



Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

BAB 1

PENDAHULUAN UMUM

Latar Belakang

Proteksi tanaman modern sangat bergantung pada penggunaan bahan kimia untuk mengatasi hama dan penyakit (Cook *et al.* 1996). Akan tetapi, meningkatnya perhatian terhadap kesehatan dan kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh penggunaan bahan kimia untuk pertanian meningkatkan kebutuhan yang lebih besar terhadap pertanian yang berkelanjutan. Tanah yang menekan penyakit (*disease suppressive soil*) adalah tanah yang mampu menekan fitopatogen untuk bertahan lebih lama, atau fitopatogen ada tetapi gagal untuk menginduksi gejala penyakit yang parah pada tanaman budidaya yang rentan terhadap patogen (Schroth & Hancock 1982). Meskipun jarang, fenomena ini telah diketahui dengan baik dan bukti-bukti yang kuat menunjukkan bahwa penekanan penyakit merupakan hasil dari keberadaan rizobakteria antagonis. Mekanisme bakteri antagonis rizosfer memediasi terjadinya penekanan penyakit telah diteliti secara luas (Cook & Baker 1996; Bloemberg & Lugtenberg 2001; Raas & Keel 2003).

Penyakit busuk kecambah, busuk akar oleh *Rhizoctonia solani*, hawar batang dan layu oleh *Sclerotium rolfsii* masih disebut sebagai penyakit utama tanaman kedelai di Indonesia, selain penyakit karat karena *Phakospora pachyrhizi*, penyakit pustul bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv *glycines*, penyakit antraknosa *Colletotrichum dematium* var *truncatum* dan *C. destructivum* atau penyakit karena mosaik virus (Puslitbang Tanaman Pangan 2009; Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Sumatera Utara 2009). Wrather *et al.* (2001) menyatakan bahwa penyakit busuk kecambah karena *Rhizoctonia* dan *Fusarium* spp., busuk akar karena *Fusarium* spp dan hawar batang karena *S. rolfsii* merupakan penyakit yang menyebabkan kehilangan panen kedelai yang cukup besar yaitu sekitar 12.5 ribu ton dari total kehilangan panen karena penyakit yang selanjutnya 147.5 ribu ton di Indonesia pada tahun 1998. Kehilangan panen kedelai terbesar di Indonesia disebabkan karena penyakit karat sebesar 60 ribu ton dan mosaik virus 50 ribu ton. Kehilangan panen karena penyakit virus cenderung



meningkat dari waktu ke waktu, tetapi kehilangan panen karena penyakit lain tidak berubah. Berdasarkan luas daerah penyebaran dan tingkat serangan dapat dikemukakan bahwa karat daun, bercak daun, *downy mildew*, bakteri pustul dan *S. rolfii* berstatus penting. Cendawan tular tanah *R. solani* juga masih menunjukkan intensitas serangan 15.5% dari total serangan penyakit (Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian 2005).

Pengendalian penyakit tanaman kedelai diperlukan untuk memberikan pencegahan kehilangan panen. Pengendalian penyakit yang dilakukan di Indonesia terutama adalah pengendalian penyakit karat daun dengan fungisida Mancozeb (Dithane 45), penyakit busuk batang dan akar menggunakan jamur antagonis *Trichoderma harzianum*, sedangkan pengendalian virus dengan mengendalikan vektornya yaitu serangga hama kutu dengan insektisida Decis (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Sumatera Utara 2009; Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian 2011). Di beberapa negara lain seperti di Amerika dan Brazil, untuk melindungi biji dan kecambah kedelai terhadap serangan *Rhizoctonia* dan *Fusarium* dilakukan dengan menggunakan fungisida. Produk yang mengandung *carboxin*, *pentachloronitrobenzene* (PCNB) atau *fludioxonil*, seperti ApronMaxx, Delta-Coat AD, Maxim 4FS atau berbagai produk Vitavax, dapat melindungi biji dan kecambah terhadap *Rhizoctonia* (Bradley 2003). Beberapa fungisida yang mengandung bahan aktif *carbendazim* dan *carboxin* serta *thiram* direkomendasikan sebagai perlakuan benih kedelai untuk mengurangi patogen biji dan juga serangan patogen tanah seperti *R. solani* dan *Fusarium* spp., terutama pada kondisi kering yang dapat memperlambat munculnya kecambah. Patogen tersebut dapat mengurangi populasi tanaman (Embry 2008).

