PENGUJIAN FORMULASI MINYAK BUNGA CENGKEH UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT LAYU BAKTERI *Burkholderia solanacearum* (E.F. SMITH) E. YABUUCHI *et al* PADA TANAMAN TOMAT

Milda Ernita[1], Trimurti Habazar[2], Abdi Dharma[2]

ABSTRACT

The different formulation (Emulsion Concentrate or EC and Wettable power or WP) of clove flower oil (CFO) had been studied to control bacterial wilt disease on tomato caused by *Burkholderia solanacearum*. CFO had been tested with different dosages in vitro (0; 0.3 ; 0.4 ; 0.5%) on TTC–Agar and TTC-Broth). Study the effect of CFO in Planta had been done with different dosage and time of application to bacterial disease on tomato. Plants with no wilting effect offer inoculation with *B. solanacearum* had been characterized the antibiosis effect on root.

The in vitro test showed that growth of pathogen suppressed at 0.3% CFO (EC and WP) and the effect of CFO in plant indicate that WP more effective than EC. Only extract from roots of no wilting plants (offer treatment with CFO before inoculation with pathogen) showed antibiosis effect against *B. solanacearum*.

Key Word : clove flower oil, *Burkholderia, solanacearum*, tomato

PENDAHULUAN

Salah satu faktor pembatas dalam produksi tomat adalah serangan bakteri *Pseudomonas solanacearum* (E.F. Smith) penyebab penyakit layu (Semangun, 1991). Bakteri *P. solanacearum* sekarang dikenal dengan *Burkholderia solanacearum* (E.F. Smith) E. (Yabuuchi, Kosaka, Oyaizu, Yano, Hotta, Hashimoto, Ezaki dan Arakawa, 1992). Patogen ini tergolong penting karena mempunyai kisaran inang yang luas, tular tanah (soil borne), penyebarannya secara mekanik melalui alat-alat pertanian dan vektor serangga. Pada kondisi yang cocok *B. solanacearum* dapat bertahan hidup dari musim ke musim dalam tanah sebagai saprofit pada sisa tanaman sakit, dan dapat berinteraksi sinergis dengan nematoda (Semangun, 1991; Hayward 1995).

Usaha pengendalian penyakit layu bakteri ini telah banyak dilakukan, seperti pergiliran tanaman dengan tanaman bukan inang, penggunaan bakterisida, tetapi belum memberikan hasil yang memuaskan. Salah satu cara pengendalian yang sedang dikembangkan adalah penggunaan pestisida nabati yang ramah lingkungan. Seperti ekstrak minyak serai wangi, ekstrak gambir, produk cengkeh dan lain-lain.

Efektivitas produk cengkeh dalam pengendalian penyakit tanaman sudah banyak dilaporkan antara lain; terhadap jamur *Phytophthora* sp. *Rigidoporus* sp *dan Sclerotium* sp (Manora, Wahyuno dan Sukamto, 1994) *P.solanacearum* (isolat jahe, kentang dan nilam) (Hartati *et al*, 1994) *F. oxysporum* sp *vanillae* penyebab penyakit busuk batang panili (Sukamto, Tombe dan Mogi, 1996) *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Ueda *et al*, 1982 cit Hertika Sari, 1995) sedangkan terhadap bakteri lainnya seperti *P. solanacearum* (isolat jahe dan kentang dan nilam) (Hartati *et al*, 1994)

Salah satu produk cengkeh yaitu Minyak Bunga Cengkeh (BMC) yang telah diformulasi dalam bentuk larutan (EC) dan tepung (WP) mengandung 10% bahan aktif, yang terdiri dari ± 90% eugenol ± 7,5% eugenol asetat dan ±2,5% β-caryophillen. Secara *in vitro* efektifitas MBC telah diuji terhadap *B. solanacearum* (isolat jahe), konsentrasi yang efektif adalah 1000-6000 ppm (Asman, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk : menentukan formulasi dan dosis MBC yang efektif untuk menekan pertumbuhan *B. solanacearum*, secara *in vitro*, waktu aplikasi MBC yang efisien untuk menekan perkembangan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat.

