

ISOLASI BAKTERI *Ralstonia solanacearum* PENYEBAB PENYAKIT LAYU TANAMAN TOMAT YANG DITUMBUHKAN SECARA *IN-VITRO*

Y Marsuni

Program Studi Proteksi Tanaman
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat
Jl. Jend A. Yani Km.36 Simpang Empat Banjarbaru 70714
*email:yusriadimarsuni@ulm.ac.id

ABSTRAK

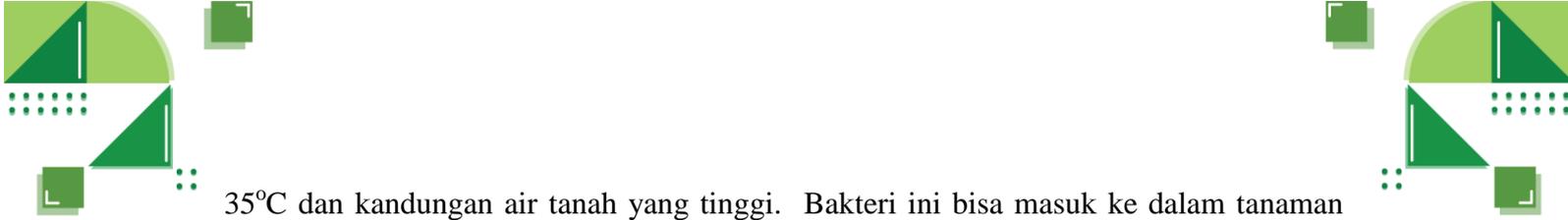
Bakteri *Ralstonia solanacearum* adalah bakteri yang menyebabkan tanaman tomat mati secara mendadak, meluas dan merata pada satu areal pertanaman tomat. Bakteri ini banyak menyerang tanaman sayuran lainnya dan mempunyai banyak inang, dengan pertumbuhan yang sangat cepat. Kelompok bakteri ini sangat berbahaya, mudah menular serta menyebabkan kegagalan panen. Isolasi bakteri ini sangat mudah sekali dengan merendam bagian akar tanaman yang terserang kedalam air steril. Ose bakteri yang dikeluarkan tersebut ditumbuhkan pada media Nutrien Agar (NA) selanjutnya ditumbuhkan pada media khusus Tetrazolium clorida (TZC). Tujuan penelitian ingin mengisolasi dan mengetahui laju pertumbuhan bakteri yang ditumbuhkan pada media agar yang mengandung Tetrazolium Chloride (TZC), yang memperlihatkan warna kemerahan. Metode penelitian yaitu metode isolasi pahogen dari tanaman tomat yang terserang bakteri ini pada tingkat lebih dari 75%, kemudian dilanjutkan dengan inokulasi pada media agar (NA), selanjutnya pada media TZC untuk mengetahui perbedaan bentuk dan penampilannya secara visual, selanjutnya dilakukan pengujian gram. Hasil penelitian memperlihatkan isolasi bakteri *R. solanacearum* yang sangat banyak dan cepat pada media agar yang ditambahkan TZC dan uji gram hasilnya gram negative. Kesimpulan bakteri *R. solanacearum* termasuk bakteri yang cepat pertumbuhannya dan cepat juga terjadi penularannya ke tanaman yang ada disekitarnya.

Kata kunci : Bakteri layu, Isolasi, *R. solanacearum*

PENDAHULUAN

Salah satu penyebab penyakit layu yang banyak menyerang tanaman sayuran dan hortikultura, terutama tanaman tomat adalah bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*. Penyakit layu bakteri ini dapat menyerang tanaman tomat di mana saja baik di dataran tinggi maupun dataran rendah yang keadaan tanahnya tergenang air, suhu tanah tinggi dan keadaan udara lembab. Tanaman tomat yang terserang penyakit layu, apabila tidak mati hanya akan berbuah sedikit dan kecil, dan bahkan apabila serangan terjadi pada waktu tanaman sedang berbunga atau sebelumnya tanaman tidak mampu berbuah sama sekali (Departemen Pertanian 1984).

