

**ENKAPSULASI BENIH KEDELAI MENGGUNAKAN *Pseudomonas fluorescens*  
DENGAN BAHAN PEMBAWA KOMPOS UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT  
HAWAR DAUN**

**SOYBEAN SEED ENCAPSULATION USING *Pseudomonas fluorescens* WITH  
COMPOST CARRIER TO CONTROL LEAF BLIGHT**

**Anggi Anwar Hendra Nurdika<sup>1</sup>, Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37  
Jember. 68121

<sup>2</sup>Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37  
Jember. 68121

E-mail: [anggi.nurdika@gmail.com](mailto:anggi.nurdika@gmail.com)

**ABSTRAK**

Penyakit hawar daun kedelai (*Pseudomonas syringae* pv *glycinea*) merupakan salah satu penyakit penting yang berpotensi menimbulkan kerugian produksi sekitar 11 - 20%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi *Pseudomonas fluorescens* yang diaplikasikan melalui metode enkapsulasi benih dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai dan menekan perkembangan penyakit hawar daun. Penelitian ini dilakukan di rumah kaca Agrotechnopark Jubung, Universitas Jember dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 5 perlakuan yakni kontrol (P0), enkapsulasi *P. fluorescens* dengan formulasi kompos + tanah lempung + glukosa (P1), kompos + kaolin + tanah liat + glukosa (P2), kompos + talc tanah liat + glukosa (P3), dan kompos + zeolit tanah liat + glukosa (P4). Hasil penelitian menunjukkan enkapsulasi benih dengan bakteri *P. fluorescens* berbahan dasar kompos dan bahan pembawa anorganik mampu menekan keparahan penyakit hawar daun kedelai hingga 40 hari setelah inokulasi. Enkapsulasi benih dengan *P. fluorescens* formulasi kompos + zeolit mampu meningkatkan daya kecambah benih, tinggi tanaman, dan jumlah daun. Penggunaan bahan pembawa talc mampu mempertahankan populasi bakteri  $6,0 \times 10^3$  cfu/ml hingga 28 hari masa penyimpanan.

**Kata kunci:** enkapsulasi benih, formulasi, hawar daun, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae*

**ABSTRACT**

Soybean leaf blight (*Pseudomonas syringae* pv *glycinea*) is one of the important diseases that has the potential to cause production losses of around 11-20%. This study aims to determine the potential of *Pseudomonas fluorescens* bacteria that is applied through seed encapsulation methods to stimulate soybean plant growth and suppress the development of leaf blight disease. This research was conducted at the Agrotechnopark Jubung greenhouse, University of Jember using a Completely Randomized Design consisting of 5 treatments namely control (P0), encapsulation of *P. fluorescens* bacteria with compost (P1) formulation, compost + kaolin (P2), compost + talc (P3), and compost + zeolite (P4). The results showed that seed encapsulation with *P. fluorescens* bacteria made from compost and inorganic carriers was able to reduce the severity of soybean blight disease by up to 40 HSI. Seed encapsulation with *P. fluorescens* compost + zeolite formulation can increase seed germination, plant height, and number of leaves. The use of talc carrier materials is able to maintain a bacterial population of  $6.0 \times 10^3$  cfu / ml for up to 28 days of storage.

**Keywords:** formulation, leaf blight, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae*, seed encapsulation

## PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu komoditas pangan yang memiliki nilai ekonomi yang relatif tinggi. Produksi kedelai nasional berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik pada tahun 2015 sebesar 963.183 ton, menunjukkan kenaikan hanya sebesar 0,86% dibandingkan angka produksi tahun 2014 yakni 954.997 ton. Rendahnya peningkatan produksi kedelai nasional tersebut diikuti dengan penurunan luas panen kedelai pada tahun 2015 yakni 0,26% dibanding tahun 2014. Kondisi ini tentu kurang menguntungkan bila dibandingkan dengan permintaan akan produk komoditas kedelai yang cenderung meningkat. Serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) saat ini menjadi salah satu kendala yang memengaruhi produksi tanaman kedelai. Penyakit hawar daun disebabkan patogen *Pseudomonas syringae* pv *glycinea* merupakan salah satu penyakit yang menyerang komoditas kedelai. Penyakit ini tergolong memiliki tingkat penyebaran yang cepat dan dapat menimbulkan kerugian pada tanaman kedelai antara 11 - 20%, dan dapat pula menginfeksi benih tanaman kedelai (Suryadi dan Machmud, 2006).

Upaya pengendalian penyakit hawar daun kedelai telah banyak dilakukan seperti penggunaan senyawa kimia, penanaman varietas tahan, serta pemanfaatan mikrobia antagonis. Pemanfaatan agensia hayati berupa mikrobia antagonis merupakan salah satu teknik pengendalian penyakit tanaman yang dinilai ramah lingkungan namun efektif dan dapat diandalkan untuk jangka waktu yang panjang. Penelitian yang dilakukan Majid (2016) menunjukkan bahwa penggunaan bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* untuk pengendalian penyakit hawar daun kedelai mampu menurunkan insidensi terjadinya penyakit hingga 17,79 %.

Pemanfaatan bakteri antagonis untuk pengendalian penyakit tanaman dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti memformulasikannya dalam bentuk biopestisida, atau melakukan *seed treatment* pada benih sebelum ditanam untuk melindunginya dari serangan patogen. Enkapsulasi merupakan metode perlakuan benih yang diterapkan dengan cara melapisi benih menggunakan beberapa jenis bahan tertentu yang diformulasikan untuk meningkatkan viabilitas benih, vigor, dan melindunginya dari patogen. Penambahan bakteri dalam lapisan *seed coating* dilakukan dengan berbagai tujuan seperti meningkatkan daya simpan, memacu pertumbuhan tanaman, dan perlindungan dari serangan patogen.

Bahan pembawa yang digunakan dalam proses enkapsulasi mampu menjadi sumber nutrisi bagi bakteri serta melindungi dari kondisi yang kurang menguntungkan. Bahan organik kompos umum digunakan sebagai sumber nutrisi dalam formulasi bakteri. Penambahan bahan pembawa anorganik seperti talc, kaolin dan zeolit pada formula enkapsulasi ditujukan untuk meningkatkan daya dukung dalam mempertahankan populasi bakteri. Peranan bahan pembawa yang digunakan dalam proses pelapisan benih terhadap populasi bakteri dan kondisi benih

sebelumnya telah dikaji oleh Wuryandari (2004), dengan formulasi bahan organik diperkaya bahan anorganik mampu mempertahankan populasi bakteri sekaligus menjaga daya kecambah benih. Melalui penelitian ini dikaji pengaruh pemberian bakteri *P.fluorescens* melalui teknik enkapsulasi benih kedelai dalam mengendalikan penyakit hawar daun, meningkatkan pertumbuhan tanaman serta menentukan kombinasi bahan pembawa terbaik dalam meningkatkan kemampuan bakteri bertahan pada benih.

