

Bacillus subtilis dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dalam Serat Karbon dan Silika Nano Menekan Pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan Perkembangan Penyakit Hawar Kecambah Tomat

Hersanti^{1*}, Nurul Hidayati Emilia², Luciana Djaya¹ dan Endah Yulia¹

¹Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

²Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Kampus Jatinangor KM 21 Jatinangor 45363

*Alamat korespondensi: hersanti16@unpad.ac.id

INFO ARTIKEL	ABSTRACT/ABSTRAK
Diterima: 19-05-2021 Direvisi: 03-07-2021 Dipublikasi: 11-08-2021	<p><i>Bacillus subtilis</i> and <i>Lysinibacillus</i> sp. in Carbon Fiber and Nano-Sized Silica Nutrient Formulation Inhibit and Suppress the Colony Growth of <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> and the Development of Tomato Seed Sprout Disease</p>
Keywords: Biological control agents, Carriers, Endophytes, Formulation, PGPR	<p><i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Fol) is a pathogen that infects all tomato plant growing phases, from seedling to generative phase. One of developing control methods of the pathogen is biological control including the employed of a widely used <i>Bacillus subtilis</i> (PGPR group) and a potentially used <i>Lysinibacillus</i> sp. (endophytic group). Both bacteria were formulated in carbon fiber as a carrier and enriched with nano-sized silica nutrient. This study aimed to test the ability of <i>B. subtilis</i> and <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U₃) in carbon fiber and nano silica formulation in inhibiting and suppressing the colony growth of Fol and the development of disease caused by Fol in tomato seed sprouts. The suspensions of <i>B. subtilis</i> and <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U₃) were formulated singly and mixed in 80 mesh carbon fiber and 1% nano silica. The experiment used a Completely Randomized Design and was carried out in two stages. First, testing on the growth of Fol colony inhibition that consisting of eight treatments and three replications. Second, testing on the disease development suppression on tomato seed sprouts consisting of eight treatments and three replications. The results showed that <i>B. subtilis</i> in carbon fiber and nano silica was able to inhibit the growth of Fol colony by 59.49% and suppressed the development of seedling blight of tomato seed sprouts by 66.7%.</p>
Kata Kunci: Agen pengendali hayati, Bahan pembawa, Endofit, Formulasi, PGPR	<p><i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Fol) merupakan patogen yang dapat menginfeksi pada semua fase pertumbuhan tanaman tomat, mulai dari semai sampai fase generatif. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengendalikan patogen ini yaitu dengan memanfaatkan agen pengendali hayati, diantaranya <i>Bacillus subtilis</i> dari kelompok <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR) dan bakteri endofit <i>Lysinibacillus</i> sp. Kedua bakteri diformulasikan dalam serat karbon sebagai bahan pembawa dan diperkaya dengan unsur hara silika yang berukuran nano. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan <i>B. subtilis</i> dan <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U₃) dalam serat karbon dan silika nano untuk menghambat pertumbuhan koloni Fol dan menekan perkembangan penyakit yang disebabkan oleh Fol pada benih tomat. Suspensi <i>B. subtilis</i> dan <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U₃) diformulasikan secara tunggal dan campuran dalam serat karbon 80 mesh dan silika nano</p>

1%. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dan dilakukan dalam dua tahap. Pertama, pengujian terhadap penghambatan pertumbuhan koloni Fol yang terdiri atas delapan perlakuan dan tiga ulangan. Kedua, pengujian terhadap penekanan perkembangan penyakit yang disebabkan oleh Fol pada benih tomat yang terdiri atas delapan perlakuan dan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan *B. subtilis* dalam serat karbon dan silika nano mampu menghambat pertumbuhan koloni Fol sebesar 59,49% dan menekan perkembangan penyakit hawar kecambah benih tomat sebesar 66,7%.

PENDAHULUAN

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* (Fol) merupakan salah satu patogen penyebab penyakit yang mengakibatkan kehilangan hasil pada produksi tomat. Pada tanaman dewasa, serangan Fol menyebabkan penyakit layu (Ignjatov *et al.*, 2012). Sementara itu, infeksi *Fusarium* sp. pada benih dapat mengakibatkan penyakit hawar kecambah benih (Larran *et al.*, 2018). Salah satu upaya pengendalian yang dapat dilakukan untuk menekan perkembangan *F. oxysporum* adalah dengan memanfaatkan agen hayati. Penggunaan bakteri antagonis sebagai agen pengendali hayati penyakit tanaman telah banyak dilakukan, diantaranya dari kelompok PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yaitu *Bacillus subtilis* dan bakteri endofit *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) (Hersanti dkk., 2009; Syahida, 2016). *Bacillus subtilis* menghambat perkembangan patogen melalui kompetisi dan antibiosis, sedangkan *Lysinibacillus* sp. mampu menguraikan dinding sel patogen dengan cara menghasilkan enzim kitinase (Suriani & Muis, 2016; Singh *et al.*, 2012).

