

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) merupakan komoditas sayuran yang mempunyai nilai gizi cukup baik terutama sebagai sumber vitamin A dan C serta dapat dikonsumsi baik dalam bentuk segar maupun olahan (Puslitbang Hortikultura, 2004). Permintaan konsumen akan buah tomat semakin meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk dan peningkatan kesadaran masyarakat akan pentingnya gizi serta tumbuhnya berbagai industri pengolahan buah tomat. Untuk memenuhi kebutuhan masyarakat dan bahan baku industri, diperlukan upaya peningkatan produksi tomat baik kuantitas, kualitas maupun kontinuitas. Tomat dapat ditanam mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi, baik dalam skala kecil maupun skala besar.

Patogen tular tanah (*soil-borne pathogens*) merupakan kelompok mikroorganisme yang sebagian besar siklus hidupnya berada di dalam tanah dan memiliki kemampuan untuk menginfeksi perakaran atau pangkal batang, sehingga dapat menyebabkan infeksi dan kematian bagi tanaman. Ciri-ciri utama dari patogen tular tanah adalah mempunyai stadia pemencaran dan masa bertahan yang terbatas di dalam tanah, walaupun beberapa patogen tular tanah ini dapat menghasilkan spora udara sehingga dapat memencar ke areal yang lebih luas (Chauhan *et al.* 2006).

Ralstonia solanacearum atau nama terdahulu *Pseudomonas solanacearum* merupakan salah satu patogen tular tanah yang dapat menghambat dalam peningkatan produksi tomat. *R. solanacearum* memiliki kisaran inang yang sangat luas yaitu meliputi lebih dari 200 spesies tanaman dan gulma dalam 33 famili (McCarter, 1996). Beberapa di antara inang tersebut adalah tomat, kentang, kacang tanah, cabai, terong, tembakau, pisang, tanaman hias dan gulma (Kelman, 1953). Di samping kisaran inangnya yang luas, *R. solanacearum* juga memiliki kemampuan bertahan hidup dalam waktu lama di dalam tanah yang menyebabkan patogen tersebut menjadi endemik di suatu lahan dan sulit untuk dikendalikan. Sulitnya pengendalian *R. solanacearum* mengakibatkan penurunan hasil panen pada tomat berkisar antara 5 – 100% (Puslitbang Hortikultura, 1994), tergantung varietas dan cara pengelolaan tanaman.

Telah diketahui bahwa bakteri patogen *R. solanacearum* merupakan patogen tular tanah yang memiliki kemampuan bertahan hidup relatif lama di dalam tanah menyebabkan suatu lahan menjadi endemik. Lahan yang endemik patogen biasanya memiliki kondisi lingkungan yang kondusif terhadap patogen, dan rendahnya mikroorganisme tanah yang bersifat antagonis terhadap patogen sehingga memungkinkan patogen-patogen bertahan relatif lama di dalam tanah (Van, 2000). Sebaliknya lahan yang bersifat tidak endemik patogen (non-endemik) biasanya memberikan efek pada tanaman yang intensitas serangan penyakitnya lebih rendah daripada di lahan endemik.

Menurut Van (2000), lahan yang tidak endemik patogen dapat berpotensi menjadi lahan yang dapat menekan penyakit. Hal tersebut dikarenakan lahan yang dapat menekan penyakit (*suppressive soil*) memiliki keanekaragaman mikroorganisme tanah yang relatif tinggi, sehingga kondusif untuk pertumbuhan tanaman. Keanekaragaman (*diversity*) mikroorganisme tanah merupakan suatu hal yang sangat penting dalam menjaga stabilitas ekosistem. Mikroorganisme tersebut memegang peranan penting terhadap kelangsungan hidup tanaman untuk membantu proses dekomposisi bahan organik dan menjadi musuh bagi patogen (bersifat antagonis). Mikroorganisme dalam tanah yang dimaksud adalah mikroorganisme tanah yang bersifat *benefit* atau menguntungkan dan mendukung pertumbuhan tanaman. Tanah yang dapat menekan pertumbuhan patogen biasanya memiliki ketahanan yang dihasilkan dari adanya peran kompleks biota tanah yang bersifat antagonis terhadap patogen tular tanah. Peran antagonis ini sebagai penekan perkembangan patogen atau menghambat infeksi pada tanaman.

Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian tentang keanekaragaman bakteri yang didapat dari lahan endemik dan non endemik *R. solanacearum*, serta potensi antagonismenya terhadap *R. solanacearum*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana keanekaragaman bakteri pada lahan endemik dan non endemik pertanaman tomat?
2. Bagaimana potensi antagonis bakteri pada lahan endemik dan non endemik terhadap *Ralstonia solanacearum*?

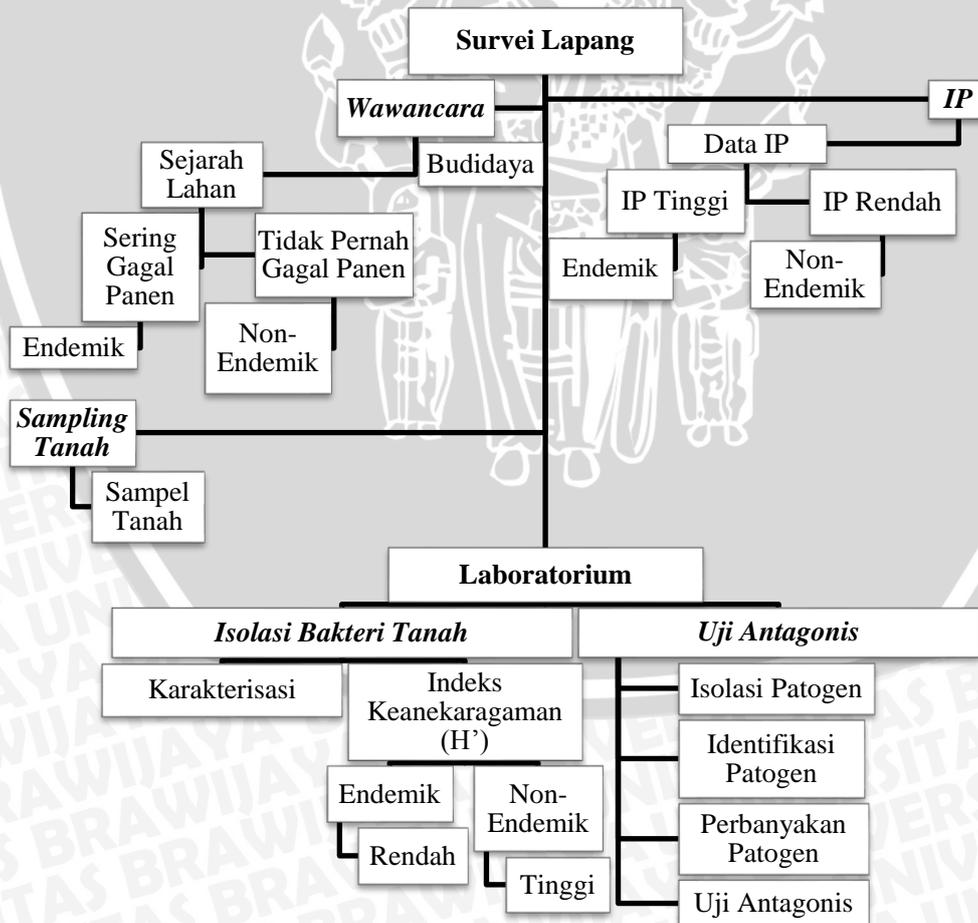
1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keanekaragaman bakteri pada lahan endemik dan non-endemik pertanaman tomat serta mengetahui potensi antagonisme terhadap *R. solanacearum* secara in vitro.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keanekaragaman bakteri lahan endemik dan non endemik pertanaman tomat terkait begitu pentingnya peran keanekaragaman mikroorganisme tanah dalam menjaga stabilitas atau keseimbangan ekosistem, serta memberikan informasi tentang potensi antagonis bakteri tanah pada lahan endemik dan non endemik penyakit layu bakteri terhadap *Ralstonia solanacearum*.

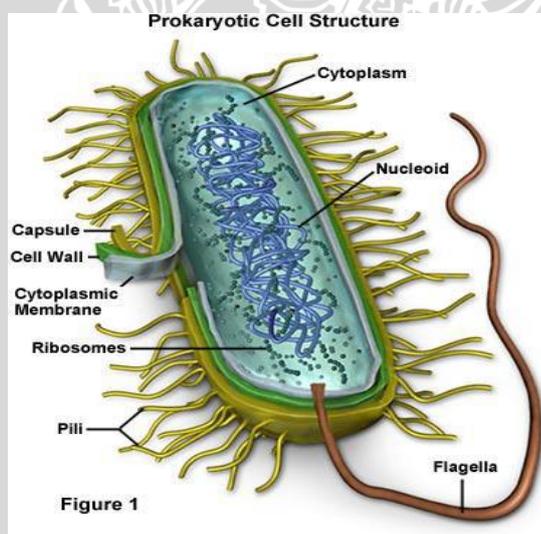
1.5 Kerangka Penelitian



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian Bakteri

Menurut Sumarsih (2003), bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniselular, termasuk klas *Schizomycetes*, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai + 10 km di atas bumi), di dalam lumpur, dan di laut. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang, dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu, dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain itu dapat mengalami pleomorfi, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat pertumbuhan yang sesuai. Umumnya bakteri berukuran 0,5-10 μ .



