

## MULTI ANTAGONIS *Streptomyces* sp. (Tomat Pare) TERHADAP LALAT BUAH DAN *Fusarium* sp. PENYEBAB LAYU TOMAT *IN VITRO*

Multiantagonis *Streptomyces* sp. (Tomato Pare) for Fruit Flies and *Fusarium* sp. Cause Wilt Tomato In Vitro

Penta Suryaminarsih<sup>1)</sup>, Wiwik Sri Harjani<sup>1)</sup>, Safri<sup>2)</sup> dan Bicha<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Jawa Timur

<sup>2)</sup> Alumni Program Studi Agroteknologi, UPN Veteran Jawa Timur

### ABSTRAK

Kosentrasi dan dosis agens hayati merupakan hal yang sangat penting sehingga dapat diberikan dosis dan kosentrasi biosida. *Streptomyces* sp. yang berasal dari lahan tomat di Pare Kediri memiliki kemampuan produksi kitin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui multiantagonis *Streptomyces* sp. hasil isolasi dan seleksi dari lahan tomat di Pare menghambat perkembangan koloni *Fusarium oxisporun* penyebab penyakit layu tomat pada kondisi *in vitro* dan persentase kematian pupa terhadap lalat buah. Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak lengkap dengan perlakuan 5 tingkat kerapatan spora ( $10^1, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5$ ). Masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Parameter pengamatan meliputi kerapatan spora, persentase kematian lalat buah, daya hambat terhadap koloni jamur *Fusarium oxysporum*, Pada kerapatan sel bakteri *streptomyces* sp mencapai  $127 \times 10^{-1}$  potensi agens hayati tersebut hanya mampu mematikan 30% dan memperpanjang stadia pupa lebih lama 1 hari. Namun demikian pada penelitian berikutnya agens hayati ini mampu menghambat hingga 60%. *Streptomyces* sp dari tomat Pare kurang mapu menghambat koloni *Fusarium* sp. daya hambat *Streptomyces* sp hanya 43 %, Jika dicampur dengan *Trichoderma* sp. mampu menghambat hingga 55%

Kata Kunci Antagonis, parasit, kerapatan spora

### ABSTRACT

Concentration and dose of biological agents is very important so that it can be given a dose and concentration of biocide. *Streptomyces* sp. derived from tomato fields in Pare has the ability produksi chitin. This study aims to mengetahui multiantagonis *Streptomyces* sp. the result of the isolation and selection of tomato fields in Pare hinder the development of colonies of *Fusarium* wilt disease of tomato *oxisporun* cause the condition *in vitro* and the percentage of dead pupae against fruit flies. The study was designed using a complete randomized design with five treatments spore density ( $10^1, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5$ ). Each treatment was repeated 5 times. Parameters include the observation of spore density, percentage of dead fruit flies, inhibitory effect on colonies of *Fusarium oxysporum*, In *Streptomyces* sp bacterial cell density reached  $127 \times 10^{-1}$  potential biological agent is only able to kill 30% and extend the pupa stage more than 1 day. However, in subsequent studies biological agent is able to inhibit up to 60%. *Streptomyces* sp of tomato Pare less mapu menghambat colonies of *Fusarium* sp. *Streptomyces* sp inhibition of only 43%, if mixed with *Trichoderma* sp. h ingga able to inhibit 55%

Keywords antagonists, parasites, spore density

## PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi mikroorganisme tanah sebagai agens hayati pada saat ini, sudah sampai pada tataran aplikasi, dengan harapan dapat mengefisienkan sumber daya alam, konservasi dan pelestarian lingkungan, serta menghasilkan produk pertanian yang lebih murah dan sehat. Oleh karena itu dalam menghadapi perdangan bebas dunia kebutuhan akan pengendalian hayati semakin berkembang seiring meningkatnya kebutuhan akan makanan organik dan kebutuhan pestisida yang aman di bidang pertanian, kehutanan dan lanskap urban.

