

## Eksplorasi Agens Biokontrol *Phytophthora Palmivora* Penyebab Penyakit Gugur Buah Kelapa

*The Exploration of Phytophthora Palmivora biocontrol agent's causes of causes nutfall diseases*

Asnawi<sup>1</sup>, Rida Iswati<sup>2</sup>, Hiasinta F. J Motulo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo  
Jl. Jend. Sudirman No. 6 Kota Gorontalo 96128

<sup>2</sup>Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo  
Jl. Jend. Sudirman No. 6 Kota Gorontalo 96128

✉ : [rida.iswati@ung.ac.id](mailto:rida.iswati@ung.ac.id)

<sup>3</sup>Peneliti pada Balitka Litbang Pertanian Kementerian Pertanian RI  
Kecamatan Mapanget Kota Manado, Sulawesi Utara

Diterima 12 April 2012/Disetujui 25 Juli 2012

### ABSTRACT

The research aims to obtain isolates from rhizosphere biocontrol agents that can inhibit the development coconut pathogen *P. palmivora* causes nutfall disease. The experiment was conducted in the laboratory Phytopathology Manado Palm Research Institute, isolation method with biocontrol agents and test the ability of antagonistic biocontrol agent against pathogenic isolates of *P. palmivora* in vitro. Obtained 30 isolates candidate biocontrol agent consisting of 17 isolates of bacteria and 13 fungal isolates. Of the 30 isolates were obtained six isolates were able to suppress the growth of pathogenic *P. palmivora* with a percentage of the inhibition of BHP2 80.89%, 41.27% BH2P4, TBL1P3 22%, BKN2P1 47.71%, 64.25% and isolates TBL2P3 TontaP3 of 72.66%.

*Keywords: Coconut, exploration, biocontrol agents, P. Palmivora*

### PENDAHULUAN

Penyakit Gugur Buah Kelapa (GBK) merupakan penyakit penting pada pertanaman kelapa di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* (Butl.) yang dapat menyebabkan tanaman mati dan buah gugur. Rata-rata kehilangan hasil mencapai 15-30% setiap tahun (Renard & Darwis, 1992). Bahkan pada serangan berat dapat mencapai 50-70% (Lolong, 2005). Penyakit GBK yang disebabkan *P. palmivora* masih sulit dikendalikan bila patogennya telah menginfeksi jaringan buah tanaman. Beberapa strategi pengendalian telah dilakukan seperti penggunaan pestisida, kultur teknis, dan kultivar yang resisten namun pengendalian tersebut masih belum efektif. Berdasarkan pertimbangan terhadap kualitas lingkungan, keseimbangan ekosistem, kesehatan manusia, serta timbulnya strain/ras patogen baru yang lebih resisten akibat penggunaan peatisida, maka yang sedang dirintis saat ini adalah penggunaan agens biokontrol sebagai pengendali hayati untuk patogen *P. palmivora*.

Usaha penanggulangan penyakit tanaman dengan agens biokontrol mempunyai peluang yang cukup baik karena organismenya telah tersedia di alam dan aktivitasnya dapat distimulasi dengan memodifikasi lingkungan maupun tanaman inang. Selain itu aman terhadap lingkungan, tidak ada efek residu, aplikasinya bersifat berkelanjutan karena yang digunakan organisme hidup yang dapat memperbanyak diri sehingga dapat mengurangi aplikasi yang berulang-ulang, serta kompatibel dengan pengendalian lain (Susanna, 2000).

Mikroorganisme yang bersifat sebagai agens biokontrol dapat hidup di daerah sekitar perakaran (rhizosfer). Rhizosfer adalah bagian dari tanah yang dipengaruhi oleh akar tanaman dan merupakan area yang dapat meningkatkan kegiatan dan jumlah organisme, serta adanya interaksi yang kompleks antara mikroorganisme dan akar (Rao, 1994), dimana terdapat eksudat yang dikeluarkan akar sebagai nutrisi bagi mikroba itu sendiri. Jenis mikroorganisme di rhizosfer sangat melimpah dan jumlahnya berkurang seiring dengan bertambahnya jarak dari akar (Ferfinia, 2010).