Aplikasi agen pengendali hayati pada tanaman memerlukan bahan pembawa yang dapat mempertahankan viabilitasnya (Ruhyanan, 2017), salah satunya adalah serat karbon. Serat karbon merupakan material komposit yang berwarna hitam, kaku, sangat kuat, ringan, dan memiliki ketebalan beberapa mikron dengan rantai molekul aromatik panjang yang tersusun dari karbon (Pramono, 2012). Selain bahan pembawa, diperlukan bahan tambahan yang dapat membuat suatu formulasi menjadi lebih optimal, diantaranya silika. Silika merupakan unsur hara ke dua yang jumlahnya melimpah dan dapat diserap tanaman untuk meningkatkan ketahanan terhadap penyakit dan stress (Ma *et al.*, 2001). Saat ini telah dikenal teknologi nano yang memberikan banyak manfaat dalam meningkatkan kualitas hidup manusia. Teknologi nano diaplikasikan di berbagai

bidang kehidupan, tidak terkecuali dalam bidang pertanian. Kemajuan di bidang bioteknologi pada skala nano memungkinkan untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap berbagai tekanan lingkungan seperti kekeringan, salinitas, penyakit dan lain-lain (Ditta, 2012). Harviana (2018) telah menggunakan silika berukuran nano untuk ditambahkan ke dalam formulasi biopestisida yang terdiri dari *B. subtilis*, *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dan serat karbon untuk menekan penyakit hawar daun kentang (*Phytophthora infestans*). Formulasi ini diaplikasikan di lapangan sebanyak tiga kali, yaitu saat penanaman dan 2 serta 4 minggu setelah tanam. Hasilnya menunjukkan bahwa formulasi tersebut mampu menekan perkembangan penyakit sebesar 41,7-51,2%. Akan tetapi, penggunaannya dalam mengendalikan Fol pada benih tomat belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengkaji kemampuan *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dalam silika nano dan serat karbon untuk menghambat pertumbuhan koloni Fol dan menekan perkembangan penyakit yang disebabkan oleh Fol pada benih tomat.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran dari bulan April 2019 hingga September 2019. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dilakukan dengan menguji daya hambat formulasi terhadap pertumbuhan koloni Fol dan perkembangan penyakit yang disebabkan oleh Fol pada benih tomat. Pengujian tahap pertama merupakan pengujian daya hambat formulasi terhadap pertumbuhan koloni Fol yang terdiri atas delapan perlakuan yaitu A = *B. Subtilis*, B = *Lysinibacillus* sp. (CK U₃), C = *B. subtilis* + *Lysinibacillus* sp. (CK U₃), D = *B. subtilis* + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%, E = *Lysinibacillus*

sp. (CK U₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%, F = *B. subtilis* + *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%, G = Fungisida (bahan aktif mankozeb) konsentrasi 4 g/l, dan H = Kontrol yang diulang sebanyak tiga kali. Pengujian tahap kedua adalah pengujian daya hambat formulasi terhadap perkembangan penyakit yang disebabkan oleh Fol pada benih tomat. Perlakuan yang diuji merupakan tiga formulasi yang menunjukkan efek penghambatan terbaik berdasarkan pengujian tahap pertama. Perlakuan kontrol dan pembanding pada pengujian tahap kedua ini terdiri atas perlakuan serat karbon 80 mesh, silika nano 1%, fungisida mankozeb, serta kontrol yang diinokulasi Fol dan kontrol yang tidak diinokulasi Fol sehingga terdapat delapan perlakuan yang diulang tiga kali dengan setiap ulangan terdiri atas 10 benih tomat.

Persiapan Isolat Fol

Isolat Fol yang diuji merupakan koleksi Balai Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA) Lembang dan diperbanyak kembali pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Perbanyak dilakukan dengan cara mengambil koloni Fol menggunakan *cork borer* dan diletakkan pada permukaan media PDA, kemudian diinkubasikan selama 7 hari pada suhu ruang.

Pembuatan Formulasi

Formulasi dibuat dengan cara mencampurkan suspensi *B. subtilis*, *Lysinibacillus* sp. (CK U₃), serat karbon, silika nano, dan akuades steril. Isolat *B. subtilis* yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Fitopatologi Balai Penelitian Tanaman Hias (BALITHI) Cianjur milik Ir. Hanudin. Isolat *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) berasal dari Cikajang, Garut milik Ir. Noor Istifadah, M.CP., Ph.D. Sementara itu, suspensi serat karbon dan silika nano dibuat oleh Pusat Riset Institusi Nano Tekonologi dan Graphene (PRINT-G) Universitas Padjadjaran. Isolat *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) diperbanyak pada media *Nutrient Agar* (NA). Perbanyak dilakukan dengan cara mengambil satu ose biakan masing-masing isolat *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) kemudian digoreskan dengan metode *streak plate* pada permukaan media NA dan diinkubasikan selama 48 jam pada suhu ruang. Suspensi *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dibuat dengan cara menuangkan 10 ml akuades steril ke dalam satu buah cawan Petri berisi biakan bakteri yang telah diinkubasikan selama 48 jam.

Selanjutnya, bakteri dipanen dengan menggunakan batang L yang digoreskan pada permukaan media secara perlahan. Kerapatan *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) yang digunakan adalah 10¹⁰ cfu/ml. Volume suspensi bakteri yang digunakan dalam percobaan adalah 1,5 ml.

