

# PENGENDALIAN HAYATI *Sclerotium rolfii* Sacc. PADA KEDELAI DENGAN BINUCLEATE *Rhizoctonia*.

Oleh

**HARDJONO SRI GUTOMO**

Staf Pengajar Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian UNS

## ABSTRACT

The research was conducted to study binucleate *Rhizoctonia* as biocontrol agents against *Sclerotium rolfii* Sacc. On soybean seedlings in Laboratory and greenhouse. Nine of 57 isolates were identified as binucleate *Rhizoctonia*. Eight of the nine isolates were non pathogenic and three of them were used in the research as biocontrol agents. The three isolate decreased the disease intensity caused by *S. rolfii* in the greenhouse by 29,17, 14,58 and .41,67 %

*Keywords: Biocontrol, Avirulen, Binucleate Rhizoctonia*

## PENDAHULUAN

Sebagai salah satu sumber protein nabati yang murah, kedelai merupakan salah satu tanaman pangan penting di Indonesia. Meningkatnya konsumsi kedelai ternyata tidak sebanding dengan meningkatnya produksi komoditi ini. Hal ini ditunjukkan dengan semakin meningkatnya impor kedelai. Sebagai akibatnya sumber devisa Negara banyak terkuras. Permasalahan ini semakin terasa dengan terjadinya krisis moneter, dimana nilai rupiah semakin menurun terhadap nilai dolar. Banyak industri temped an tahu yang menggunakan bahan menthe kedelai, menjadi bangkrut. Kelangkaankedelai ini pada akhirnya mengakibatkan harga jual temped an tahu semakin tidak terjangkau oleh masyarakat. Bila tidak segera diatasi, tingkat kesehatan masyarakat Indonesia dikhawatirkan akan semakin buruk karena tidak mampu mengkonsumsi protein nabati.

Berbagai usaha untuk meningkatkan produksi kedelai di dalam negeri sudah mulai dilakukan, baik melalui program ekstensifikasi maupun intensifikasi. Usaha ini akan dapat berhasil dengan baik hanya apabila ditangani secara memadai dengan mempertimbangkan segala aspek baik dari segi agronomi, ekologi, ekonomi maupun sosial budaya.

Pengelolaan hama dan penyakit terpadu (PHT) kedelai adalah salah satu segi agronomi yang harus dipertimbangkan. Kurang waspadanya PHT akan dapat menghancurkan usaha yang telah dirintis. Salah satu penyakit penting yang berkaitan dengan adanya program ekstensifikasi dan intensifikasi kedelai adalah penyakit yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfii*

Sacc. Patogen ini dapat menyebabkan penyakit busuk pangkal batang, akar dan rebah kecambah. Dalam keadaan sangat lembab, cendawan juga dapat menyerang daun, tangkai, dan polong (Somaatmadja et al.,1933). Kehilangan hasil yang dapat ditimbulkan oleh pathogen ini dapat mencapai 30 % (Anonim, 1990)

Penyakit yang disebabkan oleh *S. rolfii* adalah sulit dikendalikan (Agrios, 1988). Hal ini disebabkan karena adanya kultivar yang resisten, sedikitnya fungisida yang efektif dan tidak mencukupi pengendalian secara konvensional. Adanya komitmen untuk mengurangi penggunaan fungisida karena merusak lingkungan dan juga makin mahalnya fungisida, membuat pengendalian pathogen ini semakin sulit dilakukan. Untuk itu diperlukan pengendalian alternative yang dapat memberikan harapan. Pengendalian secara hayati merupakan satu alternative yang harus dipertimbangkan karena bersifat praktis, ekonomi, tidak merusak lingkungan dan dapat menjadi satu kesatuan dalam agroekosistem.