Patogen menyerang jaringan pengangkut air sehingga mengganggu transportasi air tomat. Akibatnya tanaman tomat menjadi layu, kering dan kerdil. Penyakit layu bakteri menyerang tanaman tomat mulai dari persemaian karena bakteri ini dapat hidup di dalam tanah selama beberapa bulan sampai beberapa tahun, dengan temperatur 21 -



35°C dan kandungan air tanah yang tinggi. Bakteri ini bisa masuk ke dalam tanaman lain yang masih sehat melalui aliran air, pengemburan tanah, dan pemindahan tanaman (Champoiseau, Jones, and Allen, 2009).

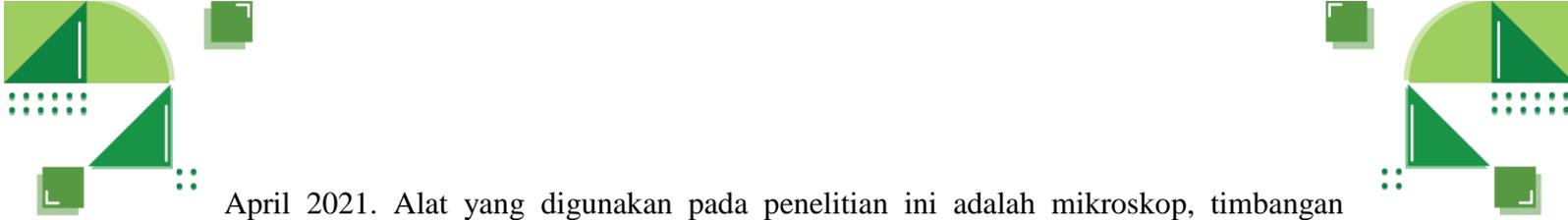
Di Indonesia penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* adalah penyakit yang sangat merugikan pertanaman tomat, kentang, kacang tanah, dan pisang (Semangun 1994). Secara umum penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* ini merupakan salah satu kendala utama dalam produksi hampir semua jenis tanaman baik di daerah beriklim tropis maupun beriklim sedang. Diperkirakan ada 50 famili tanaman antara lain Solanaceae, Musaceae, Asteraceae, Fabaceae, termasuk famili pohon hutan, semak belukar dan gulma (Denny and Hayward 2001), yang terdiri atas 300-400 spesies tanaman menjadi inang utama dan lainnya merupakan inang alternatif (Fikri, 2005).

Isolasi bakteri ini sangat mudah sekali untuk dilakukan dan mendapatkannya apabila ditemukan tanaman yang bergejala layu secara keseluruhan tanaman. Gejala gejala yang muncul dan diperlihatkan pada tanaman tomat sangat mencirikan kekhasan tersendiri, yaitu tanaman yang terserang memperlihatkan gejala layu mendadak secara keseluruhan pada areal yang luas (Hersanti, Rupendi, Purnama, Hanudin, Marwoto, dan Gunawan, 2009). Bakteri ini mudah ditumbuhkan pada media nutrient Agara (NA) dan selanjutnya ditumbuhkan pada media khusus yang akan memperlihatkan bentuk bulat dengan tengahnya berwarna merah. Setelah dimurnikan dan didapatkan koloni tunggal maka akan mudah untuk melakukan identifikasinya, bakteri ini bersifat gram negative dengan tepi koloni yang bergerigi. Tujuan penelitian ingin mengisolasi dan mengetahui laju pertumbuhan bakteri yang ditumbuhkan pada media agar yang mengandung *Tetrazolium Chloride* (TZC), yang memperlihatkan warna kemerahan. Manfaat penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang kecepatan pertumbuhannya, sehingga dapat dilakukan untuk pencegahan dan penghambatan pertumbuhan dan perkembangannya.