Agens biokontrol mampu menekan keberadaan mikroorganisme patogen yang menempati habitat yang sama dengan patogen target seperti *P. palmivora* yang merupakan patogen tular tanah. Peluang terbesar untuk memperoleh agens biokontrol untuk *P. palmivora* adalah dari rhizosfer. Beberapa jenis cendawan dan bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen tular tanah dan berpotensi sebagai agens biokontrol diantaranya adalah *Gliocladium* sp., *Trichoderma* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp. (Kamil *et al.* 2004). *Bacillus* dan *Pseudomonas fluorescens* dapat mengurangi persentase penyakit Layu pada tanaman kentang sebesar 43-71% di laboratorium dan 52-79% di lapangan (Shekhawat *et al.* 1992 dalam Rustam, 2005). *P. fluorescens* dan *P. gladioli* dapat menekan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* sebesar 60-70% pada tomat, dan *Serratia marsecens* strain 90-166 dapat menekan Layu bakteri 85,9-89% (Hartman *et al.* 1992). Kemampuan *Trichoderma* sp. 77,8% dan *Gliocladium* sp., 73,3% dalam mengendalikan Fusarium pisang (Suharjono *et al.* 2004), serta *T. Harzianum* menekan *P. palmivora* sebesar 99% pada tanaman Durian (Sunarwati dan Yoza, 2010). Berdasarkan hal tersebut maka usaha eksplorasi dari rhizosfer tanaman kelapa penting dilakukan untuk mendapatkan agens biokontrol yang paling berpotensi sebagai pengendali hayati *P. palmivora*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Fitopatologi Balai Penelitian Tanaman Palma (Balit Palma) Manado mulai April sampai Juni 2011.

### 1. Eksplorasi dan Isolasi Isolat Agens Biokontrol pada Rhizosfer Kelapa

Sampel tanah komposit dan akar muda pada kedalaman 0-30 cm diambil dari pertanaman kelapa di daerah Bolaang Mongondow, Bolaang Mongondow selatan, dan Minahasa Utara. Satu gram sampel tanah dan akar dalam erlenmeyer berisi 100 ml aquades steril dishaker selama 30 menit dengan kecepatan 150 rpm. Disiapkan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$ . Untuk mendapatkan isolat dari kelompok bakteri *Pseudomonas* spp., dan *Serratia* spp., dari masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml larutan tanah dan ditumbuhkan pada media agar King's B yang telah ditambah dengan antibiotik Ampicillin 50 mg/l media dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Untuk *Bacillus* spp., larutan tanah dipanaskan pada suhu 80 °C selama 30 menit terlebih dahulu kemudian ditumbuhkan pada medium TSA. Untuk cendawan menggunakan media PDA. Dilakukan isolasi berdasarkan warna, bentuk dan elevasi koloninya yang ada sehingga diperoleh isolat murni.

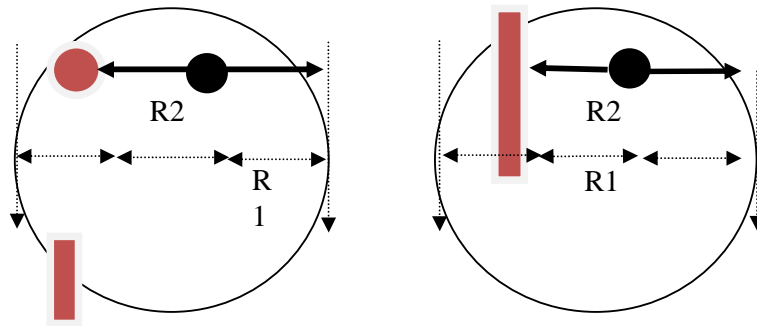
### 2. Uji Kemampuan Antagonis Isolat Agens Biokontrol terhadap *P. palmivora* Secara *In Vitro*

Uji antagonis secara *in vitro* beberapa isolat hasil eksplorasi dilakukan dengan uji isolat ganda (*dual methode*). Isolat *P. palmivora* dari medium V8 berdiameter 0,5 cm diletakkan pada petri berisi PDA dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri berdiameter 9 cm. Begitu juga dengan isolat cendawan calon agens biokontrol diletakkan dengan jarak 3 cm dari tepi berlawanan arah dengan letak patogen *P. palmivora* (Gambar 1a). Untuk bakteri dilakukan dengan cara menggores satu ose isolat memanjang dengan jarak 3 cm dari tepi berlawanan arah dengan letak patogen *P. palmivora* (Gambar 1b). Pengamatan dilakukan selama satu minggu dengan melihat ada tidaknya zona bening diantara koloni isolat calon agens antagonis dan *P. palmivora* tersebut dan menghitung persentase daya hambatnya dengan mengukur jari-jari pertumbuhan dari patogen *P. palmivora* baik yang menjauhi (R1) maupun mendekati (R2) isolat calon agens biokontrol.