Aplikasi pengendalian hayati juga telah dilaksanakan dalam sistim pertanian berkelanjutan pada tanaman (SPBT) yang memiliki nilai ekonomis khususnya penyakit tanaman dan beberapa serangan hama. Variasi metode pengendalian hayati diperlukan untuk diaplikasikan pada kondisi yang berbeda dan penyakit yang berbeda pada SPBT untuk mendapatkan produk yang sehat. Pemanfaatan mikroorganisme yang memiliki kemampuan multiantagonis terhadap Hama dan penyakit tanaman akan merupakan penemuan yang dapat mengurangi penggunaan pestisida dan pupuk kimiawi.

Di antara genus lainnya, *Streptomyces* merupakan genus yang paling banyak dan selama ini dikenal mempunyai nilai ekonomi yang tinggi (Onanong, *et al.*, 2002). Pemberian *Streptomyces* spp. pada tanaman tomat menunjukkan rata-rata pertumbuhan lebih tinggi, jumlah buah dan bunga lebih banyak dibandingkan perlakuan tanpa agens hayati. *Streptomyces* spp. Juga dapat menghambat dan mengurangi serangan *F.oxysporum* pada tanaman tomat (Suryaminarsih dan Mujoko 2014). Beberapa agens hayati ini juga dapat mengendalikan lalat buah. Hasil penelitian fundamen tahun 2014-2015 menunjukkan bahwa uji di laboratorium, *Streptomyces* spp dari lahan tomat pare (Atp) , *Streptomyces* spp dari Merubetiri 1 dan 2 (Amb1 dan Amb2) menghasilkan kitin dan mampu memparasit larva dan pupa lalat buah serta menghambat hingga 100 %. Di lapang aplikasi Actinomycetes Atp, Amb 1 dan Amb 2 pada tanaman tomat lebih dapat mengendalikan lalat buah dibandingkan aplikasi pada tanaman cabai. Persentase serangan lalat buah pada tanaman tomat dengan pemberian Atp  $10^3$  tidak terjadi serangan lalat buah.

Uji toksitas akurat kematian hama lalat buah 50% (LD 50) dan daya antagonis terhadap penyakit tanaman merupakan parameter yang sangat penting sehingga dapat diberikan dosis dan kosentrasi biosida *Streptomyces* spp. pada tanaman yang efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui LD50 beberapa *Streptomyces* spp. hasil

isolasi dan seleksi yang mampu menghasilkan kitinolitik dan mampu menghambat perkembangan koloni *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu tomat pada kondisi *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

### Menyiapkan suspensi *Streptomyces* spp.

Membuat suspensi agensia hayati dengan metode pengenceran sebagai berikut: Membuat suspensi agensia hayati dengan metode pengenceran, Menyiapkan suspensi agen biologi, 2 blok ( masing masing 5 mm) kultur bakteri Actinomycetes (14 hari) kedalam 10 mL air steril pada tabung reaksi,

- (a) Selanjutnya tabung berisi mikroorganisme tersebut divortek dengan kecepatan tinggi selama 2 menit. Masing masing suspensi yang didapat dilakukan penyaringan dengan kertas Whatman.
- (b) Diambil 1 mL disuspensikan lagi kedalam 9 mL air distilata (sampai pengenceran  $10^5$ ), divorteks selama 1 menit.
- (c) Kerapatan spora bakteri Actinomycetes diamati dengan metode tuang kocok yaitu 1 mL suspensi awal dimasukkan pada 9 mL media GNA cair 40° C, divortek dan dituang pada petri steril, selanjutnya dihitung dan diamati koloni yang tumbuh setelah diinkubasi selama 10 hari.

### Menyiapkan Jamur Pathogen *Fusarium*

Metode yang digunakan untuk isolasi *F. oxysporum* adalah perangsangan spora dari bahan segar (Sastrahidayat, 1994) , patogen tersebut diisolasi dari batang tanaman tomat dari lapang (Kecamatan Wajak-Malang) yang terserang layu fusarium. Bagian batang tanaman yang sakit dibersihkan, kemudian disterilkan dengan alkohol 70%, selanjutnya dikering anginkan, lalu disayat kulitnya dengan scalpel. Sayatan tersebut kemudian diinokulasikan pada medium PDA. Jamur patogen yang tumbuh, diisolasi dan dimurnikan, kemudian jamur *F. oxysporum* yang sudah murni diperbanyak pada media PDA.