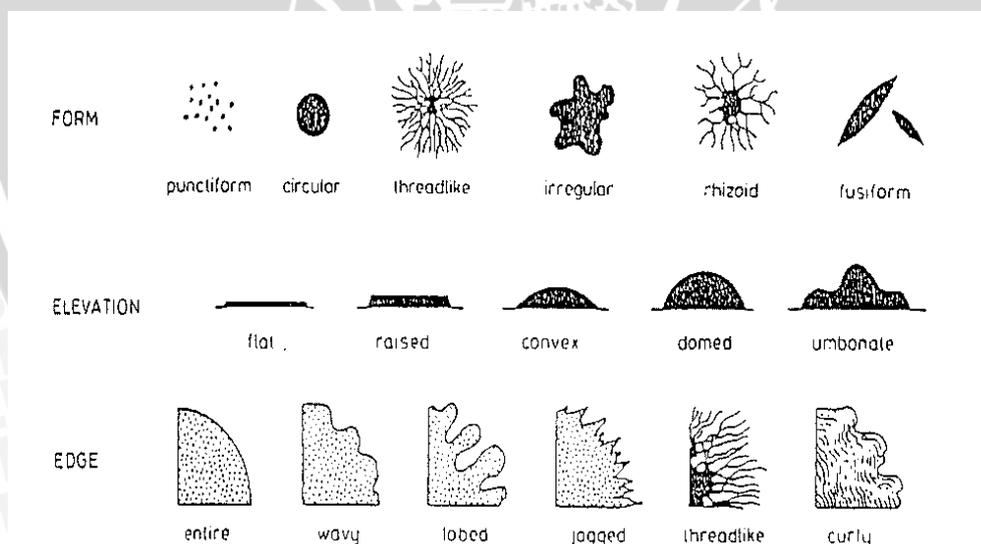
Gambar 1 Bentuk sel bakteri (Harahap,2012)

Dalam beberapa hal, bakteri berbeda dari eukariot. Bakteri tidak memiliki ribosom 80S maupun organel bermembran, seperti nukleus, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma maupun badan golgi (Gambar 1). Bakteri tidak memiliki flagela fibril 9+2 atau struktur silia seperti pada sel eukariot. Bakteri memiliki ribosom 70S dan kromosom sirkuler tunggal (nukleoid) tanpa sampul yang

disusun oleh asam deoksiribonukleat untai-ganda (DNA) yang bereplikasi secara amitosis. Jika terjadi pergerakan sering disebabkan adanya struktur flagela filamen-tunggal. Sejumlah bakteri memiliki mikrofibril eksternal (pili atau fimbria) yang berfungsi untuk menempel. *Mycoplasma* tidak memiliki dinding sel, sedangkan eubakteria lainnya menghasilkan struktur sampul dengan susunan senyawa kimianya mirip peptidoglikan dinding sel. Eubakteria yang berdinding sel dan archaeobakteria dapat berbentuk kokus (bola), basil (batang), batang melengkung atau spiral. Struktur kimia sampul eubakteria sering digunakan untuk membedakannya ke dalam kelompok bakteri Gram-positif, Gram-negatif, dan “acid-fast” (tahan-asam).

2.2 Karakter Morfologi dan Kultur Bakteri

Menurut Harahap (2012), morfologi sel bakteri meliputi bentuk sel, motilitas, susunan flagela, struktur dinding sel, struktur lain: kapsul, endospora, intraselular lipid. Sedangkan morfologi kultur bakter meliputi morfologi koloni dan pigmentasi (*diffusible/ nondiffussible, fluorescent/ non-fluorescent*). Berikut (Gambar 2) merupakan macam-macam morfologi koloni bakteri pada media:



Gambar 2 Morfologi koloni bakteri (Harahap, 2012)

2.3 Identifikasi Bakteri

2.3.1 Isolasi

Untuk melakukan identifikasi, suatu bakteri harus diisolasi. Media untuk isolasi atau media yang dipilih dan metode isolasi atau tahapan isolasi ditentukan

berdasarkan bakteri yang dicurigai. Apabila gejala penyakit yang sama disebabkan oleh bakteri yang berbeda, maka media isolasi untuk kedua bakteri tersebut harus digunakan. Media umum untuk isolasi dapat digunakan untuk sebagian besar phytopatogenik bakteri dan biasanya digunakan bila penyakit belum diketahui penyebabnya. Media spesifik, media semi-selektif dan media diagnostik tersedia untuk hampir sebagian besar bakteri. Kandungan media bervariasi dan biasanya mengandung antibiotik untuk menekan bakteri bukan target dan bakteri target menunjukkan karakter diagnostik tertentu pada media tersebut. Media seperti ini digunakan untuk isolasi bakteri dari bahan perbanyakan tanaman dan dari tanaman sakit. Penyiapan media tersebut kadang-kadang sangat kompleks dan biasanya tidak rutin digunakan. Tetapi untuk isolasi beberapa patogen, seperti *Erwinia* spp dan *Ralstonia solanacearum*, disarankan menggunakan media khusus.

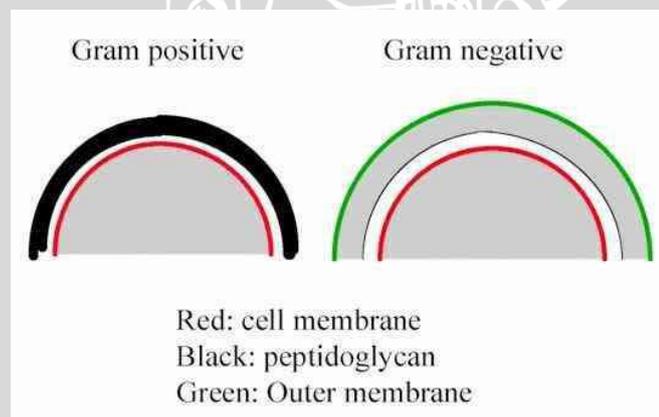
Sumarsih (2003) menjelaskan bahwa isolasi harus dilakukan dari bagian tanaman yang menunjukkan gejala awal penyakit. Untuk kanker dan hawar, isolasi dari batas antara jaringan yang sakit dan sehat. Isolasi dari bercak harus dilakukan dari area kecil transparan (*water soaked*), bukan dari dari bercak coklat atau nekrotik yang lebih luas. Bakteri sekunder dan cendawan biasanya terdapat dalam jumlah besar pada gejala lanjut. Mikroorganisme saprofit tersebut biasanya tumbuh lebih cepat pada media agar dari pada bakteri patogen, menghambat dan menyulitkan isolasi bakteri patogen yang menjadi target isolasi. Lakukan sterilisasi permukaan (bila perlu) dengan menggunakan 0,5% larutan sodium hipoklorit (NaOCl) atau alkohol 70% dengan merendam 30 – 20 menit (tergantung ketebalan dan tipe jaringan tanaman dan tingkat kontaminasi). Tanaman dengan gejala layu, daun yang sangat tipis atau daun yang telah kering sebaiknya tidak disterilisasi permukaan, tetapi dicuci dengan air mengalir. Setelah sterilisasi permukaan, bilas bahan tanaman sakit dengan air steril beberapa kali untuk menghilangkan sisa-sisa desinfektan. Bila tanaman mengandung tanah cuci terlebih dahulu. Bahan tanaman dibiarkan kering sebelum isolasi dilakukan.

Isolasi dapat juga dilakukan dengan melakukan maserasi jaringan tanaman sakit. Hasil maserasi digoreskan (*streak plate*) pada media yang sesuai dengan loop inokulasi untuk mendapatkan koloni tunggal. Cara lain adalah dengan meletakkan jaringan sakit pada tabung reaksi mengandung 2 -3 ml air steril,

biarkan bakteri berdifusi pada suhu ruang selama 30 – 60 menit. Jika bakteri diduga adalah bakteri layu atau busuk lunak, atau bila terdapat saprofit dalam jumlah besar, sebaiknya dilakukan plating dengan pengenceran berseri. Pengenceran berseri 1 : 10 terhadap sap hasil maserasi dibuat dengan menggunakan air steril (*buffer saline*). Plating 0.1 ml dengan menyebarkan (*spread plate*) suspensi bakteri merata pada permukaan agar yang kering menggunakan *L-glass rod*. Koloni tunggal yang terpisah lebih mudah diperoleh dengan cara ini. Media yang sudah diinokulasi diinkubasi terbalik pada 25°C paling kurang 72 jam.

2.3.2 Pewarnaan Gram

Menurut Harahap (2012), pengujian Gram bakteri biasanya adalah pengujian yang paling awal dilakukan, karena pengelompokan berdasarkan uji Gram menentukan penggolongan besar bakteri. Pewarnaan Gram menunjukkan perbedaan yang mendasar dalam organisasi struktur dinding sel bakteri atau amplop sel (Gambar 3). Bakteri Gram positif mempunyai dinding sel relatif tebal, terdiri dari beberapa lapis polimer peptidoglikan (disebut juga murein). Tebalnya dinding sel menahan lolosnya kompleks *crystal violet-iodine* ketika dicuci dengan alkohol atau aseton.



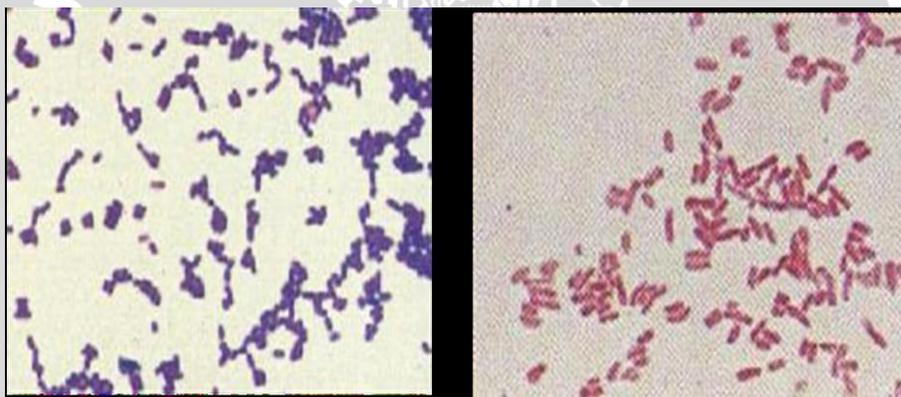
Gambar 3 Perbedaan dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Harahap, 2012)

Bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel berupa lapisan tipis peptidoglikan, yang diselubungi oleh lapisan tipis *outer membrane* yang terdiri dari *lipopolysaccharide* (LPS). Daerah antara peptidoglikan dan lapisan LPS disebut *periplasmic space* (diwarnai dengan abu-abu) adalah zona cairan atau gel

yang mengandung berbagai enzim dan *nutrient-carrier proteins*. Kompleks *Crystal violet-iodine* mudah lolos melalui LPS dan lapisan tipis peptidoglikan ketika sel diperlakukan dengan pelarut.