Persentase penghambatan pertumbuhan koloni patogen dihitung dengan menggunakan rumus Eliza *et al.* (2007).

$$P = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

dimana: P=Penghambatan (%), R1=Jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi cendawan, dan R2=Jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi isolat bakteri atau cendawan.



Ket: : Isolat calon agens biokontrol (bakteri)  
 : Isolat calon agens biokontrol (cendawan)  
 : Isolat patogen *P. palmivora*

Gambar 1. Skema Pengukuran daya hambat isolat calon agens biokontrol terhadap pertumbuhan *P. palmivora* (a) Bakteri (b) Cendawan

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil eksplorasi agens biokontrol dari berbagai sumber rhizosfer kelapa dipilahkan berdasarkan warna, bentuk dan elevasi koloninya. Diperoleh 30 isolat, 17 isolat dari kelompok bakteri dan dari kelompok cendawan 13 isolat.

Hasil uji antagonis antara ke- 30 isolat dengan patogen *P. palmivora* diperoleh enam isolat berpotensi menekan perkembangan *P. palmivora* (Tabel 1) yaitu dengan cara membentuk zona hambat, memblokir/menguasai tempat tumbuh patogen dan dengan cara lisis. Keenam isolat tersebut terdiri atas empat dari kelompok bakteri yaitu isolat BHP2 dengan persentase daya hambat sebesar 80,89%, BH2P4 41,27%, TBL1P3 22%, BKN2P1 47,71%, dan dua dari kelompok cendawan yaitu isolat TBL2P3 dengan persentase daya hambat 64,25% serta isolat TontaP3 sebesar 72,66%.

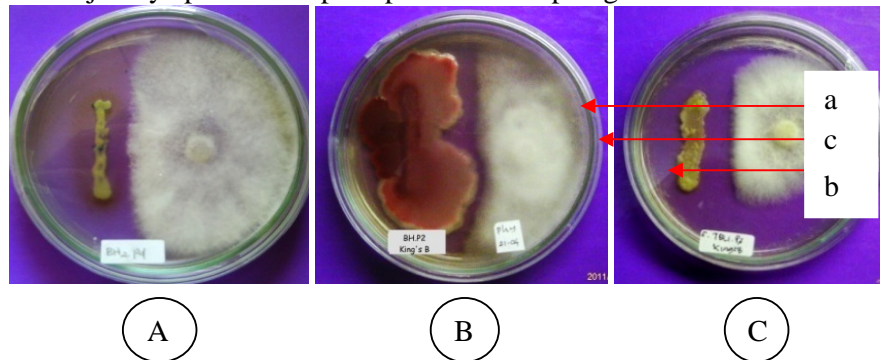
Tabel 1. Antagonisme isolat calon agens biokontrol terhadap *P. palmivora*

Isolat	Penghambatan
TBL1P1	-
TBLP4	-
TBL1P3	+
TBL2P3	+
TBL3P1	-
BHP2	+
BH1P5	-
BH1P4	-
BH2P4	+
BH2P5	-
BH1P6	-
BH2P6	-
BHP3	-
BKN1P1	-
BKN2P5	-
BKN2P1	+
BKNP6	-
BKN1P3	-

Isolat	Penghambatan
BKOP3	-
BKOP4	-
MT3P1	-
MT4P1	-
MT5P1	-
MTP6	-
MTP8	-
MT2P1	-
Tonta P2	-
Tonta P4	-
Tonta P4.2	-
Tonta P3	+