### Uji Antagonis agens hayati terhadap *F. oxysporum*

Menyiapkan media PDA pada cawan petri dan dibuat sebuah lubang menggunakan *bor cutter* 0,5 cm. Masing masing suspensi agensia hayati perlakuan diambil 0,33 cc dengan menggunakan mikropipet selanjutnya diteteskan pada lubang (sumur) yang telah dibuat. Kemudian meletakkan koloni *F. oxysporum* umur 14 hari berdiameter 0,5 cm, di hadapan suspensi agensia hayati yang sudah diinokulasikan di

lubang sumur dengan jarak 5 cm. Masing masing perlakuan disimpan secara acak pada suhu kamar selama 8 hari.

### **nPengamatan**

Pengamatan uji antagonis dilakukan pada pertumbuhan koloni patogen dengan cara mengukur diameter koloni *F. oxysporum* setiap hari (pengamatan dihentikan setelah patogen menyentuh tepi Petri). Daya hambat dihitung dengan rumus (Van den Heuvel, 1970):

$$DI = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100\%$$

di mana : DI = persentase penghambatan, Dc = diameter kontrol dan Dt = diameter yang terhambat.

### **Pembiakan Lalat Buah**

Pupa lalat buah didapat dari *host rearing* atau dari inang tanaman. Inang yang digunakan yakni buah-buah yang terserang lalat buah seperti jambu air, belimbing, dsb. *Host rearing* menggunakan tanah yang telah disterilkan dan diletakkan pada botol vial yang telah ditutup kain kassa. Kemudian ditunggu selama 6-8 hari sampai pupa lalat buah terbentuk. Larva lalat buah akan melenting menuju tanah di bawahnya untuk pembentukan pupa. Sebelumnya tanah tersebut sudah diperlakukan sesuai dengan perlakuan pada penelitian ini. Setelah 6-8 hari, tanah tersebut dikeluarkan dan dipilah menggunakan kuas untuk mengambil pupa lalat buah.

Selanjutnya pupa-pupa tersebut ditempatkan pada botol pembiakan lalat buah. Setiap botol diletakkan 10 pupa lalat buah. Pupa tersebut akan diberikan perlakuan agensia hayati sesuai dengan pengenceran yang berbeda-beda. Pengamatan yang dilakukan yakni lama pupa menetas menjadi imago. Pada normalnya, pupa akan menetas menjadi imago dalam waktu kurang lebih 1 minggu

### **Persiapan Pembiakan Lalat Buah**

Pupa lalat buah didapat dari *host rearing* atau dari inang tanaman. Inang yang digunakan yakni buah-buah yang terserang lalat buah seperti jambu air, belimbing, dsb. *Host rearing* menggunakan tanah yang telah disterilkan dan diletakkan pada botol vial yang telah ditutup kain kassa. Kemudian ditunggu selama 6-8 hari sampai pupa lalat buah terbentuk. Larva lalat buah akan melenting menuju tanah di bawahnya untuk pembentukan pupa. Sebelumnya tanah tersebut sudah diperlakukan sesuai dengan

perlakuan pada penelitian ini. Setelah 6-8 hari, tanah tersebut dikeluarkan dan dipilah menggunakan kuas untuk mengambil pupa lalat buah.

Selanjutnya pupa-pupa tersebut ditempatkan pada botol pembiakan lalat buah. Setiap botol diletakkan 10 pupa lalat buah. Pupa tersebut akan diberikan perlakuan agensia hayati sesuai dengan pengenceran yang berbeda-beda. Pengamatan yang dilakukan yakni lama pupa menetas menjadi imago. Pada normalnya, pupa akan menetas menjadi imago dalam waktu kurang lebih 1 minggu.