Perlakuan biji kedelai dengan fungisida dapat digunakan untuk melindungi infeksi beberapa cendawan patogen terhadap kecambah, memperbaiki populasi tanaman dan mengurangi penyebaran penyakit yang terbawa biji. Akan tetapi, fungisida untuk perlakuan benih pada kedelai mempunyai efek negatif terhadap inokulan *Rhizobium*. Sebagian besar fungisida mengurangi viabilitas *Rhizobium* (Fox *et al.* 2009). Fungisida Captan dan PCNB mengurangi daya hidup *Rhizobium* dan mengurangi nodulasi pada biji yang diperlakukan dibandingkan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



dengan biji yang diinokulasi *Rhizobium* tanpa perlakuan fungisida (Bradley 2003). Fungisida *carbendazim* yang ditambah *thiram* dan *carboxin* yang ditambah *thiram*, keduanya mengurangi nodulasi oleh *Bradyrhizobium elkanii*. Fungisida *carbendazim* dengan *thiram* mengurangi nodulasi sekitar 50% dan panen biji lebih dari 20% (sekitar 700 kg/ha), pada perlakuan inokulasi dengan *B. elkanii* galur SEMIA 587 (Zilli *et al.* 2009). Oleh karenanya, perhatian harus diberikan dalam pemakaian fungisida sebagai perlakuan benih pada kedelai. Fungisida dapat menjadi inhibitor potensial dalam nodulasi tanaman kedelai, sebagai akibatnya adalah gangguan perkembangan tanaman dan penurunan hasil panen.

Pseudomonas, *Bacillus* dan *Streptomyces* ialah bakteri yang penting dari komunitas bakteri di rizosfer. Keberadaannya selalu berhubungan dengan tekanan penyakit. Kemampuan kelompok *Pseudomonas* untuk menekan pertumbuhan mikrob patogen tanah tergantung pada kemampuannya untuk menghasilkan antibiotik seperti pioluteorin, pirolnitrin, fenazin (Chin-A-Woeng *et al.* 2003) dan 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) (de Souza *et al.* 2003). Galur dari *Pseudomonas fluorescens* penghasil senyawa anticendawan merupakan agen biokontrol yang penting untuk fitopatogen tular tanah. Beberapa *Pseudomonas* sp. juga menghasilkan hidrogen sianida (Haas & Keel, 2003), senyawa berberat molekul rendah yang disebut siderofor (O'Sullivan & O'Gara 1992; Loper & Henkels 1999) atau enzim kitinase dan glukonase (Saad 2006).

Pioluteorin adalah antibiotik poliketida terklorinasi, dihasilkan oleh rizobakteria *P. fluorescens* Pf-5 (Howel & Stipanovic 1980). Pioluteorin menunjukkan antagonis terhadap *Pythium ultimum* dan mampu menekan penyakit busuk kecambah pada benih tanaman kapas yang disebabkan oleh *P. ultimum*. Sepuluh gen yang terlibat dalam sintesis pioluteorin telah dideskripsikan, terdiri dari delapan gen struktural yaitu *plt*LABCDEFG dan dua gen regulator transkripsi yaitu *pltR* dan *pltM* (Nowak-Thompson *et al.* 1999).

Pirolnitrin [3-chloro-4-(2'-nitro-3'chlorophenyl) pyrrole] dideskripsikan pertama kali pada *Burkholderia pyrrocinia* (Arima *et al.* 1964). Selanjutnya, pirolnitrin ditemukan pada *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Myxococcus* dan *Serratia* (Hammer *et al.* 1997). Pirolnitrin berperan penting dalam aktivitas anticendawan (Hill *et al.* 1994; Raaijmakers *et al.* 2002), juga pada tanah-tanah yang menekan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



penyakit secara alami terhadap *R. solani* (Garbeva *et al.* 2004). Bakteri endofit tanaman tebu penghasil pirolnitrin, *Burkholderia cepacia*, menunjukkan penghambatan terhadap cendawan patogen *Fusarium moniliforme* (Mendes *et al.* 2007). Empat gen yang terlibat dalam biosintesis pirolnitrin *prnABCD* telah dideskripsikan oleh Hammer *et al.* (1997). Fungsi masing-masing produk gen *prnABCD* dijelaskan oleh Kirner *et al.* (1998).