[1] Alumni Program Studi Hama dan Penyakit Tanaman PPs Unand
[2] Dosen Program Pascasarjana Universitas Andalas

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium dan rumah kawat Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Andalas Padang dari bulan April sampai dengan Desember 1997.

Uji efektifitas MBC terhadap *B. solanacearum*, secara *in vitro*

Isolasi dan identifikasi

Bakteri diisolasi dari tanaman tomat yang sakit di lapangan secara pengenceran seri pada medium selektif TZC dengan metoda gores dan diinkubasi selama 48 jam. Koloni bakteri yang berwarna merah muda dengan tepi tidak teratur diisolasi dan diuji sifat morfologi, bentuk, ukuran, warna, permukaan dan elevasi kolon. Pengujian sifat fisiologi meliputi: Uji Gram, produksi enzim, pektinase, produksi levan, uji pigmen fluoresen, uji oksidase, reaksi hipersensitif, uji patogenisitas.

Uji efektifitas MBC secara in vitro

Formula MBC 10 EC dan 10 WP diperoleh dari Bapak Ir. Ariful Asman, MS dari Balai Penelitian Rempah dan Obat, Bogor. Pengujian efektifitas MBC secara *in vitro* terhadap bakteri *B.solanacearum* menggunakan metode "Rancangan Acak Lengkap" (RAL) dengan 8 perlakuan masing-masing diulangi tiga kali yaitu; A = MBC 10 EC 0,3%, B = MBC 10 EC 0,4%, C = MBC 10 EC 0,5%, D = MBC 10 WP 0,3%, E = MBC 10 WP 0,4% , F = MBC 10 WP 0,5%, G = MBC 0,%, H = Streptomycin (20%) 1,5%.

Populasi bakteri dalam medium cair TZC

Masing-masing formula MBC dengan konsentrasi sesuai perlakuan ditambahkan ke dalam 50 ml medium cair TZC, kemudian di tambahkan 1 ml suspensi bakteri (biakan umur 48 jam) dengan populasi 2,18. 10^7 CFµ.ml^{-1}. Suspensi bakteri diinkubasi pada shaker selama 5 hari dengan kecepatan 240 rpm. Perkembangan populasi bakteri diamati 1,2,3,4,5 hari setelah inkubasi (hsi) 1 ml suspensi sampel diencerkan sampai 10^{-7}, kemudian 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-7} dipindahkan ke dalam 10 ml medium agar TZC suhu 46^{0}C dihomogenkan dan dituangkan kedalam cawan petri. Biakan ini diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar, kemudian dihitung jumlah koloninya.

Parameter yang diamati adalah (1) populasi *B. solanacearum* dalam medium TZC cair (CFµ.ml^{-1}) pada hari 1, 2, 3, 4, 5, his. (2) penurunan populasi bakteri, menggunakan rumus menurut Sivan dan Chet (1986) : (1-DT/DC) x 100% ,DT = Jumlah populasi bakteri, pada medium + MBC DC = Jumlah Populasi pada medium tanpa MBC (kontrol).

Daerah bebas bakteri dalam medium agar TZC

0,5 ml suspensi bakteri (populasi 10^7) dipindahkan pada medium Nutrient Agar (NA) dalam cawan petri dan diratakan dengan jarum ose. Potongan kertas saring steril (diameter 1 cm) dicelupkan ke dalam MBC (sesuai perlakuan) secara aseptis, dikering anginkan kemudian diletakkan pada biakan bakteri diatas dan diinkubasi selama 48 jam. Parameter yang diamati adalah daerah bebas pertumbuhan bakteri. (3) Diameter daerah hambatan pertumbuhan *B. solanacearum* diukur 2 hari setelah inkubasi, efektifitas MBC diukur menggunakan rumus berikut : D_1/D_2 x 100%, D_1 = Diameter daerah hambatan oleh MBC, D_2 = Diameter daerah hambatan oleh streptomycin