Suspensi serat karbon yang digunakan merupakan suspensi mineral grafit berukuran 80 mesh (0,177 mm) dan memiliki konsentrasi awal 20% *weight/volume* (w/v), sedangkan konsentrasi yang akan digunakan adalah 5%. Suspensi silika nano berukuran 100 nm, berasal dari senyawa SiO₂ dan memiliki konsentrasi awal 10% *weight/volume* (w/v), sedangkan konsentrasi yang akan digunakan adalah 1%. Volume total formulasi yang digunakan adalah 5 ml, sehingga dengan menggunakan rumus di bawah ini didapatkan volume suspensi serat karbon yang digunakan adalah 1,25 ml dan volume suspensi silika nano yang digunakan adalah 0,5 ml.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Keterangan:

C1 = Konsentrasi awal (%)

V1 = Volume suspensi yang akan digunakan (ml)

C2 = Konsentrasi yang akan digunakan (%)

V2 = Volume total formulasi yang digunakan (ml)

Uji Daya Hambat Formulasi terhadap Pertumbuhan Koloni Fol

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode *filter paper* (Dhingra & Sinclair, 1995). Kertas saring steril berdiameter 0,5 cm ditetesi formulasi dengan menggunakan mikropipet sebanyak 10 µl. Kemudian kertas saring diambil dengan pinset steril dan diletakkan pada permukaan media PDA di dalam cawan Petri. Selanjutnya, miselia Fol yang telah berumur 7 hari diambil dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 0,5 cm dan diletakkan sejajar dengan kertas saring. Pengamatan uji daya hambat formulasi terhadap pertumbuhan koloni Fol dilakukan dengan cara mengukur jari-jari miselia patogen pada perlakuan kontrol dan formulasi uji. Pengamatan dilakukan pada interval 24 jam sampai miselia patogen pada perlakuan kontrol memenuhi permukaan media. Data pengukuran jari-jari miselia patogen digunakan untuk menghitung persentase penghambatannya dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100\%$$

Keterangan:

- P = Persentase penghambatan formulasi terhadap patogen (%)
r1 = Jari-jari miselia ke arah tengah cawan Petri pada perlakuan kontrol (mm)
r2 = Jari-jari miselia ke arah tengah cawan Petri pada perlakuan formulasi uji (mm)

N = Total kecambah benih yang diamati

Data kejadian penyakit digunakan untuk menghitung persentase penekanannya dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{KP1 - KP2}{KP1} \times 100\%$$

Uji Daya Hambat Formulasi terhadap Perkembangan Penyakit yang Disebabkan oleh Fol pada Benih Tomat

Benih tomat yang akan diuji diberi perlakuan air panas (*hot water treatment*) pada suhu 50°C selama 25 menit. Selanjutnya, benih tomat direndam dalam formulasi dari masing-masing perlakuan dengan volume 1 ml selama 30 menit, setiap ulangan terdiri dari 10 benih. Benih dikeringanginkan dengan cara disimpan di atas kertas saring steril, kemudian dipindahkan ke atas permukaan biakan murni Fol berumur 7 hari. Setelah berkecambah, benih dipindahkan ke dalam cawan Petri yang berisi tiga lembar kertas saring steril lembab dan diinkubasikan hingga gejala penyakit dapat diamati. Benih untuk perlakuan yang tidak diinokulasi Fol diletakkan langsung di atas permukaan kertas saring steril lembab. Cawan Petri disimpan di dalam kotak plastik yang permukaannya ditambah akuades steril agar kondisi tempat tumbuh tetap lembab. Pengamatan uji daya hambat formulasi terhadap perkembangan penyakit yang disebabkan oleh Fol pada benih tomat terdiri dari masa inkubasi dan kejadian penyakit menggunakan rumus:

$$\text{Kejadian Penyakit} = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

n = Jumlah kecambah benih yang terinfeksi

Keterangan:

P = Persentase penekanan (%)

KP1 = Kejadian penyakit pada perlakuan kontrol (%)

KP2 = Kejadian penyakit pada perlakuan formulasi uji (%)

Komponen pertumbuhan yang diamati terdiri atas daya berkecambah benih, tinggi kecambah benih, panjang akar, dan jumlah kecambah benih yang mengeluarkan daun lembaga. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga kecambah benih berumur 10 hari setelah semai (HSS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Daya Hambat Formulasi terhadap Pertumbuhan Koloni Fol

Bacillus subtilis dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) menghambat pertumbuhan koloni Fol hampir di semua perlakuan yang diuji. Jari-jari miselia Fol pada semua perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol, kecuali perlakuan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃). Perlakuan D (*B. subtilis* + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%) menunjukkan aktivitas penghambatan yang relatif lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu sebesar 59,49%. Data jari-jari miselia Fol yang tumbuh pada setiap perlakuan disajikan pada Tabel 1.