Binucleate *Rhizoctonia* (BNR) sudah banyak diteliti di Negara-negara subtropics seperti Amerika Serikat, Kanada, Negara-negara di Eropa, dan Jepang. Cendawan ini terbukti efektif untuk mengendalikan berbagai macam pathogen pada berbagai tanaman. Namun demikian penelitian terhadap BNR di Negara-negara tropis, terutama Indonesia, belum banyak dilakukan. BNR tersebar luas di seluruh dunia. Dilaporkan tidak ada hubungan antar kelompok BNR dengan letak geografi (Ogoshi, 1985). Spesifikasi BNR terhadap inangnya juga tidak terlihat dalam satu kaidah tertentu, kecuali bahwa CAG-1 dan AG-D yang hanya ditemukan pada Poaceae. BNR dari satu jenis AG mungkin

diisolasi dari berbagai jenis tanaman, dan dari satu inang mungkin dapat diisolasi berbagai AG dan BNR (Martin, 1988).

Insiden dan intensitas penyakit yang disebabkan oleh BNR pada umumnya lebih rendah dari pada yang disebabkan oleh multinukleat *Rhizoctonia*. Isolat-isolat BNR dilaporkan bersifat avirulent atau mempunyai virulensi yang sangat rendah (Rush et al., 1994, Kardin, MK, 1997). Banyak studi mengenai BNR yang mengindikasikan bahwa cendawan ini sangat berpotensi sebagai agen pengendali hayati pada berbagai tanaman seperti kedelai, kapas, kentang dan padi. Cardoso dan Echandi (1987) melaporkan bahwa tiga dari 11 isolat BNR yang diteliti secara nyata mampu mengurangi insiden penyakit yang disebabkan *R. solani* pada snapbean sampai dengan 40 % dibandingkan dengan control. Harris et al., (1993) melaporkan bahwa tiga dari delapan isolate BNR mampu mengurangi keparahan penyakit pada cabe yang disebabkan oleh *Phytophthora ultimum* var. *sporangiferum* di rumah kaca dan growth chamber.

Pengendalian terhadap penyakit kanker *Rhizoctonia* pada kentang dengan menggunakan BNR telah dilaporkan oleh Escande dan Echandi (1991). Pengendalian penyakit ini berhasil dengan memuaskan baik pada penelitian di rumah kaca maupun di lapang yang diinfestasi pathogen maupun adanya infestasi secara alami. Oleh karena itu, demi keberhasilan peningkatan produksi kedelai pada khususnya dan tanaman pangan pada umumnya, penelitian BNR sebagai agen pengendali hayati sangat perlu dilakukan di Indonesia

## BAHAN DAN METODE

### 1. Isolasi, karakterisasi dan uji patogenitas BNR.

BNR diisolasi dari berbagai daerah di Jawa Tengah (Wonogiri, Boyolali, Karanganyar dan Demak) pada berbagai ketinggian tempat. Isolasi dilaksanakan pada berbagai macam varietas kedelai dan tanaman gulma sekitarnya yang menunjukkan gejala penyakit dengan intensitas penyakit yang sangat ringan. Bagian tanaman yang menunjukkan gejala penyakit ini dipotong kecil-kecil (0,5 x 0,5 cm), permukaannya disterilisasi dengan menggunakan 0,1 % mercuric chloride solution selama 20 detik, dicuci dengan aquadest selama satu menit, kemudian diletakkan pada Agar Kentang Gula (AKG) Difco dalam cawan petri dengan diameter

5 cm. Petri kemudian diinkubasikan selama 2-3 hari.

Sepotong kecil agar yang mengandung hipa bagian tepi dipindahkan ke agar miring. Pengamatan dilaksanakan setelah hipa berumur 2 minggu. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop cahaya. Pewarnaan nuklei dilakukan dengan teknik Giemsa-HCL. Hipa dengan sekat dolipore, dengan cabang yang mendekati septa, adanya hipa yang mengecil dekat percabangan, tidak adanya clamp connections dan konidia, sklerotia tidak terdeferensiasi sebagai rind dan medulla dan tidak adanya rhizomorphs dan mempunyai dua inti akan diidentifikasi sebagai BNR. Pengukuran kecepatan pertumbuhan dilakukan di dalam cawan petri diameter 9 cm berisi AKG selama 3 hari pada 3 macam suhu yaitu 15 °C, 25 °C dan 35 °C.