Efektifitas MBC *in planta*

Pengujian efektifitas MBC terhadap *B.solanacearum* in planta menggunakan faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor pertama A = Formulasi MBC, (A1 = MBC 10 EC 0,6%, A2 = MBC 10 EC 0,8%, A3 = MBC 10 EC 1%, A4 = MBC 10 WP 1,%, A5 = MBC 10 WP 1,3%, A6 = MBC 10 WP 1,7%, A7 = MBC 0%, A8 = Streptomisin (20%) 1,5%); Faktor kedua, B = Waktu aplikasi MBC (B1 = seminggu setelah inokulasi (I+P), B2 = seminggu sebelum inokulasi (P+I), B3 = bersamaan dengan inokulasi (I=P).

Data yang diperoleh dianalisis secara sidik ragam dan uji lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf nyata 5%.

Bibit tomat yang digunakan adalah varietas bondol Putih Umur 2 minggu kemudian dipindahkan kedalam polibag (tanah + pupuk kandang steril , 3 : 4 v/v). Tanaman diinokulasi pada umur 4 minggu menggunakan metode Elphinstone, (1992), perakaran tomat dilukai dengan pisau disekeliling batang (radius 5 cm). Pemberian MBC 10 EC dan Streptomisin (20%) dengan menyiramkan 150 ml larutan per polibag, sedangkan MBC 10 WP dicampurkan dengan tanah (sesuai konsentrasi) sampai kedalaman 10 cm.

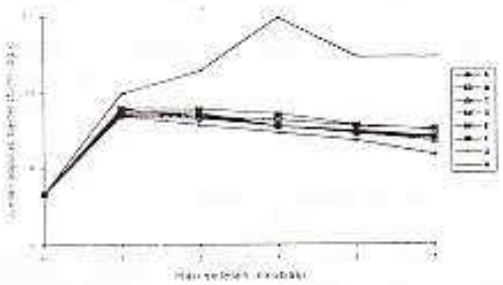
Efek induksi ketahanan oleh MBC dideteksi pada tanaman tomat yang tidak layu setelah diinokulasi dengan *B. solanacearum* sampai 5 minggu, kemudian dan diambil akarnya. 10 g akar tersebut di ekstraksi dengan 10 ml metanol. Efek antimikroba dari ekstrak

akar tersebut diuji dengan merendam kertas cakram dalam ektrak tersebut dan diletakkan pada biakan *B. solanacearum* dalam cawan petri. Terbentuknya zone hambatan merupakan efek anti bakteri terhadap *B. solanacearum*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektifitas MBC secara *in vitro*

Pertumbuhan Populasi *B. solanacearum* pada medium cair TZC yang ditambahkan berbagai konsentrasi dan formula MBC ataupun Streptomycin (20%) konsentrasi 1,5% menunjukkan tendensi yang menurun dibanding kontrol (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik pertumbuhan populasi *B.solanacearum* dalam medium cair TZC setelah ditambah MBC dan Streptomycyn (20%)

Tingkat efektifitas dari MBC dalam menekan populasi bakteri *B.solanacearum* adalah sama dengan Streptomycin yaitu 99,71 – 99,91% (Tabel 1). Streptomycin merupakan bakterisida yang efektif dalam mengendalikan bakteri gram negatif, karena menurut Goto (1992) streptomycin menghambat sintesa senyawa penyusun dinding sel bakteri. Dengan demikian tingkat efektifitas yang sama juga ditunjukkan oleh MBC dengan berbagai konsentrasi dan formulasi MBC mengandung senyawa eugenol yang bersifat anti mikroba (Benjilali et al. 1988, cit Hartati et al. 1994a). Pemberian eugenol 400 ppm dapat membunuh jamur *Phytophthora capsici* dari lada (Manohara et al., 1994, (*Fusicladium effusum* penyebab penyakit kudis pada kemiri (Bariness 1963 cit Manohara 1994).