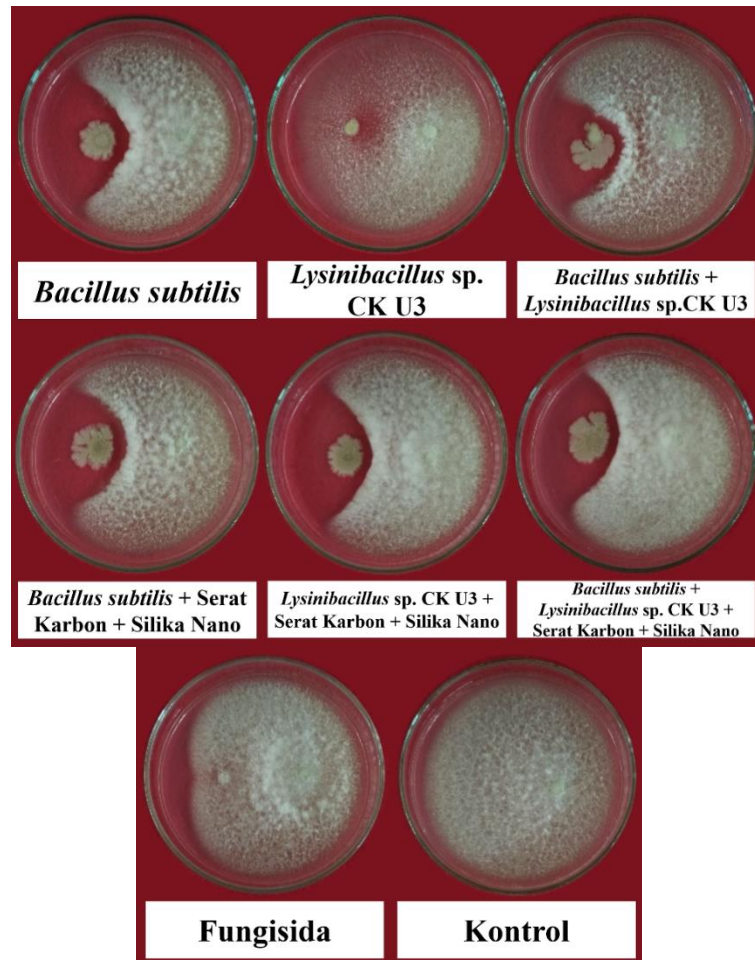
Tabel 1. Penghambatan formulasi terhadap pertumbuhan koloni Fol

Kode	Perlakuan	Jari-jari miselia (mm)	Penghambatan (%)
A	<i>B. subtilis</i>	21,87 a	59,04
B	<i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃)	50,03 c	6,31
C	<i>B. subtilis</i> + <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃)	22,23 a	58,37
D	<i>B. subtilis</i> + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	21,63 a	59,49
E	<i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	22,20 a	58,43
F	<i>B. subtilis</i> + <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	21,77 a	59,23
G	Fungisida mankozeb	45,63 b	14,55
H	Kontrol	53,40 c	0,00

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada tiap kolom menunjukkan pengaruh berbeda nyata menggunakan Uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Pada pengamatan secara makroskopis (Gambar 1), perlakuan *B. subtilis* menghasilkan zona hambat di antara kertas saring yang ditetesi formulasi dan miselia Fol. Akibatnya koloni Fol membentuk miselia yang menggumpal atau

menumpuk di daerah sekitar zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa *B. subtilis* membentuk mekanisme antibiosis dengan cara mengeluarkan antibiotik, sehingga pertumbuhan miselia Fol menjadi terhambat.



Gambar 1. Penghambatan pertumbuhan koloni Fol pada 10 hari setelah inkubasi.

Antibiotik merupakan senyawa organik yang dihasilkan mikroba dalam konsentrasi rendah sebagai metabolit sekunder, berfungsi untuk menghambat pertumbuhan ataupun aktivitas metabolisme mikroba lain (Prihatiningsih dkk., 2015). *Bacillus subtilis* memiliki beberapa senyawa antibiotik, diantaranya streptovidin, basitrasin, surfaktan, iturin, polimiksin, difisidin, subtilin, dan subtilosin (Djaenuddin & Muis, 2015). Selain antibiotik, *B. subtilis* juga memproduksi beberapa enzim yang dapat menguraikan dinding sel patogen diantaranya protease, amilase dan kutinase (Suriani & Muis, 2016).

Penggunaan serat karbon sebagai bahan pembawa dan silika nano sebagai bahan tambahan dapat turut menghambat pertumbuhan patogen dan

memudahkan aplikasi formulasi di lapangan. Serat karbon berfungsi sebagai bahan yang mampu mempertahankan populasi bakteri dan menjaga kemampuan bakteri dalam menekan patogen (Harviana, 2018). Sementara itu, silika nano dapat mempercepat pertumbuhan mikroba hingga >20% (Karunakaran *et al.*, 2013).

