 \times 10^8$  cfu/ml menjadi kerapatan  $10^4$  cfu/g tanah. Kerapatan populasi *B. subtilis* B315 lebih tinggi dibandingkan dengan kerapatan populasi *R. solanacearum* yaitu  $10^6$  cfu/g tanah kering oven, meskipun mengalami penurunan dibandingkan dengan pada saat perlakuan untuk perendaman benih yaitu  $4,1 \times 10^8$  cfu/ml.

Hal ini menunjukkan bahwa perkembangan *B. subtilis* B315 di dalam tanah lebih banyak dan mampu bertahan sampai dengan akhir penelitian dibandingkan dengan patogen *R. solanacearum*. *B. subtilis* B315 juga mampu mengendalikan penyakit hawar daun oleh jamur *Phytophthora infestans* dengan intensitas penyakit hawar daun kurang dari 10%.

## SIMPULAN

*B. subtilis* B315 mampu menunda masa inkubasi 7 hari dan mengendalikan penyakit layu bakteri dengan efektivitas sebesar 64,9%. *B. subtilis* B315 juga mampu

meningkatkan pertumbuhan tanaman pada luas daun. Mekanisme pengendalian penyakit layu bakteri kentang oleh *B. subtilis* B315 adalah antibiosis dan penginduksi ketahanan sistemik, yang ditunjukkan dengan peningkatan pertumbuhan tanaman dan penekanan penyakit hawar daun oleh jamur *P. infestans* serta penekanan populasi jamur total.

## SANWACANA

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana yang diberikan melalui Beasiswa Program Pasca Sarjana (BPPS) selama mengikuti tugas belajar S3 di Fakultas Pertanian UGM, dari tahun 2009 s/d 2013.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto T & Hartana I. 2001. Percobaan lapangan pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau (*Ralstonia solanacearum*). *Mediagama* 3: 7–14.
- Barea JM, Pozo MJ, Azcon R, & Azcon-Agullar C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56(417): 1761–1778.
- Beric T, Kojic M, Stankovic S, Topisirovic L, Degrassi G, Myers M, Venturi V, & Fira D. 2012. Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria. *Food Technol. Biotechnol.* 50(1): 25–31.
- Brown TA. 1989. *Genetics: a Molecular Approach*. Van Nostrand Reinhold (International) Co.Ltd, London.
- Champoiseau PG, Jones JB, Momol TM, Pingsheng J, Allen C, Norman DJ, & Caldwell K. 2010. *Ralstonia solanacearum* Race 3 biovar 2 causing brown rot of potato, bacterial wilt of tomato and southern wilt of geranium. <http://>

- plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/NRI\_Project/Projectsummary.html. Diunduh 12 November 2012.
- Choudhary DK & Johri BN. 2008. Interaction of *Bacillus* spp. and plants-with special reference to induced systemic resistance (ISR). <<http://www.sciencedirect.com/science?>>. Diunduh 28 Februari 2009.
- Contreras-Medina LM, Torres-Pacheco I, Guevara-Gonzalez RG, Romero-Troncoso RJ, Terol-Villalobos IR, & Osornio-Rios RA. 2009. Mathematical modeling tendencies in plant pathology. *Afr. J. Biotechnol.* 8 (25): 7399–7408.
- Gadewar AV, Travedi TP, & Shekawat. 1991. Potato in Karnataka. *Technical Bulletin* 17: 33.
- Ghosh PP, Mandal D, Laha S, & Dasgupta MK. 2009. Dynamics and severity model in managing fungal diseases. *J. Plant Prot. Sci.* 1(1): 55–59.
- Grover M, Nain L, & Saxena AK. 2009. Comparison between *Bacillus subtilis* RP24 and its antibiotic-defective mutants. *World. J. Microbiol. Biot.* 25(8): 1329–1335.
- Haggag WM & Mohamed HAA. 2007. Biotechnological aspects of microorganism used in plant biological control. *World J. Agric. Sci.* 3(6): 771–776.
- Junaid JM, Dar NA, Bhat TA, Bhat AH, & Bhat MA. 2013. Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens. *Int. J. Modern Plant & Anim. Sci.* 1(2): 39-57.
- Karuna K, Khan ANA, & Ravikumar MR. 2003. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* *International Bacterial Wilt Symposium*. <<http://www.inra.fr/internet/departement/PATHOV/2<sup>nd</sup>-IBWS/B3.html>>. Diunduh 9 Mei 2003.
- Krebs B, Hoding B, Kubart S, Workie MA, Junge H, Schmiedeknecht G, Grosch R, Bochow H, & Hevest M. 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. 1. Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains. *J. Plant Dis.Prot.* 105(2): 181–197.
- Lo CT. 1998. General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. *Plant Pathol. Bull.* 7: 155–166.
- Muthoni J, Shimelis H, & Melis R. 2012. Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* Yabuuchi *et al.*, 1995) of potatoes: opportunity for host resistance in Kenya. *J. Agric. Sci.* 4(9): 64–78.
- Ongena M & Jacques P. 2008. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16(3): 115–125.
- Pelczar, Michael J, & Chan ECS. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Prihatiningsih N. 2013. Aktivitas Antibiosis *Bacillus* sp. B315 sebagai agensia pengendali hayati *Ralstonia solanacearum* pada Kentang. *Disertasi*. Program Pasca Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Semangun H. 1989. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sitompul SM & Guritno B. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sreeju SN, Babu MM, Mariappan C, & Selvamohan T. 2011. Effect of physical and chemical mutagens on biopolymer producing strains and RAPD analysis of mutated strains. *Arch. Appl. Sci. Res.* 3(6): 233–246.
- Van der Plank JE. 1963. *Plant Disease: Epidemics and Control*. Academic Press, New York.
- Yu GY, Sinclair JB, Hartman GL, & Bertagnolli BL. 2002. Production of Iturin A by *Bacillus smyloliqefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*. *Soil Biol. Biochem.* 34: 955.
- Yulianti T, Ibrahim N, & Dalmadiyo G. 1999. Pemanfaatan mikrobia antagonis untuk mengendalikan penyakit lincat. *Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah PFI* I. pp. 632–650.