Daerah hambatan Pertumbuhan B. solanacearum

Daerah hambatan pertumbuhan *B. solanacearum* yang terbesar adalah pada medium NA yang ditambahkan Streptomycin, MBC 10 EC 0,5 ; 0,4 ; 0,5% MBC 10 WP 0,5% dengan tingkat efektifitas 90,4 – 100% (Tabel 2)

Tabel 1 Efektifitas MBC terhadap penekanan populasi *B. solanacearum* dalam medium cair TZC

Perlakuan	Efektifitas (%)
H = Streptomycin (20%), 1,5 %	99,91
F = MBC 10 WP 0,5%	99,86
E = MBC 10 WP 0,4%	99,86
C = MBC 10 EC 0,5%	99,86
B = MBC 10 EC 0,4%	99,80
A = MBC 10 EC 0,3%	99,75
D = MBC 10 WP 0,3%	99,71

Tabel 2. Rata-rata diameter daerah hambatan pertumbuhan *B. solanacearum* dan efektifitas MBC.

Perlakuan	Diameter (cm)	Efektifitas (%)
H = Streptomycin (20%), 1,5%	1,7 a	100.0
C = MBC 10 EC 0,5%	1,7 a	100.0
F = MBC 10 WP 0,5%	1,7 a	96.1
B = MBC 10 EC 0,4%	1,6 ab	92.3
A = MBC 10 EC 0,3%	1,6 ab	90.4
E = MBC 10 WP 0,4%	1,4 bc	80.9
D = MBC 10 WP 0,3%	1,3 c	75.0
G = MBC 0%	0.0 d	-

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata pada uji DNMRT taraf 5%

Pengujian efek tepung bunga cengkeh terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* sp *vanillae* pada medium PDA menunjukkan terhambatnya pertumbuhan pada konsentarsi 0,025%; 0,15%, sedangkan pada konsentrasi 0,20% tidak ada yang tumbuh (Sukamto, Tombe dan Mogi 1996). Pertumbuhan *B. solanacearum* isolat jahe tertekan pada medium yang ditambahkan MBC 200-800 ppm (Hertika Sari, 1995)

Efektifitas MBC *In Planta*

Masa inkubasi B. solanacearum

Aplikasi MBC 10 WP 1,7%, MBC 10 EC 1% pada tanaman tomat dapat memperlambat masa inkubasi *B. solanacearum* yang diinokulasi pada tanaman tomat (40-42 hsi). Efek yang sama juga terlihat pada tanaman yang diaplikasi dengan Streptomycin 1.5% (Tabel 3). Sedangkan waktu aplikasi MBC tidak menunjukkan pengaruh terhadap masa inkubasi *B. solanacearum* pada tanaman tomat.

Tabel 3. Rata-rata masa inkubasi *B. solanacearum* pada tanaman tomat setelah diberi MBC dengan waktu aplikasi yang berbeda.

Formulasi MBC	Waktu Aplikasi MBC			Pengaruh utama faktor A
	B1 (1+P)	B2(P+1)	B3(1=P)	
A1 = MBC 10 EC 0,6%	23,0 ^{bc}	28,7 ^{ab}	25,0 ^{bc}	25,6 ^{bc}
A2 = MBC 10 EC 0,8%	42,0* ^{a}	42,0* $_{a}$	13,0 ^{c}	32,3 ^{ab}
A3 = MBC 10 EC 1%	42,0* ^{a}	36,0 ^{ab}	42,0* ^{a}	40,0 ^{a}
A4 = MBC 10 WP 1%	33,7 ^{ab}	35,5 ^{ab}	36,0 ^{ab}	35,1 ^{ab}
A5 = MBC 10 WP 1,3%	34,3 $_{ab}$	42,0* ^{a}	42,0* ^{a}	39,4 ^{a}
A6 = MBC 10 WP 1,7%	42,0* $_{a}$	42,0* ^{a}	42,0* ^{a}	42,0* ^{a}
A8 = Streptomycin 1,5%	42,0* $_{a}$	42,0* ^{a}	42,0* ^{a}	42,0* ^{a}
A7 = MBC 0%	13,0 $_{c}$	13,0 ^{b}	13,0 ^{c}	13,0 ^{c}
Pengaruh utama faktor B	34,0	35,2	31,8	