Metodologi

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Fitopatogi Jurusan HPT Fakultas Pertanian Universitas Lambung mangkuar Banjarbaru, dari bulan Nopember sampai dengan Desember 2020, kemudian dilanjutkan lagi dari bulan Februari sampai dengan



April 2021. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop, timbangan analitik, jarum ose, jarum ent, botol kaca, autoclave, oven, LAF, cawan petri, erlenmeyer, gelas beaker, pinset, lampu bunsen, *slideglass*, *coverglass*, saringan, gunting, hot plate, segitiga perata, mikropipet, tabung reaksi, dan kamera.

Pelaksanaan Penelitian

Survey Lapangan

Survey dan pengambilan sample tanaman sakit yang ciri cirinya terserang bakteri layu, dilanjutkan penghitungan intensitas serangannya dan isolasi bakteri penyebabnya, selanjutnya ditumbuhkan pada media Nutrien Agar dan Media Khusus *Tetrazolium Chloride* (TZC) (Yusriadi, Abadi, Djauhari, and Halim. 2017)

Isolasi *R. solanacearum*

Isolasi dan pembiakan bakteri *R. solanacearum* dari sampel tanaman tomat bergejala layu pada daun muda, daun tua menguning, buahnya kecil serta pada batang tanaman terdapat banyak akar adventif. Sampel tanaman tomat kemudian dicabut dan pada bagian perakaran dibersihkan kemudian dipotong dan dimasukkan ke dalam aquades untuk memperoleh ooze (massa bakteri) (Nasrun, Christanti, Arwiyanto, dan Ika, 2007). Potong bagian pangkal batang, rendam dengan air steril hingga terlihat ose bakteri. Celupkan jarum ose steril kedalam air ose bakteri lalu goreskan pada media TZC. Inkubasi selama \pm 24-48 jam dan murnikan. Setelah dimurnikan maka selanjutnya ditumbuhkan pada media Nutrien Agar yang mendapatkan koloni tunggal, dengan melihat ciri khusus bakteri *R. solanacearum* yaitu berbentuk bulat cembung, pinggir rata, berwarna putih susu kebasah-basahan, dan bagian tengah berwarna merah muda sampai merah (Nawangsih, 2006), maka segera dilakukan uji pertumbuhan pada cawan petri yang sudah disiapkan berisi media steril TZC, selanjutnya lakukan pengujian gram menggunakan KOH 3%.

Perbanyakkan *R. solanacearum* pada cawan petri

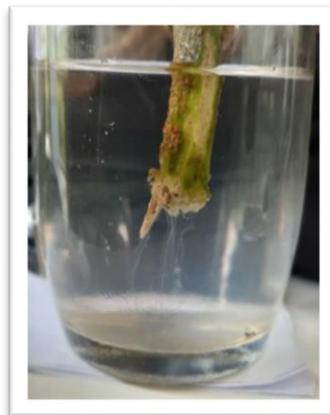
Perbanyakkan koloni bakteri yang sudah didapatkan pada cawan petri dengan media NA, selanjutnya dilakukan perbanyakkan untuk mendapatkan koloni tunggal

untuk melakukan pengujian kecepatan pertumbuhan. Sebanyak 10 cawan petri yang berisi media TZC dipersiapkan untuk uji pertumbuhan tersebut.