## **METODOLOGI**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian dan rumah kaca Agrotechnopark Jubung Universitas Jember. Enkapsulasi benih dilakukan di Kecamatan Gebang dengan alat enkapsulator milik Bapak Kadir. Penelitian berlangsung dari bulan Januari - Desember 2018.

### **Bahan dan Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *stir rod*, kuas, cawan petri, pipet, jarum ose, *beaker glass*, timbangan analitik, mortar, pistil, mesin enkapsulator, *shaker*, *object glass*, tabung reaksi, *erlemeyer*, *laminer air flow*, *polybag*, kertas label dan *hand sprayer*. Bahan yang digunakan untuk enkapsulasi benih yakni benih kedelai, tanah lempung, kompos, glukosa, talc, kaolin dan zeolit. Isolat bakteri *P. flourescens* diperoleh dari Lab Pengamat Hama Penyakit Tanggul, serta patogen *P. syringae* pv *glycinea* (PSG) hasil isolasi. Bahan yang digunakan untuk perbanyakan dan pengujian bakteri yakni media KingsB, KOH 3%, aquadest, agar air dan media NB. Penanaman dilakukan dengan media campuran tanah dan kompos pada *polybag* 30 x 30 cm.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan menggunakan beberapa jenis formula enkapsulasi benih. Terdapat 5 perlakuan, setiap perlakuan erdiri dari 4 ulangan serta 5 tanaman pada setiap ulangan, sehingga secara keseluruhan terdapat 100 tanaman. Perlakuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. P0 : benih tidak dienkapsulasi.
2. P1 : Formulasi kompos + tanah liat + glukosa + *P. fluorescens*
3. P2 : Formulasi kompos + kaolin + tanah liat + glukosa + *P. fluorescens*.
4. P3 : Formulasi kompos + talc + tanah liat + glukosa + *P. fluorescens*
5. P4 : Formulasi kompos + zeolit + tanah liat + glukosa + *P. fluorescens*

### **Persiapan Bakteri *Pseudomonas fluorescens***

Isolat bakteri *P. fluorescens* dibiakkan pada media Kings'B. Koloni yang terbentuk setelah 48 jam selanjutnya diambil 1 ose, kemudian disuspensikan dalam *erlemeyer* berisi 100ml medium *Nutrient broth* (NB) cair dan diinkubasikan pada *rotary shaker* selama 48 jam. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri diambil menggunakan pipet mikro, disuspensikan pada air steril dan dilakukan pengenceran kemudian ditumbuhkan pada media KB. Penghitungan kerapatan dilakukan hingga mendapatkan kerapatan populasi  $10^{10}$  CFU/ml.

### **Persiapan Isolat *Pseudomonas syringae* pv *glycinea***

Inokulum bakteri *Pseudomonas syringae* pv *glycinea* (PSG) diisolasi dari daun tanaman kedelai yang menunjukkan gejala hawar daun. Daun kedelai dipotong dengan menyertakan bagian yang sehat dan sakit, kemudian dilakukan sterilisasi bertingkat dengan perendaman menggunakan alkohol 70% selama 3 menit dan 2 kali aquades masing-masing selama 1 menit. Potongan daun kemudian ditumbuk hingga halus menggunakan mortar dan ditambahkan air steril secukupnya. Suspensi divortex selama 5 menit hingga homogen. Suspensi kemudian digoreskan pada media KingsB menggunakan jarum ose. Koloni bakteri yang tampak berpendar kuning kehijauan selanjutnya dilakukan pemurnian dan diinkubasi selama 48 jam pada media KingsB. Uji lanjut yang dilakukan untuk memastikan koloni yang terbentuk adalah PSG terdiri atas uji gram, uji hipersensitif (HR), dan patogenesitas. Koloni bakteri sesuai ciri PSG yang didapatkan kemudian disuspensikan dalam air steril dan dilakukan pengenceran hingga mendapatkan kerapatan populasi  $10^8$  CFU/ml.

### **Uji Daya Hambat**

Bakteri *P. fluorescens* yang digunakan pada penelitian ini dilakukan pengujian daya hambatnya terhadap PSG. Bakteri *P. fluorescens* ditumbuhkan pada 4 titik medium Kings'B dan diinkubasi selama 48 Jam. Petri berisi biakan *P. fluorescens* kemudian dibalik dan diteteskan kloroform sebanyak 1 ml. Isolat kemudian didiamkan selama 2 jam. Suspensi PSG sebanyak 200 $\mu$ l umur 48 jam ditambahkan pada 4ml agar air (45°C) dan divortex hingga homogen dan dituangkan pada biakan *P. fluorescens*. Biakan kemudian diinkubasi selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur jari jarinya.

### **Persiapan Formula Enkapsulasi Benih**

Bahan enkapsulasi yang digunakan yakni campuran antara kompos, bahan pembawa anorganik talc, kaolin, zeolit, dan tanah lempung dicampurkan sesuai perbandingan setiap perlakuan. Kompos digunakan sebanyak 50 gram pada tiap perlakuan, dicampurkan dengan 25 gram tanah liat sebagai perekat. Penambahan bahan pembawa anorganik berupa talc, kaolin, dan zeolit disesuaikan perlakuan setiap perlakuan dengan takaran sebanyak 25 gram. Bahan

untuk enkapsulasi disaring menggunakan saringan berukuran lubang 20 $\mu$ m. Glukosa sebanyak 1 gram ditambahkan ke setiap perlakuan. Bahan yang telah tercampur disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoclave* untuk menghindari kontaminasi.

### **Enkapsulasi Benih**

Formula pelapis dan benih kedelai kemudian dimasukkan kedalam mesin enkapsulator. Penyemprotan suspensi bakteri dengan kerapatan 10<sup>10</sup> CFU/ml dilakukan menggunakan handsprayer selama mesin enkapsulator bekerja agar setiap bahan dan bakteri yang ditambahkan melekat pada benih. Proses enkapsulasi dilakukan hingga hingga bahan pelapis merata pada permukaan benih. Benih kemudian dikering-anginkan selama 1 jam.