Keterangan : *tidak menunjukkan gejala layu sampai akhir penganatan
Angka-angka yang diikuti superskrip huruf kecil yang berbeda pada koloni yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)

Persentase tanaman layu

Persentase tanaman tomat yang layu setelah diinokulasi dengan *B. solanacearum* semakin rendah dengan semakin meningkatnya konsentrasi MBC baik dalam formulasi EC ataupun WP (Tabel 4). Aplikasi MBC 10 EC 1% persentase tanaman layu adalah 11,11% dan MBC 10 wp 1,7% persentase tanaman layu 0%. Efek yang sama juga terlihat pada aplikasi Streptomycin menunjukkan tidak ada tanaman yang layu. Hal yang sama dengan masa inkubasi, ternyata waktu aplikasi juga tidak berpengaruh terhadap persentase tanaman tomat yang layu.

Tabel 4. Persentase tanaman tomat layu setelah diinokulasi dengan *B. solanacearum* dan diberi MBC dengan waktu aplikasi yang berbeda.

Formulasi MBC	Waktu Aplikasi MBC		
	B1 (1+P)	B2(P+1)	B3(1=P)
A1 = MBC 10 EC 0,6%	66.66	66.66	66.66
A2 = MBC 10 EC 0,8%	0	0	100.00
A3 = MBC 10 EC 1,0%	0	33,33	0
A4 = MBC 10 WP 1,0%	33.33	33.33	33.33
A5 = MBC 10 WP 1,3%	33.33	0	0
A6 = MBC 10 WP 1,7%	0	0	0
A7 = MBC 0%	100.00	100.00	100.00
A8 = Streptomycin 20%,1,5%	0	0	0

Disamping mempunyai efek penekanan langsung MBC terhadap *B. solanacearum*, ternyata MBC juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, menurut Sukamto et al (1996) pemberian tepung bunga cengkeh dan eugenol meningkatkan tinggi dan berat tanaman. Hasil analisis tanah yang diaplikasi tepung cengkeh tersebut menunjukkan peningkatan ketersediaan karobon organik, Nitrogen dan Kalium, peningkatan pertumbuhan tanaman dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap hama dan penyakit.

Efek ketahanan tanaman tomat

Ekstrak akar tanaman tomat setelah diaplikasikan dengan MBC yang dapat menghambat pertumbuhan *B. solanacearum* secara *in vitro* adalah pada akar yang diaplikasikan dengan MBC 10 EC 0,8%, MBC 10 WP 1,7% dan Streptomycin (Tabel 5).

Tabel 5. Diameter derah hambatan pertumbuhan *B. solanacearum* oleh ekstrak akar tanaman tomat yang diberi MBC seminggu sebelum inokulasi (P+1)

Perlakuan	Diameter daerah hambatan (cm)
A1 = MBC 10 EC 0,6%	td
A2 = MBC 10 EC 0,8%	1,25
A3 = MBC 10 EC 1,0%	td
A4 = MBC 10 WP 1,0%	td
A5 = MBC 10 WP 1,3%	0
A6 = MBC 10 WP 1,7%	1,30
A7 = MBC 0%	td
A8 = Streptomycin 20%,1,5%	1,40