Lysinibacillus sp. (CK U₃) tidak dapat menghambat pertumbuhan koloni Fol. Bakteri tersebut tidak mampu berkompetisi dengan patogen diduga karena kemampuannya dalam memproduksi senyawa antibiotik tidak terlalu kuat sehingga patogen tidak dapat dihambat. Selain itu, isolat *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) yang digunakan berusia lebih dari satu tahun dan sudah berkali-kali ditumbuhkan pada media sehingga memungkinkan

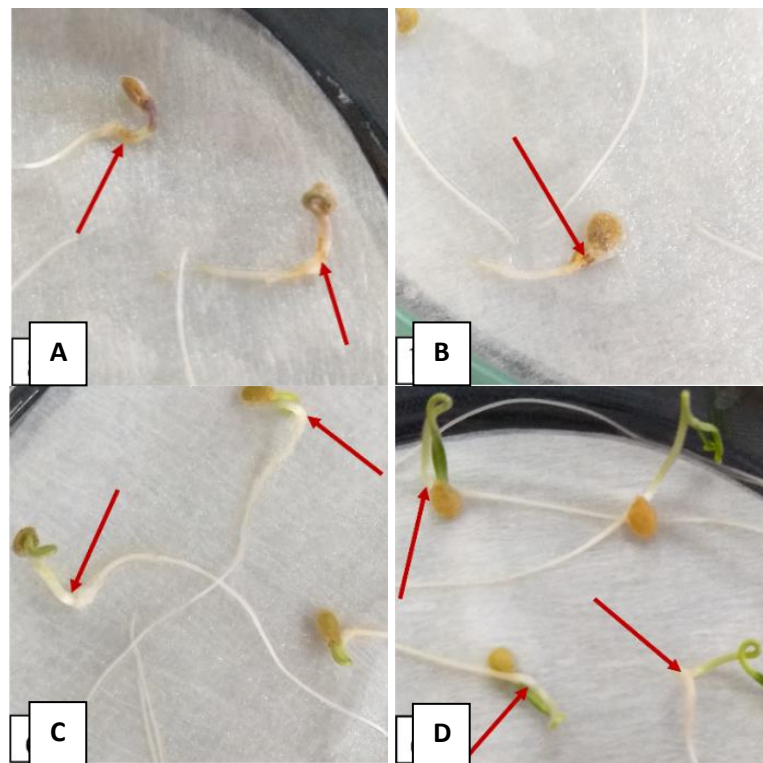
terjadinya penurunan viabilitas (Mursyidi, 2018). Hal ini sesuai dengan pendapat Suriani dan Muis (2016), penurunan viabilitas dapat terjadi pada isolat bakteri yang sudah dibuat dalam bentuk formulasi dan disimpan dalam waktu yang lama.

Perlakuan fungisida menunjukkan persentase penghambatan yang rendah jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu sebesar 14,6%. Selain itu, pada pengamatan secara makroskopis tidak terbentuk zona hambat di antara kertas saring yang mengandung fungisida dan miselia Fol. Koloni Fol tumbuh melewati kertas saring menuju tepi cawan Petri. Hal ini diduga karena volume suspensi fungisida yang diaplikasikan terlalu rendah dan hanya sedikit yang terserap dalam kertas saring sekalipun konsentrasi yang digunakan sudah sesuai

anjaran yaitu sebesar 4 g/l. Kemudian fungisida yang ada dalam kertas saring tidak cukup berdifusi ke dalam media sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan Fol dengan baik.

Masa Inkubasi Penyakit Hawar Kecambah Benih Tomat

Infeksi Fol pada benih tomat menunjukkan gejala penyakit hawar kecambah benih yang diawali dengan munculnya bercak cokelat di sekitar pangkal batang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Larran *et al.* (2018) bahwa gejala hawar kecambah benih diawali dengan terjadinya perubahan warna cokelat kemerahan pada pangkal batang. Gejala penyakit hawar kecambah benih tomat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Infeksi Fol pada kecambah benih tomat pada 2 hari setelah inokulasi (HSI).

(A & B) Kecambah benih tomat yang terinfeksi pada perlakuan kontrol diinokulasi Fol dengan gejala bercak cokelat di pangkal batang.

(C) Kecambah benih tomat yang bebas dari infeksi Fol pada perlakuan fungisida.

(D) Kecambah benih tomat yang bebas dari infeksi Fol pada perlakuan kontrol tanpa inokulasi.

Hasil pengamatan terhadap masa inkubasi penyakit hawar kecambah benih tomat menunjukkan bahwa gejala penyakit pertama kali muncul pada 2 HSI. Gejala hawar pada benih ini tergolong cepat kemunculannya jika dibandingkan dengan penelitian Larran *et al.* (2018) yang menyebutkan bahwa gejala penyakit muncul ketika

kecambah benih berumur 7 HSI. Hal ini dikarenakan *Fusarium* sp. yang diteliti merupakan jamur endofit yang bersifat patogenik dan infeksiya tidak menimbulkan gejala serangan. Kondisi ini berlangsung lama hingga akhirnya gejala muncul dikarenakan terjadinya perubahan kondisi

lingkungan atau ketika tanaman berada di bawah tekanan (Agrios, 2005).