Jamur yang teridentifikasi sebagai BNR, kemudian diuji patogenitasnya ke berbagai kultivar kedelai. Pengujian dilakukan terhadap kecambah kedelai yang berumur 3 hari di dalam petridish yang berisi AKG dan biakan BNR. Intensitas penyakit diamati 7 hari setelah inokulasi dan dihitung dengan menggunakan 5 kategori dengan rumus :

$$I = \frac{\sum (n.v)}{N.Z} \times 100 \%$$

Keterangan :

- I = Intensitas penyakit
- N = Jumlah tanaman yang diamati
- Z = Nilai kategori infeksi tertinggi
- n = Jumlah tanaman dengan nilai kategori tertentu
- v = Nilai kategori infeksi tertentu

Nilai kategori infeksi ditentukan sebagai berikut; 0 = kecambah sehat, 1 = satu bercak dengan ukuran diameter kurang dari 1 mm, atau bercak melingkar kurang dari 20 %, 2 = satu bercak dengan ukuran diameter 2-3 mm, atau 2 atau lebih bercak dengan ukuran diameter kurang dari 1 mm, atau bercak melingkar sebesar 20-40 %, 3 = satu bercak dengan ukuran diameter 2-3 mm, atau 2-3 bercak dengan ukuran diameter 1-2 mm, atau bercak melingkar sebesar 40-60 %, 4 = dua sampai tiga bercak dengan ukuran diameter 2-3 mm, atau lebih dari tiga bercak dengan ukuran diameter 1-2 mm, atau bercak melingkar sebesar 60-80 %, 5 = lebih dari 3 bercak dengan ukuran diameter 2-3 mm, atau 80-100 % bercak melingkar, atau kecambah mati.

Pengamatan dilakukan setelah 2 minggu dari saat inokulasi. Isolat yang menunjukkan

avirulent atau hanya menyebabkan penyakit dengan gejala yang sangat ringan (skala 0-1) akan diuji kemampuannya sebagai agen pengendali hayati terhadap *S. rolfsii*.

## 2. Pengujian BNR sebagai agen pengendali hayati terhadap *S. rolfsii* in-vitro di laboratorium dan in-vivo di rumah kaca.

Pengujian BNR sebagai agen pengendali hayati in-vivo disusun dengan Rancangan Acak Lengkap, dengan empat perlakuan yaitu (i). Inokulasi dengan *S. rolfsii*, (ii). Inokulasi dengan BNR (iii). Inokulasi dengan *S. rolfsii* dan BNR, dan (iv) kontrol.

Pengujian in-vitro dilakukan dengan menumbuhkan BNR dan *S. rolfsii* yang patogenis terhadap kedelai yang telah dikoleksi sebelumnya pada Agar Kentang Gula (AKG) dalam cawan petri berukuran 9 cm dengan jarak 2 cm. Pengamatan dilakukan baik pada saat kedua hipa bertemu maupun setelah biakan berumur satu minggu. Dari kedua biakan dalam satu cawan petri tadi diamati apakah terjadi hiperparasitisme, penghambatan pertumbuhan, antibiosis maupun antagonisme.