Mayoritas bakteri patogen tanaman adalah Gram-negatif, aerobik, berbentuk batang atau Gram negatif, anaerobik fakultatif, berbentuk batang. Sebagian besar bakteri Gram positif tergolong *Actinomycetes* yang digolongkan kepada kelompok *Coryneform* dan *Actinomycetales*. Hanya sedikit bakteri tanpa dinding sel yang bersifat patogenik pada tanaman.

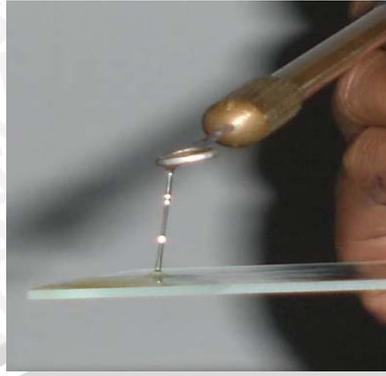
Reaksi Gram, bentuk sel dan ukuran sel menentukan kriteria identifikasi selanjutnya untuk menentukan apakah bakteri kemungkinan patogen tanaman atau tidak. Gunakan biakan yang masih muda (24 jam) untuk pewarnaan Gram. Bakteri Gram Positif akan berwarna ungu gelap sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah (Gambar 4).



Gambar 4 Perbedaan warna sel bakteri secara mikroskopis (Harahap, 2012)

2.3.3 Uji KOH

Cara cepat untuk membedakan bakteri Gram-negatif dan Gram-positif adalah dengan menguji solubilitas bakteri pada KOH 3%. Jika suspensi bakteri berupa benang berlendir bisa terangkat oleh loop (Gambar 5), bakteri adalah Gram negatif. Jika terbentuk suspensi encer, berarti bakteri Gram positif. Dengan metode ini kita tidak dapat mengetahui bentuk dan ukuran sel bakteri.



Gambar 5 Masa bakteri ikut terangkat oleh loop pada saat uji KOH yang mengindikasikan Bakteri Gram negatif (Harahap, 2012)

2.3.4 Postulat Koch

Karena bakteri tersebar luas di lingkungan sebagai epiphyt, keberadaan bakteri pada tanaman/bagian tanaman yang bergejala belum membuktikan bahwa bakteri adalah penyebab penyakit pada tanaman tersebut. Perlu dilakukan percobaan untuk membuktikan suatu bakteri sebagai penyebab penyakit. Kriteria untuk menentukan agen penyebab penyakit pertama kali didefinisikan oleh Robert Koch (1880) dan sekarang dikenal sebagai Postulat Koch, yaitu sebagai berikut :

- (1). Konstan asosiasi: Patogen harus selalu ditemukan bersosiasi dengan penyakit pada semua tanaman sakit yang diamati;
- (2). Isolasi: Patogen harus dapat diisolasi dan ditumbuhkan sebagai biakan murni pada media sintesis.
- (3); Inokulasi: Patogen dari biakan murni harus menghasilkan penyakit yang sama ketika diinokulasikan pada tanaman sehat;
- (4). Reisolasi: Patogen harus dapat diisolasi kembali dalam bentuk biakan murni dan karakternya harus persis sama dengan pengamatan pada tahap 2.

Inokulasi bakteri pada tanaman inang untuk melihat apakah bakteri menimbulkan penyakit disebut juga dengan uji patogenisitas. Kemampuan suatu bakteri untuk menimbulkan penyakit pada suatu spesies atau kultivar tanaman tertentu merupakan kriteria penting dalam menentukan status spesies dan patovar bakteri. Uji patogenisitas dilakukan terhadap isolat bakteri dengan menginfiltrasi suspensi bakteri kedalam jaringan tanaman dan selanjutnya respon tanaman diamati.

2.3.5 Reaksi Hipersensitif

Kemampuan bakteri menyebabkan penyakit (*pathogenicity*) bisa diketahui dengan menginduksi penyakit pada tanaman inang (dengan menginfiltrasi bakteri kedalam tanaman inang) atau dengan reaksi hipersensitif (dengan infiltrasi bakteri pada tanaman bukan inang). Bila suatu bakteri patogen diinfiltrasi pada area terbatas pada daun tanaman maka akan terjadi 3 tipe raksi tergantung kepada jenis spesies atau patovar bakteri menurut Harahap (2012), yaitu: (1). Reaksi hipersensitif: terjadi kematian sel tanaman yang cepat, tanpa terjadi penyebaran bakteri ke jaringan sekitarnya; (2). Reaksi penyakit: respon inang lambat terhadap infiltrasi bakteri, sehingga bakteri menyebar pada bagian lain dari tanaman yang menyebabkan tanaman menjadi layu bahkan mati; (3). Tidak ada reaksi.

Reaksi hipersensitif tidak terjadi dengan bakteri non-fitopatogenik. Kemampuan bakteri tanaman menghasilkan HR pada tanaman non-inang, dapat digunakan sebagai uji patogenisitas dari isolat bakteri patogen. HR dapat digunakan untuk hampir semua bakteri patogen tanaman termasuk yang menyebabkan penyakit nekrotik, layu, dan beberapa bakteri penyebab busuk lunak. HR biasanya tidak terjadi dengan bakteri *Erwinia* busuk lunak, kelompok agrobacteria dan *Pseudomonas savastanoi* subsp. *savastanoi* dan patogen oportunistik seperti *Pseudomonas marginalis*.

Reaksi hipersensitif adalah respon resistensi tanaman untuk melokalisasi bakteri sehingga tanaman dapat mengatasi serangan berbagai jenis bakteri yang berpotensi menyebabkan penyakit. Tanaman tembakau biasanya digunakan untuk uji HR, karena daunnya mudah untuk diinfiltrasi, dan tanaman mudah dipelihara pada kondisi laboratorium. Inokulum bakteri pada fase pertumbuhan aktif (log phase) dengan konsentrasi $10^8 - 10^9$ sel/ml diinfiltrasi ke dalam ruang interselular daun menggunakan syring. Reaksi nekrotik yang terlokalisir berwarna pucat atau dan merah perunggu muncul dalam jangka waktu 24 jam setelah infiltrasi bakteri. Untuk bakteri kelompok *Xanthomonas* reaksi tembakau kurang bagus, dan dapat digantikan dengan tanaman tomat dan cabe.

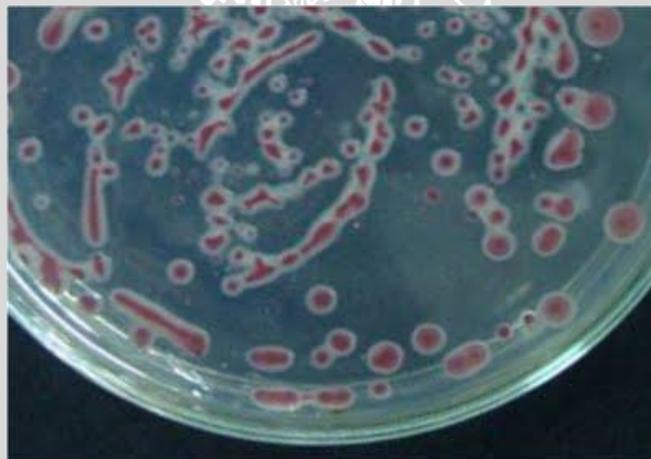
2.4 Layu Bakteri (*R. solanacearum*)

2.4.1 Morfologi *R. solanacearum*

Bakteri yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman cabai awalnya diketahui dengan nama *Bacillus solanacearum* dan setelah beberapa kali

mengalami perubahan taksonomi menjadi *Pseudomonas solanacearum*, perubahan taksonomi terakhir dengan nama *Ralstonia solanacearum* (Moorman, 2004).

R. solanacearum bersifat Gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran 0,5 m x 1,5 m, dapat bergerak dengan satu atau beberapa flagela, aerobik, dapat mereduksi nitrat dan memproduksi amonia. Bakteri ini diklasifikasikan menjadi Ras berdasarkan perbedaan kisaran inang dan Biovar berdasarkan sifat biokimia (penggunaan sumber karbon) (Moorman, 2004). Karakteristik lain adalah tidak membentuk pigmen pendar fluor, katalase dan kovac'soksidase positif, kemoorganotrof, tidak mampu tumbuh pada suhu 40°C, tumbuh pada medium yang mengandung 1% NaCl, tetapi tidak tumbuh pada medium yang mengandung 2% NaCl (Hayward, 1976; EPPO, 2004). Morfologi *R. solanacearum* secara makroskopis dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6 Kenampakan koloni *R. solanacearum* pada media TZC

Bakteri ini diketahui dapat mengakumulasi *poly-β-hidroxybutirat* yang dapat dideteksi dengan Sudan Black B, reaksi pada medium yang mengandung *Tryphenil Tetrazolium Chloride* yaitu warna koloni strain virulen merah muda sedangkan strain avirulen berwarna merah tua, dapat memproduksi ekstrapolisakarida (EPS), tidak memproduksi levan dari sukrosa dan tidak menghidrolisa gelatin (Brown *et al.*, 1980).

Terdapat dua tipe isolat yang ditumbuhkan pada media yang mengandung 0,5% sukrosa atau glukosa, yaitu basah (*fluidal*) karena bakteri mampu menghasilkan ekstrapolisakarida, sedangkan tipe yang lain adalah kering (*butirus*)

(Schaad *et al.*, 2001), strain yang patogenik memiliki tipe koloni basah (*fluidal*) dan tidak berflagela pada media agar sedangkan strain yang avirulen koloni kering (*butirus*), berflagela dan dapat bergerak (*motil*) (Goto, 1992).