### **Pembuatan Media Tanam dan Penanaman**

Media tanam yang digunakan yakni tanah + kompos dengan perbandingan (2 : 1) dalam keadaan steril pada polybag berukuran 30 x 30cm. Penanaman dilakukan menggunakan 3 benih pada setiap polybag. Setelah tanaman berusia 7 hari, dilakukan penjarangan dan menyisakan 1 tanaman kedelai pada tiap polybag. Penyiraman dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Pemupukan dilakukan 2 kali yakni bersamaan dengan tanam (2/3 bagian terkecuali SP36 seluruhnya diberikan sebagai pupuk dasar) dan 15 HST (1/3 bagian) sesuai dengan dosis anjuran yakni 25kg/hektar Urea, 150kg/hektar SP36 dan 75kg/hektar KCL.

### **Inokulasi Bakteri *Pseudomonas syringae* pv *glycinea***

Patogen penyebab hawar daun dengan kerapatan 10<sup>8</sup> CFU/ml disuspensikan dan disemprotkan menggunakan handsprayer hingga merata pada bagian daun tanaman. Tanaman yang telah diinokulasi bakteri PSG kemudian disungkup menggunakan plastik selama 24 jam. Inokulasi dilakukan saat tanaman berumur 30 hari setelah tanam.

### **Variabel Pengamatan**

#### **1. Persentase Perkecambahan**

Pengamatan dilakukan untuk mengetahui persentase benih yang berkecambah dan pengaruh enkapsulasi benih dengan bakteri antagonis terhadap persentase benih yang berkecambah. Perhitungan persentase perkecambahan benih menggunakan rumus :

$$\text{Daya Perkecambahan (\%)} = \frac{\Sigma \text{benih yang berkecambah}}{\Sigma \text{benih yang diuji}} \times 100\%$$

#### **2. Masa inkubasi**

Masa inkubasi penyakit hawar daun dihitung saat setelah proses inokulasi patogen hingga tampak gejala penyakit pada tiap perlakuan.

### 3. Insidensi Penyakit

Pengamatan insidensi penyakit dilakukan untuk mengetahui proporsi tanaman yang terserang penyakit hawar daun dibandingkan tanaman yang sehat setelah diinokulasikan patogen penyebab hawar daun. Perhitungan insidensi penyakit sesuai rumus berikut :

$$\text{Insidensi Penyakit} = \frac{\text{Jumlah tanaman sakit}}{\text{Jumlah total tanaman yang diamati}} \times 100\%$$

### 4. Keparahan Penyakit

Tingkat keparahan penyakit diukur dengan melakukan skoring terhadap tanaman yang terserang hawar daun untuk mengetahui tingkat kerusakan yang disebabkan oleh penyakit hawar daun terhadap populasi tanaman. Keparahan penyakit seperti dikutip dari penelitian Suhendar (2013) dirumuskan :

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

Keterangan :

I = Intensitas penyakit

n = Jumlah tanaman dalam tiap kategori serangan

v = Nilai skala tiap kategori serangan

V = Nilai skala dari kategori serangan tertinggi

N = Banyaknya tanaman yang diamati

Kriteria Skoring :

0 = tidak ada gejala

1 = < 1 % luas bercak dari luas daun

3 = 1 hingga < 11 % luas bercak dari luas daun

5 = 11 hingga < 25 % luas bercak dari luas daun

7 = 25 hingga < 50 % luas bercak dari luas daun

8 = > 50 % luas bercak dari luas daun

### 5. Laju Infeksi

Laju infeksi penyakit hawar dihitung menggunakan rumus dari Van der Plank (1963) sebagai berikut:

$$r = 2,3/t (\log X_t/1-X_t - \log X_0/1-X_0)$$

Keterangan: r = laju infeksi; t = waktu pengamatan;  $X_0$  = proporsi penyakit awal;

$X_t$  = proporsi penyakit pada waktu

### 6. Pertumbuhan tanaman

Parameter pertumbuhan tanaman diukur melalui tinggi tanaman menggunakan meteran, jumlah daun, jumlah cabang yang dihasilkan, dilakukan setiap 1 minggu hingga fase vegetatif akhir.

### 7. Kemampuan Hidup *P.fluorescens* dalam Enkapsulasi Benih

Pengujian dilakukan untuk mengetahui seberapa lama bakteri dapat bertahan hidup pada bahan pelapis benih yang digunakan. Metode yang digunakan sesuai dengan penelitian Wuryandari (2004) yakni dengan menggerus 10 benih dengan mortar kemudian disuspensikan pada 9ml air steril dan difortex 15 menit. Suspensi sebanyak 0,1 ml dituang pada media KB untuk menumbuhkan bakteri, dan diinkubasi inkubasi selama 48 jam. Pengujian dilakukan setiap 14 hari hingga tidak ditemukan populasi bakteri *P.fluorescens*

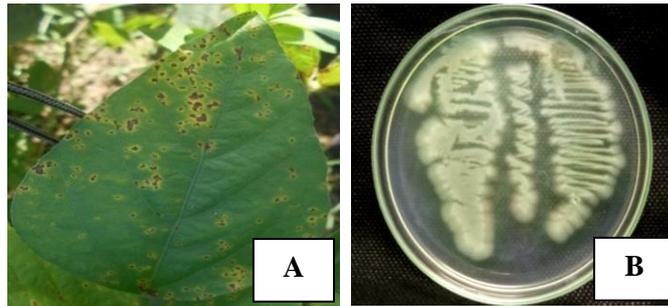
### 8. Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis sidik ragam, dan apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan menggunakan taraf 5%.

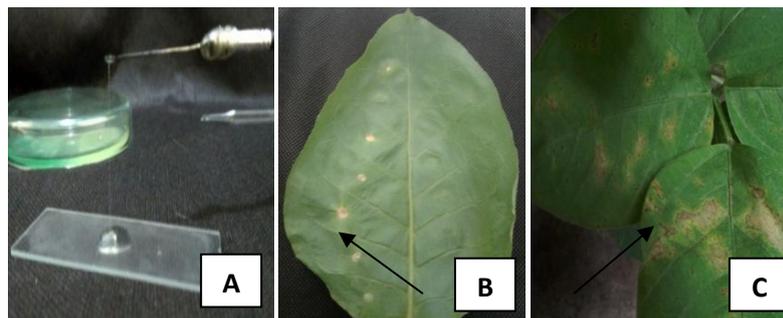
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri *Pseudomonas syringae* pv *glycinea*

Isolasi patogen penyebab hawar daun *Pseudomonas syringae* pv *glycinea* (PSG), menghasilkan beberapa koloni bakteri yang berpendar pada media Kings'B setelah 48 jam masa inkubasi sesuai karakter bakteri *Pseudomonas*. Koloni bakteri yang diduga PSG memiliki ciri morfologi sesuai dengan deskripsi Hartman *et al.* (1999) yakni tampak halus, mukoid, tepian putih cenderung lebih menonjol dan berpendar kuning kehijauan pada media Kings'B.