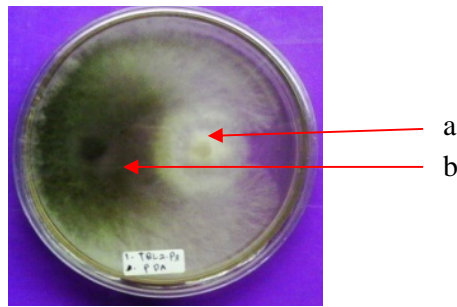
Ket. : + Menghambat; - Tidak menghambat

Terbentuknya zona hambat (Gambar 2) menandakan bahwa calon agens biokontrol tersebut kemungkinan memproduksi suatu senyawa antimikrobia baik berupa enzim, toksin maupun antibiotik. Antibiotik merupakan suatu substansi yang dihasilkan oleh organisme hidup yang dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lainnya (Imas *et al.* 1989 dalam Sariyanto, 2006). Antibiotik digolongkan sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme antagonis dalam jalur metabolisme. Penghambatan calon agens antagonis menunjukkan zona hambat yang jelas seperti yang diungkapkan oleh Maria (2002) bahwa kriteria keefektifan hasil uji antagonisme secara *in vitro* dalam screening dilihat dari terbentuk atau tidaknya zona hambatan, yaitu zona bening di antara patogen dan calon agens antagonis. Adanya rambatan senyawa antibiotik yang dihasilkan agens antagonis menyebabkan terjadinya penekanan pada pertumbuhan patogen.



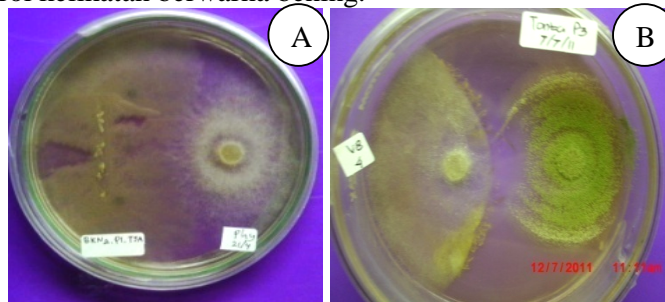
Gambar 2. Antagonisme antara Isolat Agens Biokontrol dengan *P. palmivora* yang membentuk zona hambat. (A). BH2P4,(B). BHP2,(C). TBL1P3, (a)Isolat Agens Biokontrol, (b) *P. palmivora* dan (c) zona bening

Selain itu, ada juga agens biokontrol yang cara penghambatannya dengan memblokir zona tumbuh atau menguasai tempat tumbuh patogen (hiperparasit). Dimana agens biokontrol ini mampu tumbuh lebih cepat dari patogen, sehingga ruang lingkungannya hampir dipenuhi oleh perkembangan agens biokontrol seperti yang terjadi antara isolat TBL2P3 dengan *P. palmivora* (Gambar 3). Jenis mekanisme ini cenderung pada kompetisi terhadap ruang dan makanan. Shehata *et al.* (2008) menyatakan bahwa salah satu sifat mikroba antagonis adalah pertumbuhannya lebih cepat dibanding dengan patogen dan atau menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan patogen.



Gambar 3. Antagonisme hiperparasit antara Isolat Agens Biokontrol TBL2P3 (a) dengan *P. palmivora* (b)

Cara lain agens biokontrol dalam menghambat patogen yaitu dengan lisis. Lisis yaitu miselium dari agens antagonis mampu menghancurkan dan atau memotong-motong miselium dari patogen, sehingga pada akhirnya menyebabkan kematian pada patogen tersebut (Gambar 4A). Mekanisme lisis pada hifa patogen ditandai dengan berubahnya warna hifa patogen menjadi jernih dan kosong karena isi sel dimanfaatkan oleh agen biokontrol sebagai nutrisi serta kemampuan agens biokontrol menghasilkan enzim yang dapat melisiskan dinding sel patogen dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Sunarwati dan Yoza, 2010). Pada isolat TontaP3 (Gambar 4B) mekanisme hambatan yang terjadi kemungkinan karena lisis atau antibiotik atau bahkan bisa jadi perpaduan dari keduanya. Hal ini terlihat dari patogen *P. palmivora* yang tampak condong menjauhi agens biokontrol dan miselium yang berdekatan dengan agens biokontrol kelihatan berwarna bening.