2.4.2 Gejala Infeksi *R. solanacearum*

Layu bakteri adalah salah satu penyakit penting yang disebabkan oleh bakteri patogen *Ralstonia solanacearum*. Serangan *R. solanacearum* memiliki jangkauan yang luas, yaitu tanaman dari keluarga *solanaceae* misalnya tanaman tomat, cabai, terung, dan kentang, sehingga menyebabkan kerugian yang cukup besar dalam hasil panen (Rukmana, 1997). Gejala serangan yang ditimbulkan oleh bakteri patogen *R. solanacearum* ini adalah tanaman layu secara cepat kemudian diikuti dengan menguningnya daun. Apabila pangkal batang tanaman terserang dipotong secara melintang, maka akan terlihat jaringan pembuluh berwarna coklat gelap dan bila direndam dalam air akan keluar eksudat yang berupa lendir-lendir bakteri berwarna putih keabu-abuan.

Gejala infeksi *R. solanacearum* menurut literatur lain (Nawangsih dkk., 2001) mengatakan bahwa tanaman yang terserang awalnya menunjukkan gejala kehilangan kesegaran pada daun dan diikuti proses kelayuan tanaman dan akhirnya tanaman mengalami kemunduran pertumbuhan kemudian mati.

Pada batang, pangkal batang atau cabang yang terserang jika dibelah akan terlihat berkas pembuluh pengangkutan yang berwarna coklat tua dan membusuk (Prajnanta, 2001), jika ditekan akan mengeluarkan lendir berwarna putih kotor yang merupakan koloni bakteri, infeksi pada akar segera menjalar ke batang (Brown *et al.*, 1980).

Gejala layu tampak akibat jaringan pembuluh vaskular terhalang oleh massa bakteri dan lendir polisakaridanya, walaupun ada yang menyatakan bahwa bakteri memproduksi toksin dan dapat menginduksi tanaman menjadi layu, bakteri akan menyebar dengan cepat dan memperbanyak diri di dalam jaringan pengangkutan (vaskular) (Brown *et al.*, 1980).

2.4.3 Kisaran Inang dan Penyebaran *R. solanacearum*

Bakteri ini memiliki kisaran inang yang sangat luas dan menyerang sejumlah tanaman penting meliputi lebih dari 140 spesies tanaman yang tergolong dalam lebih dari 40 famili. Inang yang terpenting dari patogen ini adalah tomat,

pisang, tembakau, kentang, cabai, kapas, karet, ubi jalar dan jahe. Beberapa gulma dapat menjadi inang bagi patogen dan kemungkinan besar berpeluang sebagai sumber inokulum (Hayward, 1994).

Patogen ini dapat menyebar lewat air, tanah atau lewat pisau yang digunakan untuk memotong. Penyakit dapat menyebar melalui biji, serangga, nematoda, bahan tanaman sakit, manusia dan alat pertanian (Rukmana, 1997; Kelman, 1953). Bakteri masuk ke dalam jaringan tanaman melalui luka pada akar yang disebabkan oleh serangga, nematoda, atau pengolahan tanah. Bakteri juga masuk ke akar tanaman secara alami melalui akar *lateral/primer* yang baru tumbuh, mengkoloni akar dan menyerang pertumbuhan pembuluh *xylem*.

2.4.4 Ekologi *R. solanacearum*

R. solanacearum dapat hidup dengan baik pada tanah berpasir yang kelembabannya tinggi dan suhu di atas 24°C. Faktor suhu berperan sangat penting terhadap perkembangan patogen, suhu optimum untuk pertumbuhan *R. solanacearum* tergantung pada strainnya dan bervariasi antara 27°C-37°C dengan suhu maksimum sekitar 39°C dan suhu minimum 10°C-15°C (Hayward, 1976). Bakteri tidak mampu tumbuh pada suhu 40°C (EPPO, 2004), apabila temperatur tinggi (35°C-37°C) dengan kelembaban tinggi 80%, bakteri akan cepat berkembang dan menginfeksi tanaman (Rukmana, 1997). Populasi *R. solanacearum* menurun secara signifikan ketika terjadi peningkatan suhu tanah dan penurunan kelembaban tanah. Akan tetapi, pada kelembaban yang tinggi dan temperatur yang rendah, bakteri dapat bertahan dalam waktu relatif lama di dalam tanah. Bakteri layu sangat merugikan pada tanah-tanah yang basah, karena pada keadaan basah absorpsi air oleh tanaman akan lebih tinggi dan mengakibatkan tanaman menjadi lebih sukulen dan aktivitas bakteri meningkat (Sastrahidayat, 1990).

2.5 Mikrobiologi Tanah

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mikrobia berperan atas perubahan kimiawi yang terjadi di dalam tanah. Peranan mikrobia dalam beberapa siklus unsur hara yang penting, seperti siklus Karbon, Nitrogen, Sulfur, ditunjukkan oleh Winogradsky dan Beijerinck. Winogradsky menemukan bakteri

yang mempunyai fisiologis khusus, yang disebut bakteri autotrof. Bakteri ini dapat tumbuh pada lingkungan yang seluruhnya anorganik. Energi diperoleh dari hasil oksidasi senyawa anorganik tereduksi, dan menggunakan CO₂ sebagai sumber Karbon. Bakteri autotrof dapat dicirikan dari kemampuannya menggunakan sumber anorganik tertentu. Sebagai contoh, bakteri Belerang dapat mengoksidasi senyawa Belerang anorganik. Penemuan lain bersama Beijerinck adalah adanya bakteri penambat Nitrogen nonsimbiotik dan simbiotik, yang dapat memanfaatkan Nitrogen dalam bentuk gas N₂.

2.6 Keanekaragaman Biotik Tanah

Menurut BIS (2010) organisme penghuni ekosistem tanah diperkirakan sejumlah seperempat dari seluruh organisme di bumi. Diilustrasikan bahwa dalam satu sendok teh tanah kebun yang subur dapat ditemukan ribuan spesies, milyaran individu bakteri dan ratusan meter jaringan hifa jamur. BIS (2010) memperkirakan total biomassa bakteri pada tanah padang rumput di daerah mencapai 1-2 ton/ha yang setara dengan berat 1-2 ekor sapi. Walaupun ukurannya sangat kecil, menurut Breure (2004) mikroorganisme tanah bertanggung jawab terhadap sebagian besar proses-proses biologis (60-80%) yang berkaitan dengan siklus unsur hara dan dekomposisi bahan organik.

Untuk dapat berlangsungnya suatu ekosistem secara harmonis dan dinamis masing-masing individu dan spesies harus dapat memainkan peranannya di ekosistem tersebut secara optimal. Peran yang sama dapat dimainkan oleh kelompok organisme yang berbeda. Peran sebagai produsen tentu saja hanya dimainkan oleh kelompok tumbuhan. Namun organisme yang berperan di tingkat tropik yang lebih tinggi dapat dimainkan oleh golongan fauna yang berbeda-beda.

Oleh karena itu, Lavelle and Beare (2009) menggolongkan organisme tanah berdasarkan fungsinya di ekosistem. Pada setiap ekosistem dihuni oleh berbagai organisme yang memiliki peran tertentu. Ketika masing-masing kelompok fungsional dapat berperan dengan optimal maka ekosistem berjalan secara dinamis dan produktif. Masing-masing kelompok tidak berdiri sendiri, tetapi terjadi suatu ikatan saling ketergantungan. Oleh karena itu gangguan yang terjadi pada suatu kelompok akan mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan fungsi ekosistem.

2.6.1 Pengertian Keanekaragaman dalam Tanah secara Fungsional

Keanekaragaman fungsional adalah penggolongan organisme berdasarkan fungsinya di dalam ekosistem tempat mereka hidup dan beraktivitas. Tilman (2001) mendefinisikan keanekaragaman fungsional (*functional diversity*) sebagai komponen keanekaragaman hayati yang mempengaruhi bekerjanya suatu ekosistem. Dengan demikian keanekaragaman fungsional mempengaruhi dinamika, stabilitas dan produktivitas ekosistem, termasuk menentukan keseimbangan unsur hara dan aspek-aspek lain yang menentukan ekosistem berfungsi secara optimal. Dari keterangan di atas, keanekaragaman fungsional tanah dapat didefinisikan sebagai komponen keanekaragaman hayati yang mempengaruhi dinamika, stabilitas dan produktivitas ekosistem dalam tanah dan ekosistem di atasnya. Keanekaragaman fungsional tanah penting dalam berlangsungnya ekosistem tanah karena mereka berperan dalam pembentukan dan stabilitas struktur, kesuburan dan penyanggaan (*buffering*) tanah. Organisme tanah merupakan komponen utama dalam semua ekosistem tanah (Breure, 2004). Walaupun total biomass organisme tanah lebih rendah dibandingkan fraksi humus atau fraksi mineral tetapi aktivitas mereka sangat penting dalam menentukan berfungsinya ekosistem tanah. Organisme tanah dapat dianalogikan sebagai “mesin biologis bumi” karena mereka memegang “peranan kunci” dalam ekosistem tanah yang memfasilitasi berfungsinya ekosistem di atasnya. Karena organisme tanah mengendalikan proses daur nutrisi, dinamika struktur tanah, degradasi polutan tanah, dan lain-lain yang mempengaruhi dinamika populasi tumbuhan yang tumbuh di atasnya.

2.6.2 Penggolongan Organisme Tanah Berdasarkan Fungsinya di Ekosistem

a. Kelompok Fungsional Perekayasa Kimia (*Chemical Engineers*)

Sudah menjadi pemahaman umum bahwa mikroorganisme tanah (bakteri, *fungi*, *actinomycetes*) memainkan peranan yang sangat penting pada proses humifikasi, mineralisasi bahan organik tanah, sehingga menjadi unsur-unsur hara yang tersedia untuk pertumbuhan tanaman. Sehingga mikroorganisme digolongkan ke dalam perekayasa kimia (*chemical engineer*), karena mereka berperan menguraikan sisa-sisa tumbuhan yang sudah mati menjadi unsur-unsur hara yang siap diserap oleh tanaman.