Pengujian in-vivo dilakukan dengan cara memperbanyak biakan BNR dan *S. rolfsii* pada sekam padi yang sudah disterilkan. Kedua biakan dengan umur 3 minggu sebagai berikut, kemudian dicampurkan dengan tanah dalam pot plastik berukuran 5 lt, dimana masing-masing pot berisi 20 gr biakan BNR dan 20 gr biakan *S. rolfsii* dan 5 kg tanah. Pada kontrol, pot hanya berisi 5 kg tanah, 20 gr biakan *S. rolfsii* dan 20 gr sekam padi yang steril (tanpa BNR). Benih ditanamkan tanah sedalam 5 cm dari permukaan tanah. Pengamatan intensitas penyakit diukur setiap 3 minggu sekali dengan menggunakan rumus intensitas penyakit yang sama namun dengan penentuan kategori sebagai berikut: 0 = tanaman sehat, 1 = satu bercak dengan ukuran diameter kurang dari 2 mm, atau bercak melingkar kurang dari 20 %, 2 = satu bercak dengan ukuran diameter 3-5 mm, atau 2 atau lebih bercak dengan ukuran diameter kurang dari 2 mm, atau bercak melingkar sebesar 20-40 %, 3 = satu bercak dengan ukuran diameter 6-10 mm, atau 2-3 bercak dengan ukuran diameter 3-5 mm, atau bercak melingkar sebesar 40-60 %, 4 = dua sampai tiga bercak dengan ukuran diameter 6-10 mm, atau lebih dari tiga bercak dengan ukuran diameter 3-5 mm, atau bercak melingkar sebesar 60-80 %, 5 = lebih dari 3 bercak dengan ukuran diameter 6-10 mm, atau 80-100 % bercak melingkar, atau kecambah mati

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Isolasi, karakterisasi BNR dan Uji Patogenisitas.

#### a. Isolasi dan Karakterisasi BNR.

Dari 43 tanaman sampel yang menunjukkan gejala penyakit dengan intensitas penyakit yang ringan (berkisar antara 1 sampai dengan 10 %) telah berhasil diisolasi 9 isolat yang menunjukkan ciri-ciri sebagai binucleate Rhizoctonia.

Isolat-isolat tersebut dengan secara visual biakannya terlihat berwarna hialin sampai coklat muda. Di bawah mikroskop binokuler, akan terlihat adanya septa dolipore dan mempunyai percabangan hipa ada di dekat pangkal septa dan sel-sel pada hipa vegetatif muda. Selanjutnya terjadi penciutan dari cabang dan pembentukan septa pada titik ujung asal hipa, tidak mempunyai clamp connections dantidak mempunyai konidia. Sklerotia yang terbentuk setelah cendawan berumur cukup tua, tidak terdeferensiasi menjadi rind dan medulla. Adapun 9 isolat tersebut adalah BnSP1, BnSP2, BnSP3, BnSP4, BnSP5, BnSP5, BnSP7, BnSP8, BnSP9. Selain itu dari tanaman cabe yang sakit, telah berhasil diisolat *Sclerotium rolfsii*. Ketiga isolat tersebut adalah SrSP1, SrSP2, dan SrSP3.

Berhasil diisolasinya isolat-isolat BNR dalam jumlah yang cukup banyak (9 isolat) adalah suatu hal yang sangat menggembirakan. Hal ini karena disebabkan oleh mudahnya isolat in untuk terkontaminasi oleh mikrobia lain dan juga sedikitnya populasi BNR di lapang. Hal ini juga berarti bahwa ada harapan untuk mengembangkannya sebagai agen pengendali hayati. Cendawan ini dapat dibedakan dari multinucleate Rhizoctonia secara visual dengan melihat warna biakan yang sedikit lebih cerah dan pertumbuhannya yang sedikit lebih lambat. Di bawah mikroskop binokuler, terlihat bahwa BNR mempunyai hipa yang lebih sempit. Secara khusus, bila diwarnai dengan pewarnaan inti, maka jumlah rata-rata intinya hanya dua.

#### b. Uji Patogenisitas BNR.

Hasil pengujian patogenisitas ke sembilan isolat BNR dan ketiga isolat *S. rolfsii* dapat dilihat pada Tabel 1. Selanjutnya isolat BnSP3, BnSP7, dan BnSP9 diuji kemampuannya sebagai agen pengendali hayati karena bersifat avirulen atau bersifat patogenik tapi sangat ringan.