Kejadian dan Penekanan Penyakit Hawar Kecambah Benih Tomat

Perendaman benih tomat dengan menggunakan bakteri antagonis *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) mampu menghambat perkembangan penyakit hawar kecambah benih di semua perlakuan yang diuji. Data kejadian dan penekanan penyakit disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kejadian dan penekanan penyakit hawar kecambah benih tomat pada 7 HSI

Kode	Perlakuan	Kejadian penyakit (%)	Penekanan (%)
A	<i>B. subtilis</i>	6,7 a	77,8
B	<i>B. subtilis</i> + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	10,0 ab	66,7
C	<i>B. subtilis</i> + <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	16,7 abc	44,4
D	Serat Karbon 80 mesh	26,7 bc	11,1
E	Silika Nano 1%	16,7 abc	44,4
F	Fungisida mankozeb	0,0 a	100
G	Kontrol diinokulasi Fol	30,0 c	-
H	Kontrol tidak diinokulasi Fol	0,0 a	-

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada tiap kolom menunjukkan pengaruh berbeda nyata menggunakan Uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Perlakuan A (*B. subtilis*) menunjukkan persentase penekanan tertinggi terhadap perkembangan penyakit hawar kecambah benih, yaitu sebesar 77,8%. *Bacillus subtilis* dapat menekan perkembangan penyakit secara langsung maupun tidak langsung. Lebih lanjut Suriani dkk. (2018) menyatakan bahwa secara langsung, *B. subtilis* memproduksi senyawa toksin yang berbahaya bagi patogen dan secara tidak langsung melalui induksi ketahanan tanaman dengan cara menekan jumlah koloni patogen di sekitar perakaran. Hasil penelitian Suriani dan Muis (2016) menunjukkan bahwa *B. subtilis* BG03 yang diaplikasikan pada benih akan mengolonisasi akar tanaman sehingga patogen penyebab penyakit akan tertekan.

Perlakuan B (*B. subtilis* + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%) menghambat perkembangan penyakit hawar kecambah benih dengan persentase penekanan sebesar 66,7%, lebih rendah dibandingkan perlakuan A (*B. subtilis*). Hal ini diduga karena serat karbon menjadi faktor predisposisi yang menyebabkan inang menjadi lemah. Predisposisi merupakan faktor non-genetik yang memengaruhi kerentanan suatu tanaman terhadap penyakit (Schoeneweiss, 1975). Selain itu, hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa perendaman benih dengan suspensi serat karbon menyebabkan permukaan kulit terluar benih tertutupi oleh serat karbon, dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Serat karbon menutupi permukaan kulit terluar benih.

Perlakuan C (*B. subtilis* + *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%) menunjukkan kejadian penyakit yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol inokulasi Fol. Menurut Mursyidi (2018), kondisi ini diduga karena silika nano memiliki sifat antimikroba bagi *Lysinibacillus* sp. (CK U₃). Adams *et al.* (2006) menyatakan bahwa beberapa partikel nano seperti titanium dioksida (TiO₂), zink oksida (ZnO) dan silikon dioksida (SiO₂) mampu menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat toksik bagi bakteri, baik bakteri gram positif ataupun negatif. Hal ini didukung oleh penelitian Hersanti dkk. (2017) yang menunjukkan bahwa terjadi penurunan kerapatan populasi *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dalam campuran serat karbon 80 mesh dan silika nano 3% pada masa penyimpanan 36 jam.

Pertumbuhan Kecambah Benih Tomat

Komponen pertumbuhan yang diamati terdiri dari daya berkecambah, tinggi, panjang akar, dan jumlah kecambah benih yang mengeluarkan daun lembaga (kotiledon). Benih tomat yang digunakan

adalah benih varietas Mutiara berasal dari Balitsa, daya berkecambahnya sebesar 84%, kemurnian 100% dan kadar air 7,9. Data hasil pengamatan daya berkecambah dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Daya berkecambah benih tomat

Kode	Perlakuan	Daya Berkecambah (%)
A	<i>B. subtilis</i>	97 a
B	<i>B. subtilis</i> + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	100 a
C	<i>B. subtilis</i> + <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%	100 a
D	Serat Karbon 80 mesh	100 a
E	Silika Nano 1%	100 a
F	Fungisida mankozeb	100 a
G	Kontrol diinokulasi Fol	100 a
H	Kontrol tidak diinokulasi Fol	100 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada tiap kolom menunjukkan pengaruh berbeda nyata menggunakan Uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa aplikasi formulasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap daya berkecambah benih. Akan tetapi, semua perlakuan memiliki persentase perkecambahan di atas 95%, lebih tinggi dibandingkan dengan daya kecambah di deskripsi varietas. Peningkatan ini diduga karena semua benih terlebih dahulu diberi perlakuan air panas sebelum dilakukan pengujian. Perlakuan air panas dapat menurunkan fase dormansi suatu benih sehingga persentase perkecambahan benih meningkat (Zanzibar, 2017). Meskipun demikian, benih tetap

terinfeksi oleh Fol sehingga pertumbuhan kecambahnya terhambat.

Hasil pengamatan tinggi kecambah benih tomat menunjukkan bahwa penggunaan *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) mampu meningkatkan tinggi kecambah di beberapa perlakuan. Namun, hal ini tidak terjadi pada pengamatan panjang akar dan jumlah kecambah benih yang mengeluarkan daun lembaga. Terlihat dari hasil uji statistik yang menunjukkan bahwa aplikasi formulasi tidak berpengaruh pada kedua komponen pertumbuhan tersebut. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komponen pertumbuhan kecambah benih tomat pada 10 HSS