Sebagai perekayasa kimia, mikroorganisme tanah memainkan beberapa peranan, antara lain mendekomposisikan bahan organik. Salah satu proses dalam tanah yang sangat tergantung pada keberadaan mikroorganisme tanah adalah proses daur ulang bahan organik. Bahan organik tanah (BOT) merupakan produk langsung dari gabungan aktivitas kimia tumbuhan, mikroorganisme, fauna dan berbagai faktor abiotik. BOT berperan dalam proses penting dalam tanah, seperti kesuburan dan aerasi tanah (Breure, 2004). Dalam proses pedogenesis (pembentukan tanah) mikroorganisme membantu melepaskan unsur hara menjadi bentuk tersedia bagi tanaman dan mempengaruhi pelapukan batuan dan melarutkan mineral, serta berkontribusi terhadap pembentukan struktur dan agregasi tanah (Breure, 2004).

b. Kelompok Fungsional Pengendali Kehidupan (*Biological Control*)

Kelompok fungsional pengendali biologis (*biological control*) berpengaruh secara langsung dalam menentukan produktivitas lahan. Produktivitas lahan (tanaman) dapat diturunkan karena adanya serangan patogen tular tanah. Beberapa fauna tanah merupakan predator patogen, sehingga sangat penting dalam menjaga kestabilan produktivitas lahan. Dalam beberapa kejadian, patogen dapat berperan sebagai *biological control* yang menguntungkan bagi keanekaragaman hayati ketika mereka menyerang tanaman invasif (BIS, 2010). Mikroorganisme tanah juga dapat berperan sebagai pengendali biologi karena ketika mereka membangun simbiosis dengan akar tanaman dan bersifat antagonis terhadap patogen (Breure, 2004) sehingga dapat memperbaiki kesehatan tanaman dan meningkatkan produktivitas.

c. Kelompok Fungsional Perekayasa Lingkungan (*Ecosystem Engineers*)

Organisme digolongkan ke dalam perekayasa lingkungan ketika mereka dapat menciptakan atau memodifikasi habitat bagi organisme lain. Pada umumnya yang berperan sebagai perekayasa lingkungan secara taksonomi umum tergolong sebagai fauna tanah. Peranan fauna tanah terhadap produktivitas lahan bersifat tidak langsung.

Sebagai perekayasa lingkungan, fauna tanah terbagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok pertama adalah yang berperan langsung dalam proses perombakan bahan organik secara mekanik, termasuk di dalamnya adalah siput,

cacing tanah, kaki seribu, semut dan rayap. Dalam aktivitasnya mereka menggigit dan mengunyah serasah menjadi ukuran yang lebih kecil sehingga akan mempermudah proses dekomposisi oleh mikroorganisme tanah (Emmerling *et al.*, 2002).

Kelompok yang kedua adalah fauna yang berperan menciptakan struktur tanah misalnya cacing tanah dan rayap. Kelompok ini juga berperan dalam pendistribusian bahan organik ke dalam lapisan tanah yang lebih dalam (bioturbasi) dan bertanggungjawab terhadap proses pencampuran bahan organik dengan tanah (Emmerling *et al.*, 2002). Cacing tanah berperan dalam proses inkorporasi bahan organik dari permukaan tanah ke lapisan tanah yang lebih dalam. Akibat dari aktivitas cacing tanah ini dapat meningkatkan ketersediaan air tanah, memperbaiki agregasi tanah dan meningkatkan populasi mikroorganisme tanah (Breure, 2004) Peranan kedua kelompok tersebut akan berpengaruh positif terhadap sifat fisik dan kimia tanah sehingga akan memperbaiki kesuburan dan kualitas tanah. Meningkatnya kualitas dan kesuburan tanah akan meningkatkan produktivitas lahan.

Perekayasa lingkungan juga bertanggungjawab terhadap ketersediaan sumberdaya (makanan/ nutrisi, sumber energi, dan sebagainya) bagi organisme lain karena struktur tanah merupakan *hotspot* bagi aktivitas mikroorganisme. Cacing tanah, misalnya, dapat menghasilkan kotoran yang disebut “*casting*” dengan kecepatan beberapa ratus ton per tahun per hektar (BIS, 2010). Menurut Breure (2004) cacing tanah merupakan komponen utama biomassa fauna tanah di daerah *temperate*. Karena pada daerah tersebut biomassa cacing tanah mencapai 50% di ekosistem padang rumput dan 60% di ekosistem hutan.

2.6.3 Hubungan Timbal Balik antara Keanekaragaman Fungsional dan Pertumbuhan Tanaman

Tumbuhan merupakan jembatan antara ekosistem yang ada di atas dan di dalam tanah. Oleh karena itu menurut Tilman *et al.*, (2001) perubahan keanekaragaman vegetasi tentu saja akan mengubah fungsi ekosistem di atas dan di dalam tanah. Perubahan struktur vegetasi akan mempengaruhi fungsi ekosistem dalam tanah (Hooper *et al.*, 2001) termasuk proses-proses pembentukan tanah, struktur tanah dan komunitas biota tanah (Heemsbergen *et al.*, 2004).

Interaksi antara keanekaragaman tanaman dengan komunitas bawah tanah sampai saat ini belum dilakukan penelitian secara intensif. Carney and Matson (2005) menyatakan bahwa terdapat interaksi yang erat antara keanekaragaman tanaman dengan keanekaragaman mikroorganisme tanah, diduga tanaman menjadi mediator perubahan komunitas mikroorganisme tanah yang berdampak terhadap fungsi ekosistem. Sebagian besar mikroorganisme tanah bersifat heterotrof (tidak dapat menghasilkan makanannya sendiri)

sehingga menggunakan eksudat akar atau bahan organik sebagai sumber makanannya. Sumber bahan organik utama di ekosistem terestrial adalah tanaman sehingga tanaman mempunyai peranan yang sangat penting dalam mengendalikan komunitas mikroorganisme tanah, terutama di rizosfir. Oleh karena itu, perubahan kualitas dan kuantitas makanan yang disebabkan karena perubahan diversitas tumbuhan akan mengubah jumlah, aktivitas dan keanekaragaman mikroorganisme tanah (Hooper *et al.*, 2001).

Kaitan antara keanekaragaman tanaman di atas tanah dengan aktivitas mikroorganisme di bawah tanah telah dilakukan untuk mengetahui peranan keanekaragaman tumbuhan tingkat tinggi terhadap stabilitas, resiliensi dan fungsi ekosistem (Kowalchuk *et al.*, 2002). Hasilnya menunjukkan bahwa keanekaragaman mikroorganisme tanah memberikan dampak positif (Broughton and Gross, 2000) atau netral (Wardle *et al.*, 1997) terhadap keanekaragaman dan produktivitas tumbuhan di atasnya.

Menurut Zhangfeng *et al.*, (2007) tumbuhan memberikan pengaruh terhadap komunitas organisme tanah melalui suplai karbon yang diberikan oleh eksudat akar. Sehingga aktivitas dan jumlah mikroorganisme di rizosfir akan jauh lebih besar dibandingkan dengan tanah di sekitarnya. Tumbuhan yang berbeda akan menghasilkan jenis dan komposisi eksudat yang berbeda. Perbedaan jenis dan komposisi eksudat yang diproduksi oleh akar akan menentukan komposisi keanekaragaman komunitas mikroorganisme rizosfir. Dengan demikian pergiliran tanaman (*crop rotation*) juga menentukan komunitas mikroorganisme rizosfer karena berkaitan dengan jenis dan komposisi eksudat yang dihasilkan oleh tanaman yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan pergiliran tanaman dapat merubah agresivitas patogen terhadap tanaman yang baru. Hal ini karena patogen tidak mampu menggunakan eksudat akar tanaman dari jenis yang baru atau karena

tanaman yang baru mengundang mikroorganisme yang menjadi pengendali bagi patogen tersebut.

2.6.4 Dampak Keanekaragaman Fungsional terhadap Produktivitas Lahan

Berbagai fungsi yang diperankan oleh organisme tanah dapat memberikan keuntungan terhadap produktivitas lahan. Aktivitas yang dilakukan oleh organisme tanah dapat secara langsung mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Misalnya aktivitas organisme yang berperan dalam siklus unsur hara dan proses pembentukan tanah akan mempengaruhi ketersediaan unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman. Keanekaragaman organisme tanah selanjutnya akan mempengaruhi berbagai proses yang terjadi di atasnya. Hal ini karena keanekaragaman organisme tanah akan mempengaruhi keanekaragaman vegetasi di atasnya yang akan berakibat terhadap kualitas dan kuantitas air, berperan dalam menghambat laju perubahan iklim, dan menentukan produktivitas pertanian dan kehutanan. Berikut dampak keanekaragaman fungsional terhadap produktivitas lahan:

a. Mempengaruhi struktur, kandungan bahan organik dan kesuburan tanah

Organisme tanah mempengaruhi pembentukan struktur tanah. Bahan organik tanah merupakan *building block* yang penting dalam pembentukan struktur tanah (BIS, 2010). Karena bahan ini menentukan aerasi tanah, kapasitas tanah dalam menyimpan air dan menahan unsur hara. Kelompok fungsional perekayasa (kimia dan ekosistem) memberikan kontribusi dalam proses pembentukan dan dekomposisi bahan organik tanah sehingga berperan dalam proses pembentukan tanah. Misalnya beberapa spesies fungi menghasilkan suatu protein yang merekat butir-butir tanah sehingga penting dalam pembentukan agregat tanah.