Gambar 1. Penyakit hawar daun, (A) gejala hawar daun di lapang, (B) koloni bakteri penyebab penyakit hawar daun kedelai



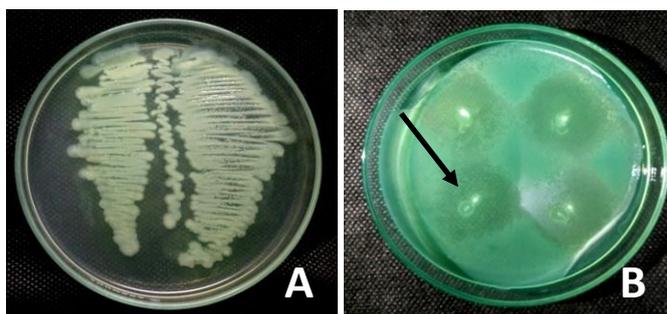
Gambar 2. Hasil pengujian PSG, (A) bakteri menunjukkan gram negatif, (B) daun tembakau yang diuji reaksi hipersensitif mengalami kerusakan nekrosis, (C) daun kedelai yang menunjukkan gejala bercak pada uji patogenesis.

Karakteristik dari bakteri *P. syringae* pv *glycinea* menurut Schaad (1998) diantaranya adalah bergram negatif, dan bereaksi positif pada uji hipersensitif tembakau. Karakter tersebut sesuai dengan hasil uji lanjut yang menunjukkan bakteri bergram negatif dan bereaksi positif pada uji hipersensitif tembakau yang ditandai adanya nekrosis pada daun setelah 24 jam. Uji patogenesis menunjukkan gejala hawar daun tampak pada daun tanaman kedelai dalam rentang 7 hari setelah inokulasi patogen. Gejala yang tampak yakni bercak coklat bersudut dengan halo kuning disekitarnya, dan tidak terdapat pustul dibagian bawah daun.

### Penghambatan *Pseudomonas fluorescens* terhadap *Pseudomonas syringae* pv *glycinea*

Pengujian daya hambat bakteri *P. fluorescens* terhadap patogen PSG tampak zona hambat disekeliling bakteri *P. fluorescens*. Zona hambat tampak setelah 24 jam masa inkubasi yang mencegah perkembangan patogen PSG. Besarnya daya hambat yang dihasilkan mencapai

10,93mm. Pengamatan hingga 48 jam tidak menunjukkan adanya pertambahan panjang jari - jari zona hambat.



Gambar 3. Hasil pengujian daya hambat, (A) koloni bakteri *P.flourescens*, (B) zona hambat *P.flourescens* terhadap PSG yang terbentuk pada pengujian daya hambat.

### **Kemampuan Hidup *P. fluorescens* dalam Enkapsulasi Benih**

Kontaminasi yang cukup tinggi terjadi pada perlakuan enkapsulasi dengan formulasi kompos (P1) pada 14 hari penyimpanan sehingga pada proses perhitungan populasi tidak ditemukan bakteri *P. fluorescens*. Perhitungan populasi bakteri *P. fluorescens* pada 14 hari penyimpanan menunjukkan bahwa formulasi kompos + kaolin (P2) mampu mempertahankan kondisi bakteri lebih baik dengan populasi bakteri  $5 \times 10^5$  cfu/ml. Penyimpanan benih selama 28 hari menyebabkan penurunan populasi bakteri sehingga hanya formulasi kompos + talc (P3) yang mampu mempertahankan bakteri *P.flourescens* dengan populasi  $6 \times 10^3$  cfu/ml, sedangkan pada perlakuan lain tidak ditemukan bakteri *P.flourescens*. Proses perhitungan populasi bakteri pada benih dihentikan pada 42 hari setelah enkapsulasi dikarenakan tidak ditemukan koloni *P. fluorescens* pada proses penghitungan. Populasi bakteri *P. fluorescens* pada enkapsulasi benih dengan berbagai bahan pelapis dapat dilihat pada tabel 1.

Penggunaan kompos dan bahan pembawa anorganik menunjukkan peranan dalam menunjang *P.flourescens* hidup pada benih kedelai yang dienkapsulasi. Kompos dan bahan pembawa anorganik memiliki kandungan hara makro dan mikro sebagai sumber nutrisi dalam proses metabolisme *P.flourescens*. Kompos kotoran ternak memiliki kandungan hara penting diantaranya N, P, K, serta hara mikro Ca, Mg, S, Na, Fe, dan Cu (Trivana *et al.* 2017). Populasi bakteri *P.flourescens* yang hanya mampu bertahan hingga kisaran 1 bulan dan terkontaminasi jamur dapat dikatakan kurang baik. Menurut Berninger *et al.* (2018), produk formulasi agen hayati setidaknya harus memiliki umur simpan 2 – 3 bulan dalam kondisi suhu ruang, serta tidak mudah terkontaminasi mikrobia lain. Widodo (2012) memaparkan bahwa formulasi bakteri *P.flourescens* dikatakan dalam kondisi layak untuk diaplikasikan jika setidaknya memiliki populasi sekitar  $10^6$  cfu/gr.

Benih kedelai yang digunakan diduga memiliki kadar air yang masih tinggi dikarenakan belum melalui proses pengeringan dan penyimpanan setelah panen. Kadar air yang tinggi ini berperan dalam berkembangnya jamur terbawa benih selama masa penyimpanan. Keberadaan

jamur kontaminan tampak lebih jelas menyelimuti permukaan benih yang terdapat pelapis pada 28 hari masa penyimpanan. Kondisi ini menyebabkan bahan pelapis terkelupas dan benih mengalami pembusukan. Kompos diduga memicu perkembangan jamur karena berperan sebagai sumber nutrisi bagi perkembangan mikrobial dan dapat mempertahankan kondisi lembab.