Pengamatan yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap daya hidup lalat buah adalah dengan mengukur parameter sebagai berikut : Jumlah pupa menjadi imago. Pupa yang terbentuk pada masing perlakuan ditempatkan ke dalam botol pembiakan serangga. Selanjutnya dihitung jumlah pupa yang menetas menjadi imago, dan mengamati pupa yang tidak menjadi imago (terparasit).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Antagonis terhadap *Fusarium sp. in vitro*

Hasil pengamatan terhadap uji antagonis dalam skala in vitro menunjukkan bahwa diameter koloni rata-rata daya hambat agensia hayati tertinggi pada pemberian agensia hayati *S. Streptomyces* tidak berbeda nyata dengan rata-rata daya hambat agensia hayati .Diameter koloni jamur patogen pada perlakuan control pengamatan pertama sampai pengamatan ke empat menunjukkan nilai yang tertinggi dengan rata rata 2,5 cm, sementara rata rata diameter koloni yang berhadapan dengan agens hayati streptomyces adalah 1,5 cm dengan persentase hambatab 43 %.

Agensia hayati *S. griseorubens*, menghasilkan zona jernih yang cukup luas disekitar jamur patogen *F. oxysporum* pada tempat yang sama. Secara keseluruhan pertumbuhan jamur patogen pada media PDA yang diinokulasi bersama-sama agensia hayati tumbuh lebih kecil dibandingkan pertumbuhannya tanpa diberi agensia hayati. Hal ini karena antibiosis yang juga dihasilkan oleh *Streptomyces* mampu menghambat perkembangan patogen. Dari hasil penelitian sebelumnya (Suryaminarsih, Kusriningrum, nikmatuzahroh dan Surtiningsih 2014) menunjukkan bahwa antibiosis tetap dihasilkan walaupun jumlahnya kecil jika dibandingkan jika dicampur agens hayati yang lainnya seperti terlihat pada table 3 di bawah ini

**Tabel 3. Rata-rata zona hambatan antibiosis filtrat tanah mengandung agensia hayati terhadap *F. oxysporum*.**

Perlakuan	Zona hambatan (cm) pada pengamatan ke-									
	2 HSI		4 HSI		6 HSI		8 HSI		10 HSI	
	Data asli	Data transf	Data asli	Data transf	Data asli	Data transf	Data asli	Data transf	Data asli	Data transf
SGT	0,15	0,80 b	0,33	0,91 a	0,23	0,85 a	0,60	0,85 a	0,95	1,05 a
SG	0,00	0,71 c	0,00	0,71 c	0,00	0,71 b	0,10	0,78 b	0,40	0,78 a
ST	0,00	0,71 c	0,08	0,76 b	0,10	0,79 ab	0,08	0,76 b	0,13	0,76 a
S	0,48	0,99 a	0,10	0,79 b	0,08	0,76 b	0,00	0,71 b	0,18	0,71 a
Kontrol	0,00	0,71 c	0,00	0,71 c	0,00	0,71 b	0,00	0,71 b	0,00	0,71 a

Keterangan : Huruf yang sama disamping angka dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Sedangkan dibandingkan filtrat tanah mengandung agensia hayati tunggal *S. griseorubens*, hanya pada hari pertama, daya hambatnya (zona bersih) lebih tinggi. Filtrat tanah yang mengandung agensia hayati *S. griseorubens*, *G. virens* (SG), mulai hari ke 6 sampai dengan hari ke 10 setelah inokulasi, zona jernih semakin meningkat tajam dan tidak berbeda dengan filtrat tanah yang mengandung tiga agensia hayati *S. griseorubens*, *G. virens* dan *T. harzianum*.

#### Kerapatan Spora *Streptomyces* sp

Perhitungan kerapatan koloni adalah suatu cara yang digunakan untuk menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada suatu media pembiakan. Dilakukannya pengenceran yang berseri dapat membantu memperoleh perhitungan jumlah mikroorganise yang benar. Jumlah koloni yang dihitung dengan metode plate count ini berkisar antara 30-300 koloni (Dwijoseputro, 1998). Metode perhitungan kerapatan koloni yang digunakan yakni metode cawan. Metode perhitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang hidup dapat berkembang menjadi koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan adalah indeks bagi jumlah mikroorganisme yang terkandung dalam sampel pengamatan (Ferdias, 1992).