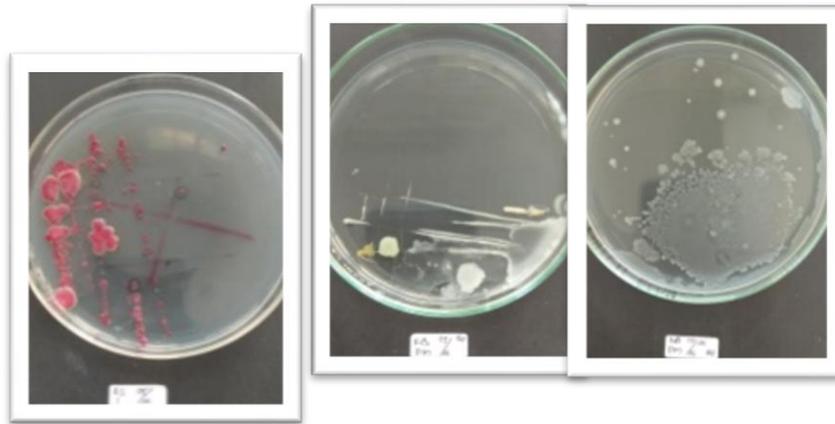
Lakukan inokulasi pada cawan-cawan tersebut pada media dengan metode spread, supaya didapatkan pertumbuhan yang menyebar dan merata pada permukaan media pertumbuhan. Dari pertumbuhan tersebut akan dilakukan pengamatan dari 12 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah dilakukan inokulasi.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengambilan sample dari tanaman tomat yang terserang layu, maka ditumbuhkan pada media air steril dan akan mengeluarkan ooze bakteri yang sangat banyak sekali. Akan terlihat kucuran dari ooze tersebut keluar dari pangkal batang yang sudah dipotong tersebut. Ooze keluar dan bercampur dengan air steril, sehingga akan menjadi lebih encer untuk memudahkan pertumbuhan pada media NA. Seperti terlihat pada gambar 1.



Gambar 1. Ooze bakteri yang keluar dari pangkal batang tanaman Tomat
Setelah dilakukan pertumbuhan yang terlihat pada media NA, maka dihasilkan pertumbuhan yang bervariasi, sehingga dapat memperlihatkan seperti gambar 2. berikut



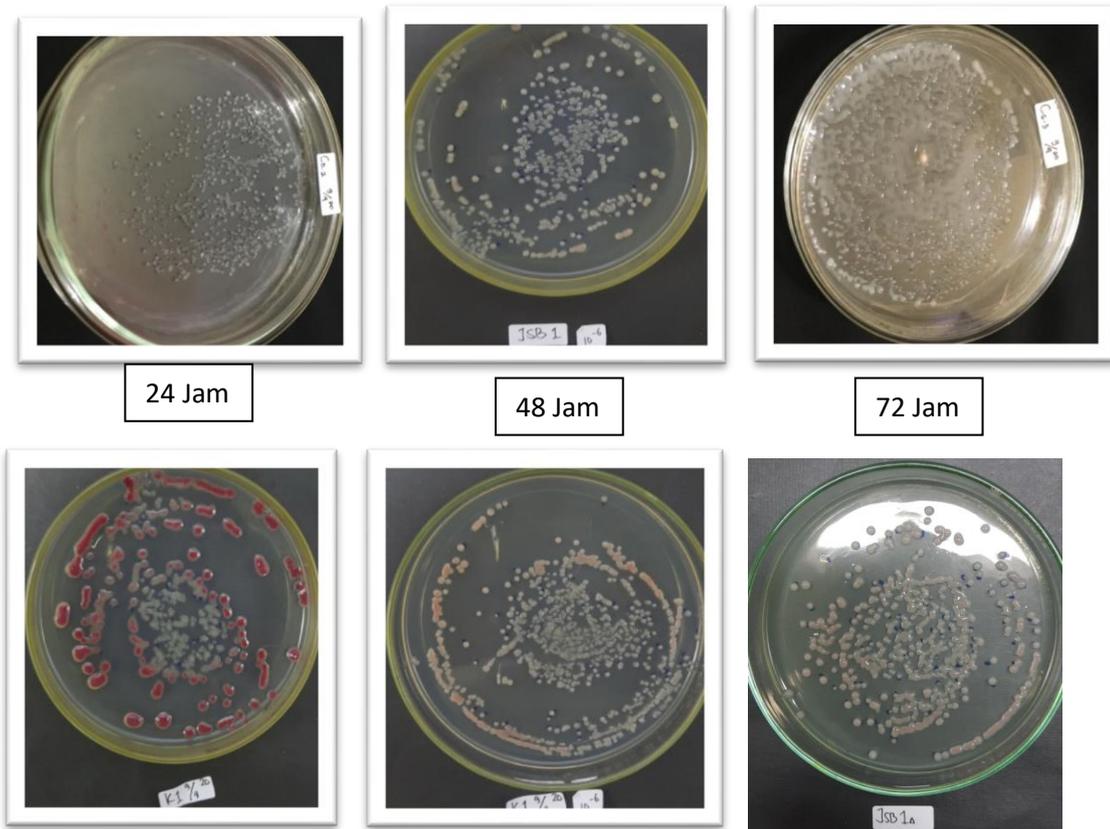
Gambar 2. Pertumbuhan bakteri pada media NA cawan petri