Tabel 1. Populasi Bakteri *P. fluorescens* pada Benih yang dienkapsulasi dengan formulasi yang berbeda

Perlakuan	Populasi Bakteri (CFU/ml)		
	14 Hari Penyimpanan	28 Hari Penyimpanan	42 Hari Penyimpanan
P0 : Kontrol	0	0	0
P1 : Formulasi Kompos	0	0	0
P2 : Formulasi Kompos + Kaolin	$5,0 \times 10^5$	0	0
P3 : Formulasi Kompos + Talc	$2,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^3$	0
P4 : Formulasi Kompos + Zeolit	$3,0 \times 10^4$	0	0

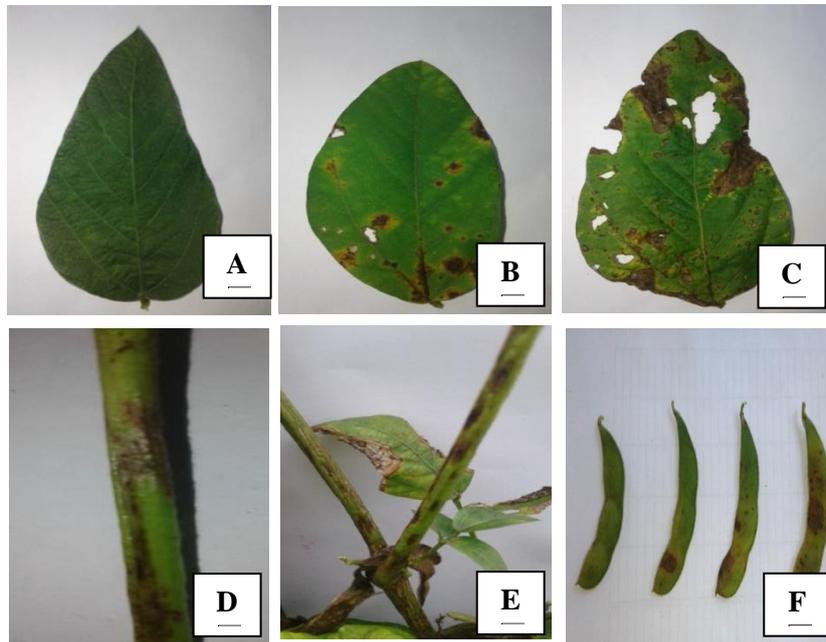
Keterangan : CFU = Colony Forming Unit

Bahan pembawa anorganik talc, kaolin, dan zeolite meningkatkan peluang hidup dari bakteri dengan melindungi selnya dari kematian akibat kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Heijnen *et al.* 1993). Penambahan kaolin mampu mempertahankan populasi bakteri lebih baik pada 14 hari masa simpan didukung dengan adanya kandungan nutrisi berupa Fe, Na, Mg, K, dan Ca (Bellotto, 1995). Talc mampu mempertahankan populasi bakteri dan kondisi benih hingga 28 hari penyimpanan dikarenakan sifatnya yang cenderung hidrofobik dan kelembapannya yang sangat rendah sehingga memiliki periode simpan lebih lama (Vidhyasekaran *et al.* 1997). Kondisi kelembapan yang cenderung lebih rendah ini diduga memengaruhi perkembangan jamur kontaminan pada benih sehingga kondisi benih dengan penambahan talc mampu bertahan baik hingga 28 hari penyimpanan. Talc memiliki kandungan hara berupa Al, Si, Mg, dan Ca (Jadhav *et al.* 2013). Peranan talc dalam menjaga populasi *P.fluorescens* juga diperkuat penelitian Vidhyasekaran *et al.* (1995) yang memaparkan bahwa penambahan talc pada formulasi tepung mampu mempertahankan populasi bakteri *P. fluorescens* hingga 8 bulan dengan kerapatan  $1,3 \times 10^7$  cfu/g dalam kondisi ruang.

### Perkembangan Penyakit Hawar Daun pada Tanaman Kedelai

Gejala penyakit hawar daun kedelai yang terjadi selama 50 hari masa pengamatan terdiri dari bercak pada bagian tengah daun dan gejala hawar daun. Gejala awal penyakit ditandai dengan adanya bercak kuning dengan bagian tengah yang kecoklatan. Bercak ini kemudian berkembang menjadi bercak coklat tidak beraturan dengan halo kuning disekitarnya kemudian dapat meluas dan menyebabkan lubang pada daun tanaman apabila bagian yang bergejala rontok. Gejala dari tepi daun diawali bercak atau klorosis, kemudian berkembang

menjadi nekrotik yang terus meluas hingga daun mengering dan gugur. Gejala juga dapat terjadi pada bagian lain meliputi bercak pada polong, tangkai daun, dan batang tanaman. Gejala yang terjadi pada daun dan bagian lain tanaman dapat dilihat pada gambar 4.

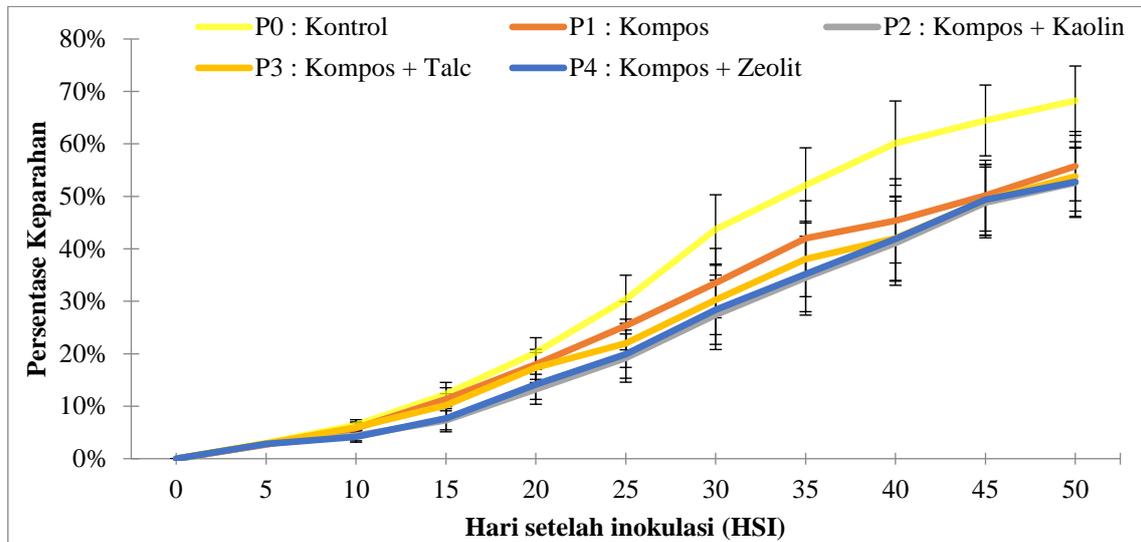


Gambar 4. Gejala Penyakit Hawar Daun, (A) Daun sehat, (B) Gejala Bercak pada tengah daun, (C) Gejala bercak pada tepi daun, (D) Gejala Bercak pada Tangkai daun, (E) Gejala Bercak pada Batang, (F) Gejala pada Polong