Hasil penelitian didapatkan bahwa kerapatan spora *Streptomyces* sp. yang digunakan beragam sesuai dengan seri pengenceran yang dilakukan. Semakin tinggi seri pengenceran maka semakin rendah kerapatan spora *Streptomyces* sp. Penghitungan kerapatan spora menggunakan metode tuang kocok, artinya dari suspensi masing-masing seri pengenceran ditumbuhkan di dalam media GNA sebanyak 1 ml. Koloni spora *Streptomyces* sp dihitung dengan menggunakan *hand counter* pada 2 hari setelah tanam. Berikut data dalam tabel kerapatan spora dari masing-masing seri pengenceran.

Suspensi *Streptomyces* sp. tersebut diaplikasikan pada tanah steril yang telah diletakkan pada botol pengamatan. Tanah didalam botol tersebut telah dikondisikan kapasitas lapang agar tidak membuat variabel lainnya berpengaruh pada perlakuan

pengamatan. Suspensi *Streptomyces* sp. dikolonisasikan di dalam tanah selama 14 hari, agar koloni *Streptomyces* sp. telah tumbuh secara maksimal dan dalam umur produktif.

Tabel 2. Kerapatan Koloni *Streptomyces* sp. pada masing-masing seri pengenceran.

Perlakuan	Seri Pengenceran	-	Formula/ml	
			Jumlah koloni	Kerapatan koloni
A	0		400	400 X 10 <sup>0</sup> cfu/ml
B	10 <sup>-1</sup>		337	337 x 10 <sup>-1</sup> cfu/ml
C	10 <sup>-2</sup>		127	127 x 10 <sup>-2</sup> cfu/ml
D	10 <sup>-3</sup>		75	75 x 10 <sup>-3</sup> cfu/ml
E	10 <sup>-4</sup>		53	53 x 10 <sup>-4</sup> cfu/ml

#### Jumlah Pupa Tidak Menetas Menjadi Imago

Jumlah pupa yang tidak menjadi imago diukur dengan menghitung jumlah pupa yang gagal menetas menjadi imago. Kegagalan pupa ini selain terparasit oleh *Streptomyces* sp. juga bisa disebabkan oleh hal-hal lain, seperti kondisi lingkungan yang tidak sesuai untuk pertumbuhan pupa lalat buah. Kondisi lingkungan yang tidak sesuai antara lain suhu, kelembaban udara, intensitas cahaya, atau adanya gangguan dari luar misalkan gangguan manusia. Kondisi di Laboratorium Kesehatan Tanaman diupayakan sesuai dengan kondisi lingkungan yang dikehendaki.

Dengan menghitung jumlah pupa yang tidak menjadi imago diharapkan dapat mengukur tingkat efektivitas *Streptomyces* sp. dalam memparasitasi pupa lalat buah. Dari hasil analisa statistik didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata pada masing-masing perlakuan dari hari kedua sampai hari ke dua belas pengamatan. Sedangkan hasil berbeda nyata didapatkan pada pengamatan hari keempat belas setelah aplikasi (Lampiran). Hasil yang berbeda nyata ini kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5 persen dan menghasilkan nilai BNT yakni 0,60. Berikut hasil analisa statistik parameter jumlah pupa tidak menetas menjadi imago :

**Tabel 2. Rerata Jumlah Pupa yang Tidak Menetas Menjadi Imago Akibat Perlakuan *Streptomyces* sp (14 Hari Setelah Aplikasi).**

No.	Perlakuan	Hari Setelah Aplikasi
		14
1	0	6 e
2	10 <sup>-1</sup>	2 c
3	10 <sup>-2</sup>	3 d
4	10 <sup>-3</sup>	1 b
5	10 <sup>-4</sup>	1 bc
6	Kontrol	0 a
BNT 0,05		0,60

Pada hari kedua pengamatan pupa menunjukkan hasil yang maksimal (10 pupa) dikarenakan pada hari tersebut bukan merupakan umur pupa untuk menetas. Pupa yang dipilih adalah pupa berumur 1 hari yang masih sehat dan normal sesuai dengan metode pelaksanaan penelitian.