Kode	Perlakuan	Tinggi kecambah (cm)	Panjang akar (cm)	Jumlah kecambah berdaun
A	<i>B. subtilis</i> diinokulasi Fol	0,9 e	4,4 b	0 c
B	<i>B. subtilis</i> + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1% diinokulasi Fol	2,8 ab	6,4 b	0 c
C	<i>B. subtilis</i> + <i>Lysinibacillus</i> sp. (CK U ₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1% diinokulasi Fol	2,5 b	6,3 b	0 c
D	Serat Karbon 80 mesh diinokulasi Fol	1,7 d	5,6 b	0 c
E	Silika Nano 1% diinokulasi Fol	2,7 ab	5,9 b	1 c
F	Fungisida mankozeb diinokulasi Fol	3,2 a	9,2 a	10 a
G	Kontrol diinokulasi Fol	1,9 cd	5,8 b	0 c
H	Kontrol tidak diinokulasi Fol	2,4 bc	6,2 b	6 b

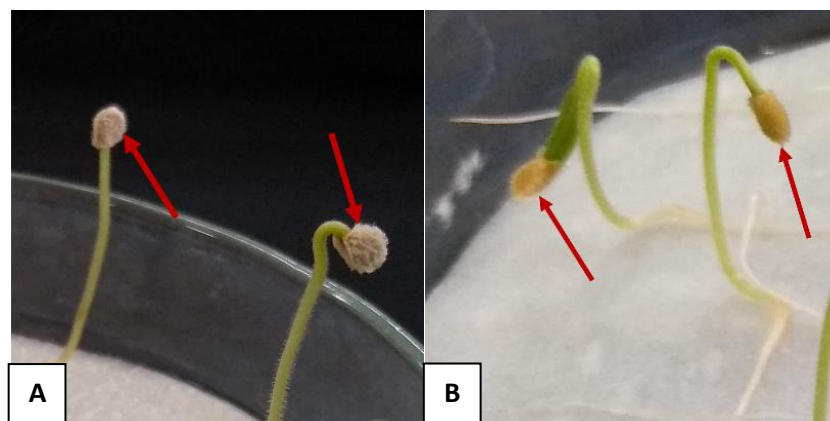
Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada tiap kolom menunjukkan pengaruh berbeda nyata menggunakan Uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa rata-rata tinggi kecambah benih pada setiap perlakuan cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol inokulasi Fol, kecuali pada perlakuan A (*B. subtilis*) dan perlakuan D (Serat Karbon 80 mesh). Selain itu, benih yang diaplikasikan formulasi B (*B. subtilis* dalam Serat Karbon 80 mesh dan Silika Nano 1%) menunjukkan nilai rata-rata tinggi yang lebih besar jika dibandingkan dengan formulasi lainnya. Hal ini dikarenakan bakteri dapat memanfaatkan sumber karbon dalam formulasi sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya (Yelti dkk., 2014). Sementara itu, silika nano dapat mendukung pertumbuhan tanaman dengan cara meningkatkan fotosintesis dan resistensi terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Balai Penelitian Tanah, 2010).

Perlakuan *B. subtilis* tunggal tidak efektif dalam meningkatkan tinggi kecambah benih. Hal ini diduga karena aplikasi formulasi hanya dilakukan saat perendaman benih, sehingga populasi bakteri

dari hari ke hari semakin menurun. Penurunan populasi juga diakibatkan karena adanya kompetisi antar bakteri dalam memperoleh nutrisi (Yelti dkk., 2014). Berbeda dengan formulasi campuran yang menyediakan serat karbon sebagai nutrisi bagi pertumbuhannya, nutrisi bagi *B. subtilis* dalam formulasi tunggal tidak tersedia.

Perlakuan benih dengan *B. subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) tidak efektif dalam pembentukan daun lembaga, sama halnya dengan perlakuan kontrol inokulasi Fol. Namun, dalam kondisi normal (kontrol tanpa inokulasi Fol) sebanyak enam dari sepuluh kecambah benih mampu mengeluarkan daun lembaga pada 5 HSS. Bahkan pada perlakuan fungisida, semua kecambah benih berhasil mengeluarkan daun lembaga. Hal ini menunjukkan bahwa miselia Fol yang menempel pada permukaan kulit luar benih (testa) menyebabkan terhambatnya daun lembaga untuk keluar, dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Miselia Fol menghambat proses keluarnya daun lembaga.

(A) Kulit terluar benih yang ditumbuhi miselia Fol pada perlakuan *B. subtilis* + *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) + Serat Karbon 80 mesh + Silika Nano 1%.

(B) Kulit terluar benih yang bebas dari miselia Fol pada perlakuan kontrol tanpa inokulasi.

Hasil penelitian secara keseluruhan menunjukkan bahwa isolat *B. subtilis* dalam campuran serat karbon dan silika nano berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen pengendali hayati patogen Fol pada kecambah benih tomat. Mempertimbangkan tingkat penekanan terhadap perkembangan penyakit dan efeknya terhadap pertumbuhan, aplikasi formulasi dapat dilanjutkan pada saat penanaman di lapangan untuk mengetahui keefektifannya secara langsung pada tanaman.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *B. subtilis* dalam serat karbon dan silika nano mampu menghambat pertumbuhan koloni Fol secara *in vitro* sebesar 59,49% dan menekan perkembangan penyakit hawar kecambah benih pada tomat yang disebabkan oleh Fol sebesar 66,7%.