1. Rata-rata Intensitas Penyakit pada kecambah kedelai dalam Petridish.

Nomor Isolat	Identifikasi	Intensitas Penyakit (%)
BnSp1	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	11,43
BnSP2	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	8,57
BnSP3	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	5,71
BnSP4	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	14,29
BnSP5	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	14,29
BnSP6	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	17,14
BnSP7	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	5,71
BnSP8	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	51,43
BnSP9	Binucleate <i>Rhizoctonia</i>	0,00
ScSP1	<i>Sclerotium rolfsii</i>	100
ScSP2	<i>Sclerotium rolfsii</i>	100
ScSP3	<i>Sclerotium rolfsii</i>	100

Hasil uji patogenisitas kesembilan isolat pada tabel 1 menunjukkan bahwa delapan dari sembilan isolat menunjukkan avirulent atau non patogenik. Isolat BnSP9 bahkan tidak menimbulkan gejala sama sekali walaupun cendawan ini langsung diinkubasikan pada media biakan BNR dalam PDA. Hasil ini sesuai dengan apa yang telah dilaporkan oleh Poromarto (1977). Hal ini berbeda dengan ketiga isolat *S. rolfsii* yang mengakibatkan semua kecambah kedelai menjadi mati atau busuk. Cendawan patogenik ini memang dikenal sebagai patogen yang sering membuat masalah, terutama di pembibitan. Patogen ini kemudian dijadikan sebagai patogen yang dicobakan untuk menguji kemampuan BNR sebagai agen pengendali hayati

2. Pengujian BNR sebagai Agen Pengendali Hayati terhadap *S. Rolfsii*

- Pengujian in-vivo di Laboratorium.** Hasil pengujian in-vitro menunjukkan bahwa antara cendawan BNR dan *S. Rolfsii* tidak terjadi hiperparasitisme, penghambatan pertumbuhan, antibiosis maupun antagonisme. Hal ini terlihat baik dari pengamatan visual maupun dengan mikroskop cahaya.
- Pengujian in-vivo di Pot Plastik.** Hasil analisis keragaman pengaruh perlakuan BNR terhadap intensitas penyakit yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii* pada kecambah kedelai dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Analisis keragaman Pengaruh Perlakuan Binucleate *Rhizoctonia* terhadap Intensitas Penyakit pada Kecambah Kedelai oleh *S. rolfsii*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Jumlah Kuadrat Tengah	F. Hitung
Perlakuan	6	14596,43	2432,74	59,66 **
Galat Percobaan	21	856,25	40,77	
Total	27	15452,68		

Tabel 3. Pengaruh perlakuan Binucleate *Rhizoctonia* terhadap Intensitas Penyakit Pada Kecambah Kedelai oleh *S. Rolfsii*

Perlakuan	Rata-Rata Intensitas Penyakit %
Kontrol	0.00 *
<i>S. rolfsii</i> (isolat SrSP1)	60.00
BNR isolat BnSP3	3.75
BNR isolat BnSP7	42.50
BNR isolat BnSP9	3.75
BNR isolat BnSP3 + <i>S. rolfsii</i> (isolat SrSP1)	51.25
BNR isolat BnSP7 + <i>S. rolfsii</i> (isolat SrSP1)	2.50
BNR isolat BnSP9 + <i>S. rolfsii</i> (isolat SrSP1)	35.0
BNT **	9.39

\* = Data perlakuan ini tidak disertakan dalam analisis keragaman.

\*\* = Beda Nyata Terkecil (BNT) ( P-o.005).

Hasil pengujian kemampuan tiga isolat BNR (BnSP3, BnSP7, dan BnSP9) secara in-vivo menunjukkan bahwa cendawan ini mampu menekan perkembangan penyakit yang disebabkan oleh *S. rolfsii*, secara berturut-turut 29,17, 14,58, dan 41, 67 %. Hasil ini kurang mengembirakan bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang mana dalam penelitian tersebut BNR mampu menekan perkembangan penyakit oleh *R. Solani* sebesar 81,97 %. Hal ini mungkin disebabkan karena cara pelepasan BNR yang kurang tepat. Hal ini perlu dikaji lebih lanjut mengenai cara pelepasan BNR dalam tanah secara tepat.