Proses dekomposisi bahan organik dalam tanah akan melepaskan unsur-unsur yang dapat langsung digunakan oleh tumbuhan dan organisme lainnya. Sisa-sisa bahan organik dalam tanah akan membentuk humus yang menentukan kualitas dan kesuburan tanah (BIS, 2010). Sehingga organisme tanah secara tidak langsung menentukan kualitas dan kelimpahan tumbuhan dan produktivitas lahan. Satu hal yang harus difahami bahwa bahan organik tanah hanya dapat diproses oleh komunitas organisme dalam tanah, tidak dapat dibuat oleh manusia.

Ketika bahan organik tanah tidak tersedia dalam tanah dapat mengancam produktivitas lahan pertanian dan kehutanan di atasnya yang secara langsung atau tidak langsung akan mengancam kehidupan di bumi. Karena semua kehidupan di bumi sangat tergantung pada produktivitas tumbuhan, seperti suplai makanan, energi, oksigen, air bersih, dan lain-lain.

b. Mempengaruhi kualitas air dalam tanah

Menurut Breure (2004) keberadaan organisme perekayasa ekosistem tanah mempengaruhi infiltrasi dan distribusi air dalam tanah. Mereka menciptakan agregat dan pori-pori tanah sehingga akan mempengaruhi komposisi dan struktur vegetasi di atasnya. Tumbuhan akan menurunkan erosi tanah dan aliran permukaan melalui produksi serasah dan sistem perakaran tanaman akan mempengaruhi infiltrasi air. Hasil penelitian Breure (2004) menunjukkan bahwa menurunnya populasi cacing tanah akibat kontaminasi tanah dapat menurunkan laju infiltrasi air ke dalam tanah, bahkan pada beberapa kasus penurunan dapat mencapai 93%. Keanekaragaman mikroorganisme dalam tanah berkontribusi terhadap proses pemurnian air. Beberapa mikroorganisme mempunyai kemampuan untuk melakukan proses bioremediasi terhadap polutan yang terdapat dalam air.

Tumbuhan merupakan agen penting yang berperan dalam menentukan siklus air di atmosfer melalui aktivitas evapotranspirasi. Hilangnya komunitas tumbuhan akan mempengaruhi kualitas dan kuantitas air permukaan dan air dalam tanah sehingga akan mempengaruhi kehidupan di muka bumi. Oleh karena itu keberadaan komunitas tumbuhan (dalam bentuk hutan) tidak dapat ditawar sebagai salah satu kunci penentu kualitas kehidupan di muka bumi (Widyati, 2013).

c. Menekan populasi spesies invasif

Spesies eksotik dapat disebut sebagai invasif ketika kelimpahan mereka di habitat yang baru menjadi melebihi spesies aslinya (BIS, 2010). Urbanisasi, perubahan pola penggunaan lahan dan perubahan iklim dapat meningkatkan kemungkinan ekspansi spesies invasif yang dapat mengancam keanekaragaman hayati setempat. Menurut BIS (2010) spesies invasif dapat memberikan dampak yang besar baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap organisme tanah

dan keanekaragaman hayati. Spesies invasif akan mengubah dinamika siklus unsur hara karena berubahnya dominansi spesies kunci sehingga mengakibatkan terjadinya perubahan kelimpahan mikroorganisme dalam tanah. Jenis-jenis invasif umumnya sukses membangun simbiosis dengan mikroorganisme tertentu (umumnya mikoriza) sehingga akan mengganggu keanekaragaman mikroorganisme dalam tanah karena unsur hara banyak dikuras oleh mikoriza dan diberikan kepada spesies invasif. Mikoriza pertama kali ditemukan oleh Frank, seorang botanist dari Eropa pada tahun 1885 dan diartikan sebagai *root fungus* (jamur akar) karena kemampuannya mengambil unsur hara seperti layaknya fungsi akar tanaman (Muhibuddin, 2007).

Menurut Breure (2004) kehadiran spesies invasif dapat menurunkan populasi *biological regulator*, terutama ketika kelompok fungsional tersebut memiliki hubungan khusus (*species-specific relationship*) dengan tanaman tertentu. Peranan keanekaragaman fungsional dalam mengendalikan spesies invasif tidak bersifat langsung. Mereka mempengaruhi kerapatan, kelimpahan dan distribusi tumbuhan di atasnya. Ketika ekosistem berada dalam kondisi optimal maka populasi spesies invasif tidak akan dapat tumbuh dan menginvasi ekosistem yang stabil. Hal ini karena spesies invasif umumnya memerlukan cahaya yang penuh (*shading intoleran*)

2.7 Peran Bakteri Menguntungkan dalam Tanah

a. PGPR

Bakteri antagonis banyak ditemukan di sekitar sistem perakaran akar tanaman atau dikenal dengan istilah bakteri rhizosfir (Tenuta *et al.*, 2003). Bakteri rhizosfir dapat ditemukan dalam jumlah yang banyak pada daerah permukaan perakaran, dimana nutrisi disediakan oleh eksudat dan *lysates* tanaman (Lynch 1991, Rovira 1974 dalam Van Loon 1998). Beberapa strain bakteri rizosfir adalah bakteri PGPR, karena pengaplikasiannya dapat menstimulasi pertumbuhan dan meningkatkan daya tahan tanaman pada kondisi yang kurang menguntungkan.

b. Biofertilisasi

Strain bakteri pengikat nitrogen berasal dari genera *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* and *Allorhizobium*. Bakteri-bakteri tersebut membentuk simbiosis inang spesifik

dengan tanaman-tanaman leguminosa. Simbiosis tersebut dicirikan dengan terbentuknya *nodul* pada akar atau batang tanaman dalam responnya terhadap keberadaan bakterium dimana signal molekul *Lipooligosacharide* sangat berperan didalam proses tersebut (Nasahi, 2010).

Bakteri melakukan penetrasi terhadap korteks, menginduksi *nodul* pada akar, memperbanyak diri dan kemudian berdiferensiasi menjadi *bacteroids*, yang menghasilkan *nitrogenase enzyme complex*. Didalam nodul akar, tanaman membuat oksigen dengan konsentrasi rendah yang diperlukan bakteri untuk merubah *atmospheric nitrogen* menjadi *ammonia*. Sedangkan tanaman sebagai penyedia sumber karbon bagi bakteri. (Madhigan *et al.*, 2000).

c. *Phytostimulation*

Phytostimulator meningkatkan pertumbuhan tanaman secara langsung. Mekanisme yang terjadi pada penstimulasian perkembangan akar dan hasil tanaman yang disebabkan oleh *Azospirillum* spp., Selain dapat mengikat nitrogen *Azospirillum* spp., dapat menghasilkan *phytohormones* seperti *auxins*, *cytokinins*, dan *gibberellins* yang diperlukan bagi pertumbuhan tanaman (Nasahi, 2010).

d. *Biocontrol agents*

Tanah supresif mengandung bakteri rizosfer yang dapat mengontrol penyebab penyakit tanaman yang disebabkan oleh jamur atau bakteri. Mekanisme yang terlibat dalam aktifitas biokontrol ini adalah kompetisi terhadap nutrisi, produksi anti-fungal metabolites (AFMs) dan induksi ketahanan sistemik (ISR). Pada umumnya strain biocontrol *Pseudomonas* menghasilkan AFMs dari kelas *phenazines*, *pyrrolnitrin*, *2,4-diacetylphloroglucinol* (DAPG) dan *pyoluteorin* (Nasahi, 2010).

Namun baru-baru ini ditemukan AFMs yang termasuk dalam kelas *cyclic lipopeptides* seperti *tensin* dan *viscosinamide* yang dapat mencegah infeksi *Pythium ultimum* terhadap *sugarbeet*. *Pseudomonas fluorescens* merupakan salah satu grup dari bakteri saprofit non patogenik yang berkoloni dalam tanah, air dan lingkungan permukaan tanaman. Sejumlah strain dari *P. fluorescens* dapat menekan penyakit pada tanaman dengan melindungi benih dan akar dari infeksi jamur dengan cara menghasilkan sejumlah produk hasil metabolit sekunder seperti antibiotik, *siderophore* dan hidrogen sianida (JGI *Microbes*, 2004).

Bakteri tersebut dapat bersifat antagonis terhadap patogen-patogen tular tanah melalui beberapa mekanisme. Penghasil *siderophore* dapat menghambat pertumbuhan patogen dengan cara membatasi ketersediaan unsur besi dalam tanah, antibiotik dapat menekan jumlah mikroorganisme yang berkompetisi, glucanase dan chitinase dapat mendegradasi sel-sel mikrobia. Sebagai contoh, penekanan layu fusarium pada *carnation* dan lobak oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Fod) and *F. oxysporum* f.sp. *raphani* (For) melalui terjadi kompetisi terhadap unsur besi oleh *Pseudomonas putida* strain WCS358. Pada kondisi dimana ketersediaan unsur besi terbatas, strain WCS358 mengeluarkan *siderophore* tipe *pyoverdin* (*pseudobactin* 358) yang dapat mengikat *ferric ion* menjadi *ferricsiderophore complex* yang dapat di transportasikan secara spesifik ke dalam sel bakteri (Nasahi, 2010).

e. Bakteri Entomopatogen

Bakteri merupakan entomopatogen yang mulai banyak dipergunakan oleh petani dalam mengendalikan hama-hama tertentu. Insektisida yang dijual dipasaran juga banyak yang mengandung bahan aktif bakteri salah satunya yang paling banyak dipergunakan adalah insektisida yang berbahan aktif bakteri *Bacillus thuringiensis* Var. *aizawai*. *B. thuringiensis* digolongkan dalam famili Bacillaceae, ordo Eubacteriales, kelas *Schizomycetes*. Sifat-sifat *B. Thuringiensis* adalah gram positif, aerob, tetapi dapat bersifat anaerob fakultatif (Steinhaus, 1975). Bakteri-bakteri tersebut mempunyai sel berbentuk batang dengan ukuran lebar 1 – 1,2 mikron dan panjang 3 – 5 mikron, membentuk endospora, suhu untuk pertumbuhan minimum 10-15°C dan maksimum 40-45°C (Holtz, 1975).