Antibiotik fenazin yang dihasilkan oleh galur biokontrol *P. fluorescens* 2-79 dan *P. aureofaciens* 30-84 merupakan faktor utama dalam kemampuannya menghambat pertumbuhan cendawan patogen akar (Mazzola *et al.* 1992). Hampir semua jenis fenazin mempunyai spektrum luas terhadap berbagai spesies bakteri dan cendawan. Aktivitas ini berhubungan dengan senyawa fenazin yang terlibat dalam transformasi oksidasi-reduksi sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi radikal superoksida yang bersifat racun pada sel target (Hassett *et al.* 1995; Price-Whelan *et al.* 2006). Kelompok gen yang berperan dalam biosintesis fenazin dipaparkan secara lengkap oleh Mavrodi *et al.* (1998). Gen yang berperan dalam biosintesis fenazin pada *P. fluorescens* 2-79 terdiri dari 7 gen yang disebut sebagai *phzA* hingga *phzG*. Produk gen *phzC*, *phzD* dan *phzE* mempunyai kemiripan dengan enzim-enzim dalam metabolisme asam sikimat dan asam korismat dan bersama dengan *phzF* dibutuhkan untuk produksi *phenazine 1 carboxylic acid* (PCA). *PhzG* mirip dengan pirodoksamin-5'-fosfat oksidase dan merupakan sumber kofaktor enzim-enzim untuk sintesis PCA. Produk gen *phzA* dan *phzB* sangat mirip satu dengan yang lain dan diperkirakan terlibat dalam stabilisasi kompleks multienzim untuk sintesis PCA.

Beberapa penelitian telah mendemonstrasikan bahwa beberapa *Pseudomonas* sp. dengan kemampuannya menghasilkan metabolit anticendawan DAPG dapat diisolasi dengan frekuensi yang tinggi dari tanah yang menekan penyakit busuk akar hitam (*black root rot*) pada tanaman tembakau (Keel *et al.* 1992) dan penyakit *take-all* pada tanaman gandum (Raaijmakers *et al.* 1997). Produksi antibiotik DAPG dianggap sebagai metabolit anticendawan yang penting yang berperan sebagai senyawa biokontrol. Gen *phlABCDEF* yang terlibat dalam biosintesis DAPG dari *P. fluorescens* Q2-87 telah diidentifikasi dan dikarakterisasi (Bangera & Thomashow 1999). Gen *phlD* bertanggungjawab

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memungut dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



untuk sintesis *monoacetylphloroglucinol* (MAPG) yang merupakan prekursor DAPG dari asetil-koenzim A.

Ketersediaan gen biosintesis senyawa anticendawan yang telah diklon dan disekuon akan memudahkan untuk mengembangkan *primer* dan *probe*. *Primer* dan *probe* spesifik dapat digunakan untuk mendeteksi adanya *Pseudomonas* spp. penghasil anticendawan (de Souza & Raaijmakers 2003). Dengan bantuan metode molekuler ini dapat mempercepat deteksi galur-galur penghasil senyawa anticendawan yang lebih teradaptasi pada kondisi tanah lokal atau pada sistem tanaman-patogen tertentu (Raaijmakers *et al.* 1997). Oleh karenanya, pengembangan bakteri antagonis yang menghasilkan senyawa anticendawan sebagai agen biokontrol sangat menjanjikan untuk aplikasinya di bidang pertanian. Indonesia, bakteri antagonis dari rizosfer tanaman kedelai asli penghasil senyawa anticendawan belum banyak dilaporkan dan potensinya sebagai agen biokontrol perlu diteliti lebih lanjut. Meskipun tujuan utamanya ialah mendapatkan agen biokontrol, penting juga untuk memahami secara molekuler gen penyandi biosintesis senyawa anticendawan pada *Pseudomonas* sp. Informasi tentang gen yang terlibat dalam biosintesis senyawa anticendawan dapat digunakan untuk mengembangkan sifat-sifat biokontrol secara genetik lebih lanjut atau mentransfer gen penyandi biosintesis senyawa anticendawan ke galur penerima.