Gambar 4. Antagonisme antara Isolat Agens Biokontrol dengan *P. palmivora* dengan cara Lysis atau Antibiotik (A). BKN2P1, (B). TontaP3

Senyawa antifungal yang dihasilkan oleh bakteri antagonis secara umum mengakibatkan terjadinya pertumbuhan hifa yang abnormal atau malformasi (Eliza et al. 2007). Selanjutnya Diniyah (2010) menyatakan mekanisme kerja senyawa antimikroba dalam melawan mikroorganisme patogen dengan cara merusak dinding sel, mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis sel mikoba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein dan asam nukleat sel mikroba.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolasi isolat agens biokontrol dari Rhizosfer kelapa diperoleh 30 isolat yang terdiri dari 17 bakteri dan 13 cendawan. Dari ke-30 isoat tersebut diperoleh enam isolat yang berpotensi memiliki kemampuan menekan perkembangan patogen *P. palmivora* yaitu isolat BHP2, BH2P4, TBL1P3, TBL2P3, BKN2P1 dan TontaP3.

## DAFTAR PUSTAKA

- Diniyah, S. 2010. Potensi Isolat Bakteri Endofit sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan Jamur (*Fusarium* sp. dan *Phytophthora infestans*) Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman. Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang (UIN). Malang. (Publikasi)
- Eliza, A. Munif, I. Djatnika, dan Widodo. 2007. Karakter Fisiologis dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Pisang. J. Hort. Vol. 17 No. 2, 2007. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Faperta, IPB
- Ferfinia, A. 2010. Eksplorasi Bakteri dan Cendawan Rizosfer yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Basah pada Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) Di Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor. Skripsi. Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian. IPB, Bogor (Publikasi)
- Hartman GL, Wong WF, Hanudin, Hayward AC,. 1992. Potential Of Biological and Chemical Control Of Bacterial Wilt. Di Dalam : Hartman GTL., Hayward AC, Editor: Bacterial Wilt. Canberra. ACIAR. Hal. 232-237
- Kamil, MJA., S. Sharifuddin dan C. L. Bong. 2004. Biological Control of Black Pod Disease on Cocoa in Malaysia. Dalam Andre D. dan David I G., (Eds) Managing Phytophthora Diseases. Diversity and Management of Phytophthora in Southeast in Asia. ACIAR Monograph 114
- Lolong, AA. 2005. Biology *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler Penyebab Penyakit Busuk Pucuk dan Gugur Buah Kelapa. Monograf Hama dan Penyakit Kelapa. Balitka. Manado. Hal 101-107
- Maria, PD. 2002. Eksplorasi dan uji antagonisme bakteri rhizosfer tanah dan endofit akar untuk pengendalian penyakit layu (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) pada pisang (*Musa paradisiaca*). Skripsi. HPT. Fakultas Pertanian. IPB
- Rao, NSS. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Universitas Indonesia (UI Press). Jakarta
- Renald, JL and Darwin, SN. 1992. Report On The *Coconut Phytophthora* Deasease Seminar. *Coconut Phytophthora Workshop Proc.* Manado 26-30 Oktober 1992. Hal. 9-12
- Rustam. 2005. Pengendalian Penyakit Darah pada Tanaman Pisang dengan Bakteri Antagonis. Tesis. IPB. Bogor. (Publikasi)
- Sariyanto, N. 2006. Eksplorasi Agens Antagonis yang Berpotensi Menekan Penyakit Layu *Fusarium* pada pisang. Skripsi. IPB. Bogor (Publikasi)
- Shehata, Fawzy, S dan Borollosy, AM. 2008. Induction of Resistance Against Zucchini yellow Mosaic Potyvirus and Growth Enhancement of Squash Plants Using Some Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2: 174-182.
- Sunarwati, D. dan R. Yoza. 2010. Kemampuan *Trichoderma* dan *Penicillium* dalam Menghambat Pertumbuhan Cendawan Penyebab Penyakit Busuk Akar Durian (*Phytophthora palmivora*) Secara *In Vitro*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Seminar Nasional Program dan Strategi Pengembangan Buah Nusantara. Solok, 10 Nopember 2010. Hal. 176-189
- Susanna. 2000. Analisis Introduksi Mikroorganisme Antagonis Untuk Pengendalian Hayati Penyakit Layu (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) pada Pisang (*Musa sapientum* L.). Tesis. IPB. Bogor (Publikasi).