Enkapsulasi benih dengan bakteri *P. fluorescens* secara umum tidak memperpanjang masa inkubasi dari patogen PSG untuk menimbulkan gejala kecuali pada perlakuan enkapsulasi dengan formulasi kompos + kaolin (P2). Gejala penyakit pada perlakuan kompos + kaolin (P2) mulai tampak pada 5 HSI, sedangkan pada perlakuan lainnya gejala tampak sejak 3 HSI. Gejala penyakit tampak pada seluruh tanaman selama 50 hari masa pengamatan sehingga menghasilkan angka insidensi 100%. Hal ini menunjukkan perlakuan enkapsulasi dengan bakteri *P.fluorescens* tidak dapat menekan penyebaran patogen PSG sehingga menyerang keseluruhan tanaman pada penelitian ini.

Enkapsulasi benih menggunakan bakteri *P.fluorescens* dengan formulasi kompos tidak memengaruhi keparahan penyakit pada 25 HSI, namun penambahan bahan pembawa kaolin, talc dan zeolit memberikan hasil yang lebih baik dalam menekan keparahan penyakit pada 25 HSI dibandingkan kontrol dan perlakuan tanpa penambahan bahan pembawa. Perbedaan jenis bahan pembawa yang digunakan tidak menunjukkan adanya pengaruh terhadap kemampuan *P.fluorescens* dalam menekan keparahan penyakit hawar daun. Pengamatan pada 40 HSI menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara seluruh perlakuan enkapsulasi benih dalam menekan keparahan penyakit, namun tetap mampu mempertahankan keparahan penyakit lebih rendah dibandingkan kontrol. Keparahannya penyakit pada akhir pengamatan (50 HSI) menunjukkan tidak ada perbedaan pada semua perlakuan, walaupun keparahan penyakit

pada kontrol tetap lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan enkapsulasi benih. Perkembangan penyakit hawar daun dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Perkembangan Keparahan Penyakit Hawar Daun

Perkembangan keparahan penyakit dengan nilai persentase yang semakin tipis perbedaannya seiring usia tanaman berkaitan dengan laju infeksi penyakit hawar bakteri pada tiap perlakuan yang tidak jauh berbeda. Laju infeksi terendah ditunjukkan pada perlakuan enkapsulasi dengan formulasi kompos + kaolin (P2) yakni 0,0596 unit perhari dibandingkan pada kontrol yang mencapai 0,0640 unit perhari. Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa enkapsulasi benih dengan bakteri *P. fluorescens* pada formulasi berbahan dasar kompos dan penambahan bahan pembawa mampu menekan perkembangan penyakit dibandingkan kontrol hingga mendekati akhir fase generatif (40 HSI) tanaman kedelai (dapat dilihat pada tabel 2).

Kondisi lingkungan memiliki peranan yang penting dalam penyebaran dan keparahan serangan penyakit hawar daun. Menurut (Hartman *et al*, 1999) penyakit hawar daun seringkali mencapai tingkat serangan tinggi pada tanaman ketika curah hujan tinggi, kondisi lingkungan cenderung lembab dan suhu lingkungan berkisar 24 – 26°C. Patogen PSG yang menyebabkan hawar daun lebih mudah berkembang dan menyebar pada suatu luasan lahan melalui percikan air sebagai perantara. Masa pengamatan hingga 20 HSI terjadi ketika pada lokasi penanaman belum memasuki musim penghujan sehingga kurang menguntungkan bagi perkembangan dan penyebaran hawar daun. Serangan penyakit yang mulai meningkat setelah 25 HSI disebabkan pada waktu tersebut mulai memasuki musim penghujan yang terus berlangsung hingga akhir masa pengamatan di 50 HSI. Hal ini diperkuat dengan insidensi penyakit yang terjadi pada tanaman mencapai 100% pada akhir pengamatan.

Tabel 2. Masa inkubasi, insidensi, keparahan dan laju infeksi penyakit hawar daun kedelai dengan Enkapsulasi Bakteri *P.fluorescens* pada formulasi yang berbeda.

Perlakuan	Masa Inkubasi (HSI)	Insidensi Penyakit 50 HSI (%)	Keparahan Penyakit (%)			Laju Infeksi (Unit Perhari)
			25 HSI	40 HSI	50 HSI	
P0 : Kontrol	3	100a	30,38a	60,16a	68,25a	0,0640
P1 : Formulasi Kompos	3	100a	25,34a	45,33b	55,76a	0,0600
P2 : Formulasi Kompos + Kaolin	5	100a	19,18b	41,08b	52,60a	0,0596
P3 : Formulasi Kompos + Talc	3	100a	22,00b	42,02b	53,80a	0,0597
P4 : Formulasi Kompos + Zeolit	3	100a	19,93b	41,87b	52,78a	0,0607

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%.

Tingkat keparahan penyakit dan laju infeksi yang lebih rendah pada perlakuan enkapsulasi benih berkaitan dengan fungsi *P.fluorescens* sebagai *Plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) yang mampu menghasilkan senyawa anti mikrobia, menginduksi ketahanan tanaman, dan menstimulasi pertumbuhan tanaman dengan hormon tumbuh yang dihasilkan (Preston, 2004). Kompos mampu menyediakan nutrisi bagi *P. fluorescens* hingga dapat berkolonisasi pada akar serta terbawa kotiledon dan berkembang pada daun tanaman. Bahan pembawa anorganik berperan dalam melindungi populasi bakteri serta sebagai sumber nutrisi tambahan. Penambahan bahan anorganik ini diduga mendukung perkembangan populasi *P.fluorescens* lebih baik dibandingkan pada perlakuan tanpa bahan anorganik sehingga mampu menekan keparahan penyakit lebih awal dimulai pada 25 HSI.

Hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa *P. fluorescens* mampu menekan perkembangan patogen PSG. Hal ini diduga berkaitan dengan kemampuan *P. fluorescens* menghasilkan senyawa antibiotik seperti *phloroglucinol*, *phenazines*, *pyrrolnitrin*, *pyoluteorin*, *cyclic lipopeptides*, dan *hydrogen cyanide* (Haas & Defago, 2005). *P. fluorescens* juga mampu berkembang pesat serta beradaptasi dengan kondisi lingkungan sehingga menjadi kompetitor bagi PSG dalam memperoleh nutrisi yang terdapat disekitar akar dan daun tanaman (Sahu *et al.* 2018). Bakteri *P. fluorescens* pada penelitian ini diduga mampu menginduksi ketahanan tanaman sehingga menekan keparahan penyakit hawar daun melalui produksi fitoaleksin (Dorjey *et al.* 2017) dan sintesis asam salisilat (Preston, 2004). Hal ini diperkuat hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa aplikasi *P. fluorescens* pada benih mampu menekan penyakit hawar pada kacang - kacangan yang disebabkan *Pseudomonas syingae* pv *phaseolicola* melalui mekanisme induksi ketahanan (Alstrom, 1991).

## Pertumbuhan Tanaman Kedelai dengan Enkapsulasi Bakteri *P. fluorescens* pada Formulasi Berbeda

Perlakuan enkapsulasi benih menggunakan bakteri *P. fluorescens* dengan perbedaan bahan pembawa menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada uji daya perkecambahan benih. Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda Duncan (DMRT) taraf 5% seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Persentase Perkecambahan Benih Kedelai dengan Enkapsulasi Bakteri *P. fluorescens* pada formulasi yang berbeda.

Perlakuan	Persentase Perkecambahan (%)
P0 : Kontrol	53,00c
P1 : Formulasi Kompos	87,00b
P2 : Formulasi Kompos + Kaolin	98,00a
P3 : Formulasi Kompos + Talc	98,00a
P4 : Formulasi Kompos + Zeolit	100,00a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata uji duncan 5%.

Perkecambahan benih kedelai dengan enkapsulasi benih menggunakan bakteri *P. fluorescens* mampu meningkatkan persentase perkecambahan benih dibandingkan pada benih tanpa perlakuan enkapsulasi (P0). Penambahan bahan pembawa kaolin (P2), talc (P3) dan (Zeolit) menunjukkan persentase perkecambahan yang lebih baik dibandingkan pada formulasi tanpa bahan pembawa (P1), namun tidak terdapat pengaruh perbedaan jenis bahan pembawa yang ditambahkan terhadap persentase perkecambahan benih. Persentase perkecambahan yang tinggi pada perlakuan enkapsulasi disebabkan karena peranan bahan pelapis yang digunakan dan *P. fluorescens* yang mampu menghasilkan hormon tumbuh IAA dan Giberelin. Patten & Glick (2002) memaparkan bahwa IAA mampu menstimulasi pembentukan dan pemanjangan akar selama proses perkecambahan. Giberelin mampu merangsang sintesis dan produksi hidrolase, terutama  $\alpha$ -amilase yang memicu terjadinya perkecambahan (Miransari & Smith, 2014).

Kompos dan bahan pembawa anorganik yang digunakan pada proses enkapsulasi pada benih kedelai tidak menghambat terjadinya proses imbibisi pada perkecambahan kedelai, justru mampu menjaga daya kecambah benih tetap baik. Penambahan bahan organik berupa kompos pada setiap perlakuan enkapsulasi meningkatkan persentase perkecambahan benih kedelai dikarenakan bahan organik memiliki kemampuan menyerap dan menahan air yang baik (Hardjowigeno, 2015). Hal ini menyebabkan kompos yang ditambahkan mampu mempertahankan kondisi lembab dan meningkatkan daya serap air yang dibutuhkan untuk proses imbibisi pada benih kedelai. Keberadaan bahan pembawa anorganik mampu menjaga kondisi benih tidak mengalami pembusukan yang diduga karena jamur kontaminan dan kondisi ketersediaan air berlebih yang terjadi pada kontrol dan sebagian benih dengan enkapsulasi tanpa bahan pembawa anorganik. Bahan pembawa anorganik yang ditambahkan juga dapat

menyerap kelebihan air yang mencegah terjadinya pembusukan benih, terutama pada zeolit yang memiliki kandungan klipnotilolit (Dariah *et al.* 2015) dan struktur berongga yang baik dalam menyerap air (Amalia & Purwamargapratala, 2017).

Perlakuan enkapsulasi benih dengan formulasi kompos + zeolit menghasilkan tinggi tanaman terbaik pada 49 HST. Pengamatan pada 49 hari menunjukkan perlakuan enkapsulasi bakteri *P. fluorescens* dengan bahan dasar kompos dan penambahan bahan pembawa mampu meningkatkan jumlah daun tanaman dibandingkan pada kontrol, kecuali pada perlakuan formulasi kompos + talc (P3) yang menghasilkan jumlah daun yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hasil pada akhir pengamatan (49 HST) menunjukkan tidak adanya pengaruh enkapsulasi *P. fluorescens* terhadap pertambahan jumlah cabang kedelai (dapat dilihat pada tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh Enkapsulasi Benih Kedelai dengan Bakteri *P.fluorescens* pada formulasi yang berbeda terhadap pertumbuhan tanaman kedelai umur 49 HST

Perlakuan	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Cabang
P0 : Kontrol	34,53 b	28,99 b	11,15 a
P1 : Formulasi Kompos	36,20 b	39,30 a	12,60 a
P2 : Formulasi Kompos + Kaolin	37,11 b	35,46 a	11,58 a
P3 : Formulasi Kompos + Talc	37,45 b	29,00 b	9,75 a
P4 : Formulasi Kompos + Zeolit	42,83 a	39,85 a	12,75 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%.

Berdasarkan pada deskripsi kedelai varietas Argomulyo, potensi tinggi tanaman 40 cm, dengan akhir fase vegetatif saat tanaman memasuki usia 35 hari. Perlakuan enkapsulasi dengan formulasi Kompos + Zeolit pada penelitian ini menghasilkan rata – rata tinggi tanaman hingga 42cm, sedangkan akhir pertumbuhan tanaman baru berhenti pada 49 HST. Hal ini membuktikan adanya dampak dari perlakuan enkapsulasi *P.fluorescens* dengan bahan pembawa kompos dan zeolit dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai.