B. thuringiensis membentuk spora yang berbentuk oval, terletak didekat ujung sel, berwarna hijau kebiruan dan berukuran 1-1,3 mikron. Pembentukan spora terjadi dengan cepat pada suhu 35-37°C. Spora ini mengandung asam dipikolinin, yaitu suatu kompleks senyawa Ca dan peptidoglikan. Spora ini relatif tahan terhadap pengaruh fisik dan kimia (Pelczar, 1988).

Pada beberapa larva Lepidoptera yang mempunyai pH saluran makanan di atas 9, spora yang berkecambah tak dapat hidup dan sel vegetatifnya cepat hancur. Namun jika pH saluran turun, bakteri yang bertahan pada spesies tersebut dapat tumbuh dan menginfeksi inang (Burgenjon and Martouret, 1971). Pada Lepidoptera yang mempunyai pH tetap di bawah 9, dan tidak terdapat

penghambat pada saluran pencernaannya, spora berkecambah dan memperbanyak diri dengan kecepatan yang berbeda tergantung spesies inang.

Dalam kondisi tertentu, *B. thuringiensis* mampu membentuk kristal. Kristal tersebut merupakan kompleks protein yang mengandung toksin dan dikenal dengan nama δ -endotoksin (Heimpel, 1963). Kristal protein tersusun dari subunit-subunit protein, berbentuk batang atau *halter*, berukuran sekitar 4,7-11,8 mm dan mempunyai berat molekul sekitar 200.000. Sub unit kristal ini dibangun dari rantai polipeptida yang dihubungkan dengan ikatan kovalen oleh disulfida.

2.8 Tanah yang dapat Menekan Pertumbuhan Patogen

Tanah yang dapat menekan pertumbuhan patogen (*suppressive soil*) merupakan tanah yang terbebas dari patogen penyebab penyakit pada tanah atau jika ada patogen tersebut tidak menyebabkan gangguan yang berarti (Van, 2000). Berkebalikan dengan tanah supresif, tanah kondusif merupakan tanah yang memungkinkan sebagai tempat berkembangnya patogen tanah. Tanah pertanian harus dikondisikan sedemikian rupa agar bisa berubah menjadi tanah supresif yang mendukung pertumbuhan tanaman secara optimal.

Tanah yang bersifat supresif biasanya memiliki ketahanan yang dihasilkan dari adanya peran dari kompleks biota tanah yang bersifat antagonis terhadap patogen tular tanah. Peran antagonis ini sebagai penekan perkembangan patogen atau menghambat infeksi pada tanaman. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang macam antagonis ini dan kecocokannya pada patogen-patogen tertentu pada tanah. Van (2000) menjelaskan bahwa secara fitopatologi tanah sehat adalah tanah yang ketika ditanami tanaman terbebas dari gangguan patogen penyebab penyakit tular tanah sehingga tanaman dapat tumbuh secara optimal sesuai. Tanah yang terbebas gangguan patogen tersebut dapat disebabkan oleh ketidakhadiran patogen dalam tanah atau patogen ada namun tidak dapat berkembang sehingga tidak menimbulkan penyakit yang merugikan secara berarti. Tanah yang terakhir ini disebut juga tanah supresif.

Kerusakan tanaman karena patogen tular tanah dapat diperkecil dengan memanipulasi satu atau lebih komponen yang terlibat dalam timbulnya suatu penyakit, yaitu patogen, tanaman inang, dan mikroorganisme tanah. Faktor yang paling penting dalam pengelolaan penyakit yang disebabkan oleh patogen tular

tanah ini adalah mengurangi tingkat inokulumnya di bawah ambang ekonomi sebelum tanaman yang peka di tanam (Van, 2000).

Tanah supresif adalah tanah yang kaya akan mikroorganisme tanah, sehingga kondusif untuk pertumbuhan tanaman dan dapat menekan perkembangan mikroorganisme patogen (Van, 2000). Tanah supresif diperlukan pada pertanian untuk menghasilkan pertumbuhan tanaman yang optimal. Tanah supresif yang dimaksud dengan kaya akan mikroorganisme tanah adalah mikroorganisme tanah yang bersifat *benefit* atau menguntungkan dan mendukung pertumbuhan tanaman. Tanah yang mengalami kondisi kondusif terhadap patogen tular tanah biasanya mengalami beberapa defisiensi hara. Contohnya kondisi tanah yang mengalami liat tinggi serta kondusif patogen akan mengalami defisiensi unsure hara K (Hidayah dan Djajadi, 2009). Yang dimaksud dengan tanah kondusif adalah tanah dengan kondisi yang memungkinkan untuk pertumbuhan dan perkembangan patogen penyebab penyakit tular tanah, sehingga menyebabkan patogen tular tanah menjadi endemik di suatu lahan.

Jamur patogen tular tanah yaitu jamur yang bersumber dari dalam tanah. Jamur ini umumnya menyebabkan akar tanaman atau umbi menjadi busuk sehingga tanaman mati (Suwahyono, 2010). Contoh jamur patogen tular tanah adalah *Fusarium oxysporum*. Sedangkan contoh bakteri tular tanah seperti *Pseudomonas solanacearum* (*Ralstonia solanacearum*) dan *Erwinia cartovora* subsp. *Cartovora*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di dua lokasi yaitu Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang dan Desa Junggo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu. Penelitian juga dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Unit Bakteriologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan mulai Februari sampai dengan Juni 2014.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu cangkul kecil, penggaris berukuran 30 cm, plastic berukuran 1 kg, kertas A4, bolpoin, kamera digital, tisu, cawan petri, jarum ose, bunsen, LAFC, botol media, tabung Erlenmeyer, mikropipet, kompor, panci berdiameter 15 cm, micro pipet, lemari pendingin, kertas label, korek api, autoklaf, botol berukuran 10 ml.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alcohol 70%, tanaman tomat yang terinfeksi *R. solanacearum*, sampel tanah, akuades, NA (*Natrium Agar*), NB (*Natrium Broth*), spirtus, air, agar, media TZC, media uji Oksidatif-Fermentatif, KOH 3%.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah survei, isolasi bakteri tanah, dan uji antagonis secara *in vitro*. Metode dapat dijelaskan sebagai berikut :

1. Melakukan survei untuk mencari lahan yang ditanami tomat dengan serangan penyakit layu yang endemik dan non-endemik.
2. Mengeksplorasi bakteri tanah yang berasal dari lokasi non-endemik di Desa Junggo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu dan endemik di Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Selanjutnya dilakukan pengamatan jumlah koloni bakteri berdasarkan karakteristik morfologi koloni yang meliputi bentuk koloni, tepi koloni, dan warna koloni. Setelah itu dilanjutkan dengan pengamatan karakteristik fisiologi yang meliputi uji KOH dan uji Oksidatif-Fermentatif.

3. Menguji daya antagonis koloni bakteri berdasarkan morfologi koloni yang diperoleh dari dalam tanah terhadap *R. solanacearum* pada media NA dengan teknik *double layer*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Survei Lahan

Penelitian ini didahului dengan survei lahan-lahan pertanaman tomat yang endemik patogen tular tanah *R. solanacearum* di Dusun Jarakan, Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso. Survei juga dilakukan pada lahan non endemik patogen tular tanah *R. solanacearum* di Desa Junggo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu.

Survei lahan dilakukan dengan mengadakan wawancara dengan pemilik lahan maupun dengan pengelola lahan mengenai sejarah lahan tersebut. Lahan yang endemik patogen selalu memberikan dampak buruk terhadap pertumbuhan tanaman selama musim tanam, misalnya infeksi patogen yang menyeluruh hingga mengakibatkan gagal panen. Sebaliknya, lahan non endemik bersifat lebih mampu menekan pertumbuhan patogen, karena lahan tersebut diduga memiliki keanekaragaman biota tanah yang tinggi, sehingga dapat menekan pertumbuhan patogen tertentu (Van, 2000). Kegiatan wawancara yang dilakukan meliputi sejarah lahan, pengolahan tanah, pengairan, penggunaan pestisida, pembibitan, varietas yang digunakan, dan perawatan tanaman. Hasil wawancara terlampir (lampiran 1).

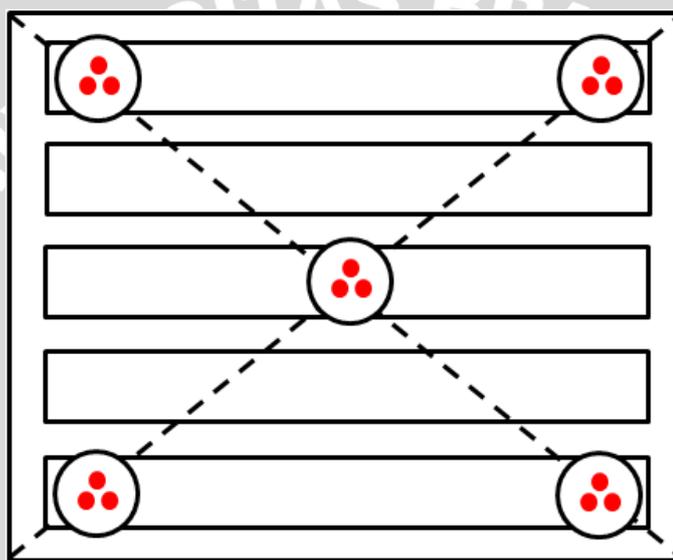
Selain wawancara, survei lahan juga dilaksanakan dengan menghitung Indeks Penyakit (IP) yang ada pada lahan pertanaman tomat. Penghitungan dilakukan dengan menghitung tanaman yang memiliki gejala infeksi *R. solanacearum* dan jumlah seluruh tanaman. Setelah melakukan pendataan jumlah tanaman yang sakit dan jumlah tanaman keseluruhan, maka dilakukan penghitungan Intensitas Serangan Penyakit (IP) dengan rumus :

$$IP = \frac{a}{a + b} \times 100\%$$

Keterangan :

- IP : Intensitas Penyakit
- a : Jumlah tanaman sakit
- b : Jumlah tanaman sehat

Setelah didapatkan lahan yang akan diteliti, dilakukan pengambilan sampel tanah pada kedua lahan (endemik dan non-endemik) untuk melakukan kegiatan isolasi bakteri di laboratorium. Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan menggunakan metode sampling diagonal lima titik. Setiap titik diambil tiga sub titik lalu dikompositkan sehingga ada lima sampel tanah (Gambar 7). Tanah diambil dengan kedalaman 20 cm menggunakan cetok, kemudian diletakkan di dalam ember plastik berdiameter 25 cm dan dikompositkan. Tanah yang sudah dikompositkan kemudian dibersihkan dari sisa-sisa tanaman baik akar tanaman, daun, batang, maupun kotoran-kotoran lain (Balittanah, 2004).