Pengamatan hari terakhir (14 hari), pupa yang tidak muncul menjadi imago berkisar antara 1-3 pupa. Pada penampakan pupa secara kasat mata, pupa yang belum menjadi imago menunjukkan hasil yang terparasit oleh beberapa benang mirip spora serta muncul bercak hitam pada bagian ujungnya.

Kondisi lingkungan laboratorium diupayakan steril dan sesuai dengan yang dibutuhkan lalat buah untuk tumbuh. Kondisi lingkungan pengamatan yang dilakukan yakni seragam. Pengukuran suhu dan kelembaban pada laboratorium yakni 24-27° C dan 77-80 persen. Kondisi ini tidak banyak mempengaruhi gagalnya pupa lalat buah menjadi imago. Pada kondisi suhu 26° C dan kelembaban relatif 70% siklus hidupnya dari telur sampai dewasa membutuhkan waktu sekitar 22 hari. Telur membutuhkan satu sampai dua hari untuk menetas, sementara tahapan larva berakhir antara 6-9 hari, dan waktu pupasi lamanya sekitar 8 – 9 hari (Anonim, 1999 dalam Khobir, 2011). Menurut Putra (1997), pupa dari lalat buah jenis *Bactrocera cucurbitae*, *Bactrocera dorsalis* dan *Ceratitis capitata* mempunyai perkembangan yang paling cepat pada tanah dengan kelembaban 90%. Pada suhu 25 – 27° C dan kelembaban relatif sebesar 7 – 90° C menjadi serangga dewasa yang matang seksualnya setelah 8 – 10 hari muncul dari pupa (Anonim, 1999 dalam Khobir, 2011). Sedangkan suhu yang optimum

bagi pertumbuhan *Streptomyces* sp adalah sekitar 25-35° C (Suwandi, 2010). Tetapi beberapa Actinomycetes tumbuh pada suhu 55-65° C, di dalam kompos (Waluyo, 2008). Dari rerata jumlah pupa tidak menjadi imago diatas, kurva rerata jumlah pupa yang tidak menetas menjadi imago menunjukkan hasil penurunan yang drastis.

Pada pengamatan 14 hari setelah aplikasi, jumlah pupa yang tidak menjadi imago terbanyak pada perlakuan tanpa pengenceran yakni 6 pupa. Hal ini karena kerapatan spora *Streptomyces* sp. lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$   $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$ . Kerapatan koloni *Streptomyces* sp yang didapat tidak dapat menjamin tingkat virulensi agensia hayati tersebut. Karena pada seri pengenceran  $10^{-1}$  didapat kerapatan koloni yang lebih rapat jika dibandingkan dengan  $10^{-2}$ . Koloni *Streptomyces* sp yang hidup pada  $10^{-1}$  diduga hanya bersifat sebagai pendekomposer tanah atau hanya tumbuh pada media tanah. Kemampuan virulensi koloni *Streptomyces* sp yang hidup pada  $10^{-1}$  lebih rendah jika dibandingkan dengan  $10^{-2}$ .

## KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. *Streptomyces* sp dengan kerapatan spora lebih dari 400 spora cfu/ml dapat mematikan pupa lalat buah hingga 60 % dan Jamur pathogen *Fusarium oxisporum* 43 %
2. Dosis dan kosentrasi suspensi yang yang tinggi efektif terhadap Larva Lalat Buah *Bractocera* sp. dan Daya antagonis dan terhadap *Fusarium oxisporum*
3. Masih diperlukannya informasi tentang aktifitas produksi kitinase dan hubungannya dengan kerapatan spora dan daya antagonis terhadap hama dan patogen