Saran

Penelitian ini hanya menguji formulasi terhadap serangan Fol pada fase kecambah benih

tomat sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuannya dalam menekan serangan Fol pada tanaman tomat di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Ir. Hanudin dari Balai Penelitian Tanaman Hias (BALITHI) Cianjur yang telah memberikan isolat *B. subtilis*, Ir. Noor Istifadah, M.CP., Ph.D. yang telah memberikan isolat *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dan Pusat Riset Institusi Nano Teknologi dan Graphene (PRINT-G) Universitas Padjadjaran yang telah membuat suspensi serat karbon dan silika nano.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, LK, DY Lyon, and PJJ Alvarez. 2006. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Research*. 40(19): 3527-3532.
- Agrios, GN. 2005. *Plant pathology*. 5th ed. Elsevier, Academic Press, London.
- Balai Penelitian Tanah. 2010. Mengenal silika sebagai unsur hara. *War. Penelit. dan Pengemb. Pertan*. 32(3): 19-20.
- Budianto dan H Suprastyani. 2017. Aktivitas antagonis *Bacillus subtilis* terhadap *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Veteriner*. 18(3): 409-415.
- Dhingra, OD, and JB Sinclair. 1995. *Basic Plant pathology Methods*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Ditta, A. 2012. How helpful is nanotechnology in agriculture? *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol*. 3(3): 1-10.
- Harviana, KS. 2018. Kemampuan *Bacillus subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. dalam silika nano dan serat karbon untuk mengendalikan penyakit hawar daun [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] pada tanaman kentang. [Skripsi]. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Hersanti, RT Rupendi, A Purnama, Hanudin, B Marwoto, dan O Gunawan. 2009. Penapisan beberapa isolat *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. *Jurnal Agrikultura*. 20(3): 198-203.
- Hersanti, A. Susanto, N. Istifadah, dan W.R. Pawestri. 2017. Keefektifan bakteri *Lysinibacillus* sp. dalam formula silika nano dan serat karbon untuk menekan perkembangan *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro*. Abstrak. Seminar Nasional Kongres XXIV Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Kendari, 3-5 Oktober 2017.
- Ignjatov, M, D Milošević, Z Nikolić, J Gvozdanović-varga, D Jovičić, and G Zdjelar. 2012. *Fusarium oxysporum* as causal agent of tomato wilt and fruit rot. *Pestic. Phytomed.* (Belgrade). 27(1): 25-31.
- Larran, S, M Pilar, S Siurana, J Roselló, M Rosa, and A Perelló. 2018. *Fusarium sudanense*, endophytic fungus causing typical symptoms of seedling blight and seed rot on wheat. *J. King Saud Univ.Sci.*: 1-7.
- Ma, JF, S Goto, K Tamai, and M Ichii. 2001. Role of root hairs and lateral roots in silicon uptake by rice. *Plant Physiol*. 127: 1773-1780.
- Mursyidi, M. R. 2018. Kemampuan *Bacillus subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. dalam serat karbon dan silika nano untuk menekan *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro*. [Skripsi] Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Pramono, AE. 2012. Karakteristik Komposit Karbon-karbon Berbasis Limbah Organik Hasil Proses Tekan Panas. [Disertasi]. Universitas Indonesia. Depok.
- Ruhyaman, RR. 2017. Viabilitas Bakteri *Bacillus subtilis* PGPR dalam Formulasi Serat Karbon 80 Mesh dan Nano Silika serta Kemampuannya Menekan Pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* secara *In Vitro*. [Skripsi]. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Schoeneweiss, DF. 1975. Predisposition, stress, and plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol*. 13: 193-211.
- Singh, RK, DP Kumar, MK Solanki, P Singh, AK Srivastva, S Kumar, PL Kashyap, AK Saxena, PK Singhal, and DK Arora. 2012. Optimization of media components for chitinase production by chickpea rhizosphere associated *Lysinibacillus fusiformis* B-CM18. *J. Basic Microbiol*. 52: 1-10.
- Suriani, N Djaenuddin, dand A Muis. 2018. Efikasi formulasi *Bacillus subtilis* terhadap pengendalian penyakit busuk batang *Fusarium* pada tanaman jagung. *Penelit. Pertan. Tanam. Pangan* 2(3): 191-197.
- Suriani, dan A Muis. 2016. Prospek *Bacillus subtilis* sebagai agen pengendali hayati patogen tular tanah pada tanaman jagung. *J. Penelit. dan Pengemb. Pertan*. 35(1): 37-45.

- Syahida, KQ. 2016. Induksi ketahanan tanaman kentang terhadap penyakit bercak kering (*Alternaria solani* Sor.) oleh bakteri endofit asal ubi dan akar kentang. [Thesis] Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Yelti, SN, D Zul, dan BL Fibriarti. 2014. Formulasi biofertilizer cair menggunakan bakteri pelarut fosfat indigenus asal tanah gambut Riau. JOM FMIPA. 1(2): 651–662.
- Zanzibar, M. 2017. Tipe dormansi dan perlakuan pendahuluan untuk pematangan dormansi benih balsa (*Ochroma bicolor* Rowlee). Perbenihan Tanaman Hutan. 5(1): 51–60.