Keterangan : td = tidak dideteksi karena tanaman layu

Terbentuknya senyawa yang bersifat antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan *B. Solanacearum* sehingga menyebabkan tanaman tomat tidak menunjukkan jegala layu dengan arti kata terjadi peningkatan ketahanan tanaman tersebut. Senyawa yang bersifat antimikroba dapat dihasilkan tanaman setelah terinduksi oleh faktor

biotis atau abiotis dan senyawa tersebut diduga berkaitan dengan fitoaleksin. Menurut Goodman et al (1986) terbentuknya fitoaleksin pada tanaman bukan merupakan respon yang spesifik terhadap infeksi patogen, karena dapat juga terbentuk bila jaringan diperlakukan dengan faktor abiotis seperti senyawa kimia, senyawa fitoaleksin terbentuk 60-96 jam setelah infeksi/perlakuan kimia, setelah itu menurun (Heitefuss dan Williams, 1976).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Konsentrasi MBC 10 EC dan 10 WP yang efektif menghambat pertumbuhan *B. Solanacearum* secara *in vitro* adalah 0,3%.
2. Secara *in planta* formulasi MBC 10 WP lebih efektif dibanding MBC 10 EC untuk menekan perkembangan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat dengan konsentrasi yang efektif MBC 10 WP adalah 1,7%.
3. Waktu aplikasi MBC tidak berpengaruh terhadap serangan penyakit layu bakteri oleh pertumbuhan *B. Solanacearum.*
4. Pemberian MBC diduga dapat menginduksi ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit layu bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Asman, A. 1996. *Diversifikasi Produk Cengkeh Sebagai Pestisida Nabati.* Kertas Kerja Riset Unggulan Terpadu (RUT). Balitro Bogor. Tidak dipublikasikan.

Goodman, R.N. :Z. Kirally and K.R. Word. 1986. *The Biochemistry and Physiology of Plant Desease.* University of Missouri Press Columbia.

Hartati S.Y. ; Ester M Adhi; A. Asman dan N Karyanii. 1994a, *Efesiensi Eugnol, Minyak dan Serbuk Cengkeh terhadap Bakteri* Psedomonas Solanacearum. Pros. Seminar Pemanfaatan Pestisida Nabati. Bogor 1-2 Desember 1993; 43-47.

Hayward, A.C. 1995. *Psedomonas Solacearum dalam Pathogenesis and Host Specificity in Plant Disease.* Pengamon Elsevier Science Ltd. 305 pp

Heitefuss, R., and P.H. Wiliams, 1976

Hertika Sari, 1995. *Kajian Pengaruh Beberapa Minyak Atsiri Terhadap* Psedomonas Solanacearum. E.F. Smith. Penyebab Penyakit Layu Terhadap jahe. Skripsi HTP. Fakultas Pertanian IPB. 35 hal/

Manohara,D ; D. Wahyuno dan Sukamto, 1994. *Pengaruh Tepung dan Minyak Cengkeh terhadap Phytophthora* sp. Rigidophorus sp. Dan Sclerotium sp. Dalam Pross. Seminar Pemanfaatan Pestisida Botani, Bogor, 1-2 Desember 1993, 19-26.

Semangun, H. 1991. *Penyakit-penyakit tanaman hortikultura di Indonesia.* Gadjah Mada University, Press Yogyakarta. 850.

Sukamto ; M.Tombe dan S. Sogi. 1996. *Produk Cengkeh Sebagai Fungisida Nabati dalam PHT penyakit Busuk Panili dalam Pross.* Seminar on Integrated control on main disease of industrial crops. 13-14 Maret 1996 Bogor ; 77-85.

Yabuuchi, E; Y. Kosaka; H. Oyaizu; I. Yano; H. Hotta; Y. Hashimoto; T. Ezaki and M. Arakawa. 1992 *Proposal of* Burkholderia *gen Nov and Transfer of Seven Species of the Genus* Pseudmonas *Homology group II to the New Genus, with the Type Species* Burkholderia cepacia. Palleroni and Holmes 1981. Comb. Nov Microbial. Immunol 36 (12) :1251-1275.