Gambar 7 Metode sampling tanah komposit secara diagonal untuk pengambilan sampel tanah

3.4.2 Isolasi Bakteri Tanah

3.4.2.1 Isolasi Bakteri Tanah di Laboratorium

Isolasi bakteri dilakukan pada masing-masing lima sampel tanah yang berasal dari Desa Junggo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu dan Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang di lahan pertanaman tomat. Sampel tanah diambil sebanyak 1 gram, selanjutnya diberi akuades steril sebanyak 10 ml untuk pengenceran 10^0 . Larutan sampel tersebut dikocok selama 2-3 menit untuk menghomogenkan. Selanjutnya larutan sampel diambil 1 ml lalu ditambahkan akuades steril sebanyak 9 ml hingga pengenceran mencapai 10^{-9} .

Setelah pengenceran, bakteri tanah diisolasi menggunakan metode *spread plate* atau cawan sebar dengan mengambil larutan sebanyak 0,1 ml menggunakan *micro pipet* kemudian diteteskan pada media NA yang sudah padat dan diratakan menggunakan stik L. Selanjutnya cawan petri dilapisi plastik *wrapping* untuk mencegah kontaminasi. Inkubasi patogen selama 1-2 hari kemudian dihitung koloni bakteri yang tumbuh, dilanjutkan dengan pemindahan koloni yang berbeda. Pemindahan koloni dilakukan dengan memilih koloni yang berbeda berdasarkan karakteristik morfologi menggunakan jarum ose dari satu koloni yang tumbuh ke media NA yang baru dengan metode *streak* atau gores (Baharuddin, 1997). Jika koloni yang berbeda telah dipindahkan ke media NA baru, dilakukan inkubasi selama 1x24 jam hingga muncul koloni.

3.4.2.3 Karakterisasi Koloni Bakteri

Pengamatan karakteristik morfologi koloni dilakukan setelah koloni bakteri yang berasal dari dalam tanah tumbuh di media. Pengamatan karakteristik morfologi meliputi bentuk koloni, tepi koloni, warna koloni, dan elevasi koloni. Selanjutnya dilakukan karakterisasi fisiologi yang meliputi uji KOH uji Oksidatif-Fermentatif (Schaad *et al.*, 2001).

3.4.2.4 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan dilakukan dengan menghitung Indeks Keanekaragaman bakteri tanah endemik dan non endemik penyakit layu bakteri berdasarkan morfologi koloni bakteri untuk perbandingan. Indeks Keanekaragaman dapat dihitung dengan persamaan yang dikemukakan oleh Shannon (Krebs, 1978) sebagai berikut :

$$H' = - \sum \left(\frac{n_i}{N} \right) + \ln \left(\frac{n_i}{N} \right)$$

Keterangan :

H' : Indeks Keanekaragaman

N_i : Jumlah individu setiap jenis

N : Jumlah individu seluruh jenis

Apabila hasil menunjukkan $H' < 1$, maka keanekaragaman termasuk dalam kategori rendah. Apabila hasil menunjukkan $1 < H' < 3$ maka

keanekaragaman termasuk dalam kategori sedang, dan apabila hasil menunjukkan $H' > 3$ maka keanekaragaman termasuk dalam kategori tinggi.

3.4.3 Uji Antagonis secara *In Vitro*

3.4.3.1 Bakteri patogen *R. solanacearum*

Sebelum kegiatan isolasi dilakukan, terlebih dahulu dilakukan pengambilan sampel tanaman sakit di lahan. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengamati gejala infeksi *R. solanacearum* pada pangkal batang tomat kemudian memotongnya dengan pisau. Potongan sampel tanaman sakit tersebut kemudian dimasukkan ke dalam plastik yang telah diberi tisu basah. Apabila batang dipotong melintang terdapat warna gelap, kemudian bila dimasukkan dalam air terdapat lendir-lendir berwarna putih, tanaman tersebut telah terinfeksi *R. solanacearum*. Selain itu, dapat dilakukan dengan menekan batang bagian bawah, apabila keluar lendir berwarna keruh maka tanaman tersebut terserang *R. solanacearum* (Rukmana, 1997).

Sampel tanaman sakit yang diperoleh dari lapang dipotong-potong 1-2 cm. Potongan-potongan sampel tanaman sakit tersebut disterilkan permukaannya menggunakan alkohol 70%, dan akuades steril. Selanjutnya, sampel yang sudah disterilisasi permukaan dikering anginkan di atas tisu steril kemudian dilakukan penanaman sampel pada media NA. Inkubasi dilakukan selama 1x24 jam hingga muncul bakteri kemudian dilakukan pemindahan bakteri dengan metode *streak* pada media NA yang baru dan diinkubasi lagi selama 1x24 jam. Setelah muncul koloni tunggal diamati warna dan bentuknya lalu dipindahkan pada media TZC yang bersifat semi selektif terhadap *R. solanacearum*.

3.4.3.2 Identifikasi Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Kultur murni dari biakan bakteri yang diperoleh kemudian diidentifikasi secara bertahap berdasarkan Schaad *et al* (2001) meliputi uji patogenisitas, uji KOH, uji Oksidatif Fermentatif, uji pigmen fluorescen, uji hipersensitif, dan uji ketahanan suhu, uji koloni kuning pada media YDC.

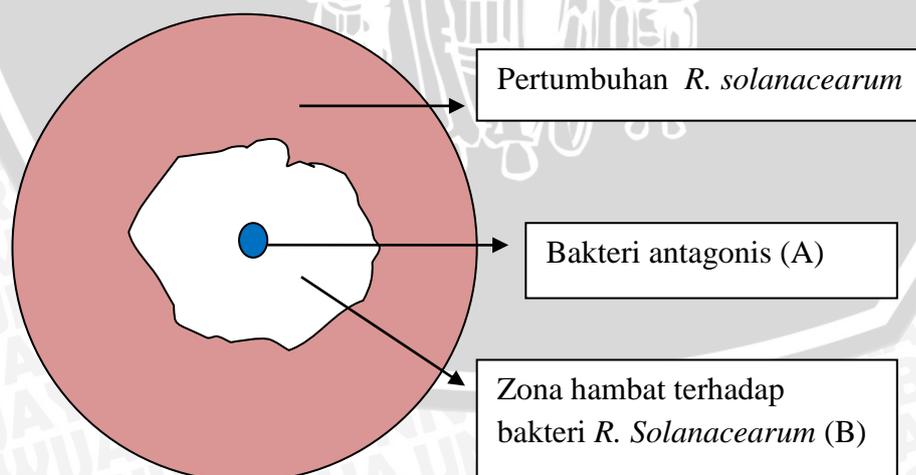
3.4.3.3 Perbanyakkan Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Setelah didapatkan kultur murni *R. solanacearum*, maka segera dilakukan perbanyakkan. Kultur *R. solanacearum* dapat diperbanyak di media cair *Natrium Broth* dengan cara mengambil koloni tunggal bakteri patogen menggunakan jarum

ose lalu mencelupkannya pada media. Selanjutnya, dilakukan *shacker* untuk mempercepat proses perbanyakan kemudian media disimpan dengan keadaan botol penyimpanan bakteri patogen harus tertutup rapat agar tidak terjadi kontaminasi mikroorganisme lain. Botol dapat ditutup dengan kapas, kemudian dilapisi *aluminium foil*, dan dirapatkan menggunakan plastik *wrapping*.

3.4.3.4 Uji Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Uji antagonis menggunakan metode *double layer* pada media NA di cawan petri. Bakteri tanah yang telah diinkubasi selama 1x24 jam dibuat suspensi 10^9 CFU/ml menggunakan akuades steril pada tabung *ependorf*. Selanjutnya kertas cakram berdiameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi tersebut selama 1-2 menit menggunakan pinset. Setelah 1-2 menit kertas cakram diambil menggunakan pinset dan ditiriskan di atas tisu steril selama 1-2 jam. Kertas cakram yang sudah kering ditanam pada media NA di cawan petri sebanyak 4 titik biakan kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 1-2 hari. Setelah diinkubasi, ditambahkan suspensi *R. solanacearum* 10^9 CFU/ml sebanyak 1 ml yang berumur 1-24 jam dicampur dengan 10 ml NA yang masih berbentuk cair. Suspensi tersebut dituangkan di atas biakan bakteri antagonis sehingga membentuk dua lapisan (*double layer*). Hasil *double layer* tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 3x24 jam. Pengamatan didasarkan pada luas zona penghambatan yang terbentuk (Gambar 8).



Gambar 8 Simulasi bentuk penghambatan bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum*

3.4.3.5 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan merupakan variabel kualitatif digunakan sebagai bukti efektivitas bakteri tanah dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*. Pengamatan dilakukan dengan mengamati luas zona hambat atau zona bening yang ditimbulkan bakteri tanah terhadap *R. solanacearum* menggunakan jangka sorong setelah 3 hari. Selanjutnya dilakukan dokumentasi luas zona bening yang ditimbulkan. Indeks zona hambat atau zona bening dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$I = \frac{B - A}{B}$$

Keterangan :

- I : Indeks zona bening
- A : Diameter bakteri antagonis
- B : Diameter zona hambat