Hasil pengujian "dual cultures" tiga isolat BNR (BnSP3, BnSP7 dan BnSP9) dengan *S. rolfsii* memberikan indikasi bahwa mekanisme pengendalian adalah dengan resistensi yang terinduksi. Apabila hal ini benar, maka diperlukan waktu yang cukup bagi BNR untuk dapat menginduksi resistensi sebelum dapat mengendalikan *S. rolfsii*. Sehingga hal ini dapat menjadi bahan pertimbangan dan masukan dalam penelitian mendatang.

Kurang berhasilnya BNR dalam mengendalikan *S. rolfsii* dalam penelitian ini, mungkin disebabkan karena waktu pelepasan BNR yang tidak tepat. Ini dimungkinkan karena untuk mengendalikan patogen, BNR perlu waktu yang cukup untuk menginfestasi tanaman inang.

## KESIMPULAN

Delapan isolate binucleate *Rhizoctonia* yang bersifat non- patogenik berhasil diisolasi. Tiga isolat yang diuji ( BnSp3, BnSp7 dan BnSP9 ) berhasil menurunkan intensitas penyakit yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii*. Masing-masing berturut-turut 29,17 14,58 dan 41,67%.

Perlu dikaji ulang mengenai cara pelepasan BNR di lapang dan efektifitasnya dalam mengendalikan patogen. Selanjutnya perlu pula dikaji mengenai mekanisme pengendalian agar dapat dikembangkan sistem pengendalian yang lebih efisien dan efektif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios,P. 1988. Plant Pathology. Academic Press, San Diego,CA.
- Anonim. 1990. Petunjuk Bergambar untuk Identifikasi Hama dan Penyakit Kedelai di Kedelai di Indonesia. Puslitbang Tanaman Pangan. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Japan International Cooperation Agency. Bogor.
- Cardoso,J.E. and Echandi,E. 1987. Biological control of *Rhizoctonia* root rot of snap bean with binucleate *Rhizoctonia* like fungi. Plant Dis. 71: 167-170.
- Escande,A.R. and Echandi,E. 1991. Protection of potato from *Rhizoctonia* canker with binucleate *Rhizoctonia* fungi. Plant Pathology. 40: 197-202.
- Haris,A.R. Schisler,D.A, and Ryder,M.H. 1993. Binucleate *Rhizoctonia* isolates con Troll damping-off caused by *Pythium ultimum* var. *sporangiiferum* and promote Growth in Capsicum and Celosia seedlings in pasteurized potting medium. Soil Biol. Biochem. 25:909-914.
- Kardin,M.K. 1997. *Rhizoctonia* spp. Isolated from Rice. Prosiding Konggres XIV dan Seminar Nasional,PFI. Volume II. Palembang, Indonesia.
- Martin,S.B. 1988. Identification, isolation, frequencies and pathogenicity of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* species from strawberry roots. Phytopathology 78: 379-384.
- Ogoshi,A. 1985. Anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia*. Fitopathology. Bras. 10:371-390.
- Poromarto,S.H. 1997. Studies on biocontrol of *Rhizoctonia solani* on Soybean by Binucleate *Rhizoctonia*. M.S. Thesis. Dept. of Plant Pathology. NDSU, Fargo.
- Rush,C.M. Carling,D.E. Harveson,R.M. and Mathieson,J.T. 1994. Prevalence and pathogenicity of anastomosis group of *Rhizoctonia solani* from wheat and sugar beet in Texas. Plant dis. 4:349-352.
- Somaatmadja,S., Isminadi, M., Sumarno, Syam, M., Manurung, S.O., and Yuswadi 1993. Kedelai ( 2<sup>nd</sup> edition ) Badan Penelitian dan Pengembangan pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor, Indonesia.