Pemilihan kandidat agen biokontrol akan lebih leluasa jika keragaman genetik di antara isolat-isolat bakteri antagonis tinggi. Kelompok bakteri yang mempunyai tingkat keragaman genetik tinggi di dalam populasinya akan lebih banyak variasi untuk dipilih di antaranya yang paling sesuai atau dikembangkan semuanya sekaligus. Lebih jauh lagi, pengetahuan keragaman genetik di antara kelompok bakteri antagonis dapat membantu untuk mengidentifikasi isolat yang mempunyai kemampuan menekan cendawan patogen dan kemampuan menjaga keberadaannya di rizosfer. Hasil penelitian yang menunjukkan sifat-sifat agen biokontrol yang unggul yang dimiliki oleh isolat-isolat *Pseudomonas* sp. dari rizosfer tanaman kedelai diharapkan dapat digunakan untuk melindungi tanaman kedelai dari serangan cendawan patogen tular tanah dan meningkatkan produksi kedelai di Indonesia di masa mendatang.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Sifat lain yang harus dimiliki oleh bakteri biokontrol ialah kemampuannya mengkolonisasi rizosfer. Kemampuan mengkolonisasi rizosfer telah dipertimbangkan sebagai faktor utama yang menentukan efektif dan efisien inokulum bakteri biokontrol untuk mengendalikan penyakit dan peningkatan produksi tanaman (Compant *et al.* 2005). Keberhasilan mengkolonisasi rizosfer dan bertahan hidup oleh bakteri biokontrol telah didemonstrasikan sebagai suatu persyaratan utama jika bakteri tersebut akan diaplikasikan pada tanaman (Chin-A-Woen *et al.* 2000). Kemampuan bakteri mencapai jumlah populasi yang cukup di rizosfer sangat penting dalam memberikan pengaruh sifat-sifat bakteri yang menguntungkan pada kesehatan tanaman.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kandidat agen biokontrol terhadap cendawan patogen tular tanah *Sclerotium rolfii*, *Fusarium oxysporum* atau *Rhizoctonia solani* pada tanaman kedelai. Tujuan penelitian tersebut dicapai melalui 5 tahapan penelitian sebagai berikut:

1. Identifikasi dan penapisan karakter biokontrol isolat-isolat dari rizosfer tanaman kedelai.
2. Analisis keragaman genetik di antara isolat-isolat antagonis terhadap cendawan patogen tular tanah *S. rolfii*, *F. oxysporum* atau *R. solani*.
3. Deteksi dan karakterisasi molekuler gen penyandi senyawa anticendawan pioluteorin, pirolnitrin, fenazin atau 2,4-diasetilfloroglusinol isolat-isolat yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan cendawan patogen tular tanah secara *in vitro*.
4. Uji penekanan penyakit yang disebabkan cendawan patogen tular tanah *S. rolfii*, *F. oxysporum* atau *R. solani* oleh isolat-isolat antagonis *in planta*.
5. Kolonisasi rizosfer oleh isolat-isolat antagonis menggunakan penanda resisten antibiotik rifampisin.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hipotesis

Ditemukan isolat-isolat *Pseudomonas* sp. dari rizosfer tanaman kedelai yang mempunyai karakter biokontrol, menunjukkan keragaman genetik tinggi, terbukti mempunyai gen yang mengkode biosintesis senyawa anticendawan, memberikan penekanan penyakit yang disebabkan cendawan patogen tular tanah *in planta* serta mempunyai kemampuan bertahan dan sifat kompetitif di rizosfer.

Manfaat Penelitian

Tersedia isolat dan informasi mengenai karakter *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai sebagai salah satu kelompok bakteri berpotensi sebagai agen biokontrol terhadap cendawan patogen tular tanah. *Pseudomonas* sp. yang mempunyai karakter biokontrol, menunjukkan penekanan penyakit *in planta*, selanjutnya dapat digunakan atau diaplikasikan sebagai agen hayati untuk menekan penyakit yang disebabkan oleh cendawan patogen tular tanah. Pemakaian agen hayati sebagai biopestisida akan mendukung pertanian yang berkelanjutan.