Penghitungan koloni bakteri dilakukan dengan menggunakan coloni counter yang dapat secara mudah untuk melakukan penghitungannya. Dari hasil penghitungan maka dihasilkan bahwa pertumbuhan bakteri ini termasuk yang tercepat. Seperti pada gambar 3 berikut,



Gambar 3. Pertumbuhan koloni yang bisa dihitung dengan coloni counter

Dari hasil pengamatan pertumbuhan akan terlihat bahwa pertumbuhan maksimal adalah pada umur 72 jam setelah inokulasi, sehingga pertumbuhan tersebut akan terhenti setelah melewati waktu tersebut. Seperti terlihat pada gambar 4 berikut.



Gambar 4. Hasil Pengamatan 24 jam, 48 jam, 72 jam pertumbuhan koloni tunggal

Kesimpulan

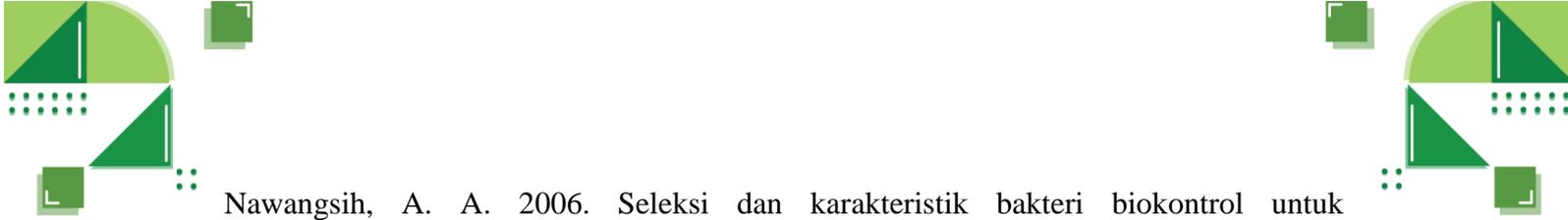
1. Pertumbuhan dan perkembangan Bakteri *R. Solanacearum* dari 24 jam, 48 jam dan 72 jam (maksimum)
2. Pertumbuhan ini bisa dikategorikan sangat cepat

Saran

Penelitian sebaiknya dilanjutkan lagi langsung pada tanaman yang menjadi inangnya, sehingga akan mudah untuk melakukan pencegahan maupun pengendalian

Daftar Pustaka

- Champoiseau, P. G., Jones, J. B., and Allen, C. 2009. *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2 Causes Tropical Losses and Temperate Anxieties. *Plant Health Progres*. 10: 1–10.
- Hersanti, Rupendi, R. T., Purnama, A., Hanudin, Marwoto, B. dan Gunawan, O. S. 2009. Penapisan beberapa isolat *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. *Jurnal Agrikultura*, 20(3): 198-2003.
- Nasrun, Christanti, Arwiyanto, T dan Ika, M. 2007. Karakteristik fisiologis *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam. *Jurnal Litri*, 13(2): 43-48.

- 
- Nawangsih, A. A. 2006. Seleksi dan karakteristik bakteri biokontrol untuk mengendalikan penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tomat. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Supriadi. 2011. Penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*): Dampak, bioekologi dan peranan teknologi pengendaliannya. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*, 4(4): 279-293.
- Yusriadi, A.L. Abadi, S. Djauhari, and H. Halim. 2017. Distribution and Diversity *Ralstonia Solanacearum* Wilt Disease Bacterial Causes of Banana (Kepok: Local Indonesia) and Intensity of Attack in South Kalimantan, Indonesia. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. 11(2): 78-83.