Novelty / Temuan baru

Penemuan isolat *Pseudomonas* sp. asli dari rizosfer tanaman kedelai bersifat biokontrol terhadap cendawan patogen tular tanah *S. rolfsii*, *F. oxysporum* atau *R. solani* untuk tanaman kedelai. *Pseudomonas* sp. CRB ini mempunyai sifat-sifat biokontrol antara lain adalah antagonis terhadap cendawan patogen tular tanah *in vitro*, menghasilkan siderofor, kitinase atau hidrogen sianida, memberikan penekanan penyakit dengan mengurangi jumlah tanaman yang tergejala *in planta* di tanah steril maupun non steril. Keragaman genetik di antara isolatnya merupakan sumbangan untuk deposit gen di koleksi kultur yang dapat dikembangkan lebih jauh.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

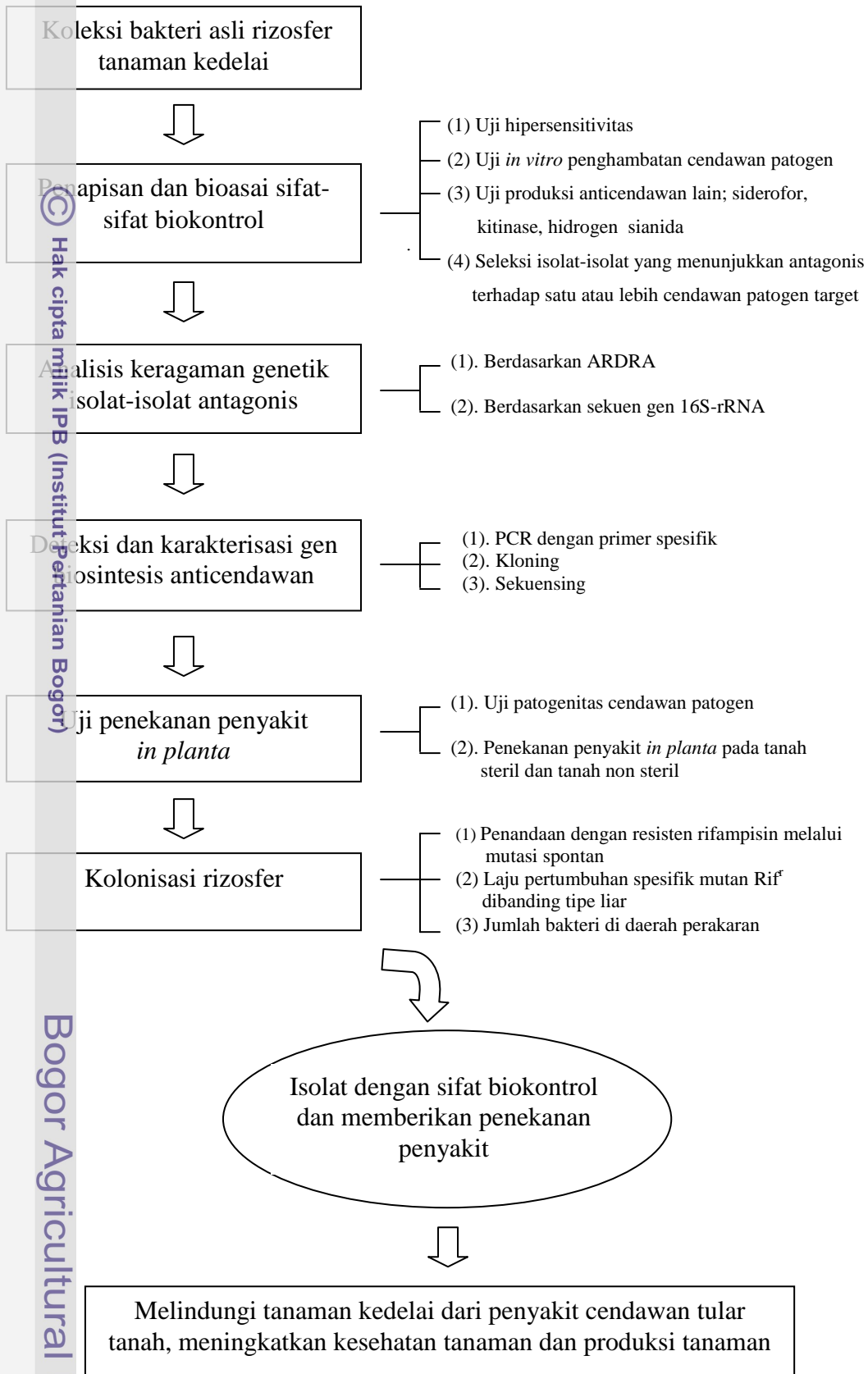
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Kerangka Penelitian

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.