Bahan pembawa zeolit yang ditambahkan mampu membantu peran bakteri *P.fluorescens* sebagai *PGPR* dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Menurut Dandurand *et al.* (1994), bahan pembawa non-organik dengan ukuran partikel yang lebih kecil seperti zeolit cenderung memberikan cakupan permukaan yang lebih luas untuk melindungi sel bakteri *P.fluorescens* dibandingkan bahan dengan partikel lebih besar seperti kaolin, dan talc. Zeolit juga berperan dalam meningkatkan kapasitas tukar kation, sumber nutrisi mikro, dan menjaga kondisi PH netral sehingga mampu meningkatkan ketersediaan hara N, P, serta K agar dapat diserap tanaman (Ramesh *et al.* 2015). Kandungan dari zeolit menurut Amalia & Purwamargapratala (2017) diantaranya Si, Al, Ca, Fe, K, Mg dan Na. Ketersediaan unsur hara yang lebih baik bagi tanaman pada perlakuan kompos + zeolit berperan penting dalam mendukung proses pertumbuhan tanaman kedelai.

*P.fluorescens* yang ditambahkan pada proses enkapsulasi diduga dapat memacu pertumbuhan tanaman dengan memproduksi hormon tumbuh seperti auxin, sitokinin, giberelin, dan inhibitor produksi etilen (Sahu *et al.* 2018). Produksi auxin dan giberelin oleh bakteri PGPR berperan dalam meningkatkan luas permukaan akar, pembentukan serta pemanjangan akar pada berbagai tanaman (Han *et al.* 2005). Kondisi perakaran tanaman yang baik berkaitan dengan serapan hara untuk memaksimalkan proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

## KESIMPULAN

Enkapsulasi benih menggunakan bakteri *P.fluorescens* formulasi kompos dan penambahan bahan pembawa anorganik dapat menekan keparahan penyakit hingga 40 HSI. Enkapsulasi benih dengan bakteri *P. fluorescens* berbahan dasar kompos diperkaya bahan pembawa anorganik zeolit mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penambahan bahan pembawa talc pada formulasi enkapsulasi mampu mempertahankan populasi *P.fluorescens* hingga 28 hari masa penyimpanan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alstrom, S. 1991. Induction of Disease Resistance in Common Bean Susceptible to Halo Blight Bacterial Pathogen after Seed Bacterization with Rhizosphere *Pseudomonas*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 37(1) : 495 - 501.
- Amalia, F., Y. Purwamargapratala. 2017. Penggunaan Zeolit untuk Stabilisasi Formula Ekstrak Kulit Buah Delima Sebagai Antibakteri. *Kimia dan Kemasan*, 39(1) : 25 – 30.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Luas Panen dan Produksi Kedelai Indonesia (2011 – 2015). Jakarta : Pemerintah.
- Bellotto, M., A. Gualtieri, G. Artioli, S. M. Clark. 1995. Kinetic study of the kaolinite-mullite reaction sequence. *Phys. Chem. Minerals*, 22(1) : 207-214
- Berninger T., O. G. Lopez, A. Bejarano, C. Preininger, A. Sessitsch. 2018. Maintenance and assessment of cell viability in formulation of non-sporulating bacterial inoculants. *Microbial Biotechnology*, 11(1) : 277 -301.
- Dandurand, L. M., Morra, M. J., Chaverra, M. H., Orser, C. S., 1994, Survival of *Pseudomonas* spp in air dried mineral powders. *Soil. Biol. Biochem*, 26(1): 1423-1430.
- Dariah, A. S. Sutono, N. L. Nurida, W. Hartatik, E. Pratiwi. 2015. Pembenh Tanah Untuk Meningkatkan Produktivitas Lahan Pertanian. *Sumberdaya Lahan*, 9 (2) : 67 – 84.
- Dorjey, S., D. Dolkar, R. Sharma. 2017. Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Pseudomonas* : A Review. *Curr. Microbiol. App. Sci.*, 6(7) : 1335 – 1344.
- Han J., L. Sun, X. Dong, Z. Cai, X. Sun, H. Yang, Y. Wang, W. Song. 2005. Characterization of a Novel Plant Growth-Promoting Bacteria Strain *Deffia tsuruhatensis* HR4 both as a Diazotroph and a Potential Biocontrol Agent againts Various Plant Pathogen. *Syst Appl Microbiol*, 28(1) : 66 – 76.
- Hardjowigeno. 2015. *Ilmu Tanah*. Jakarta : Akademika Pressindo.
- Hartman, G. L., Sinclair J. B., Rupe J. C. 1999. *Compendium of Soybean Diseases. : Fourth Edition*. Minnesota : APS Press.
- Haas D, Defago G. 2005. Biological conrol of soilborne patogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Rreview of Microbiology*, 3(1) : 307 -319.

- Heijnen, C. E., Burgers, S. L. G. E., van Veer, J. A. 1993, Metabolic activity and population dynamics of rhizobia introduced into unamended and betonite amended loamy sand. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(1): 743-747.
- Jadhav N. R., A. R. Paradkar, N. H. Salunkhe, R. S. Karade, G. G. Mane. 2013. Talc : A Versatile Pharmaceutical Excipient. *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(6) : 4639 – 4660.
- Miransari, M., D. I., Smith. 2014. Plant Hormones and Seed Germination. *Environmental and Experimental Botany*, 9(2014) : 110 – 121.
- Patten, C.L., B.R. Glick, 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied Environ. Microbiol.*, 68(1) : 3795-3801. .
- Preston, G. M. 2004. Plant Perception of Plant Growth-Promoting *Pseudomonas*. *The Royal Society*, 359(1) : 907 – 918.
- Ramesh V., J. George, J. S. Jyothi, S. M. A. Shibli. 2015. Effect of Zeolites on Soil Quality, Plant Growth, and Nutrient Uptake Efficiency in Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) *Root Crops*, 41(1) : 25 – 31.
- Sahu, B. J. Singh, G. Shankar, A. Pradhan. 2018. *Pseudomonas fluorescens* PGPR bacteria as well as biocontrol agent : A review. *Int Chemical Studies*, 6(2) : 01 – 07.
- Schaad NW. 1988. *Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic bacteria*. 2nd Edition. Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Suryadi, Y., Machmud M. 2006. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (PSG) using Polyclonal Antibody and NCM-ELISA. *Berita Biologi*, 5(1) : 45-51.
- Trivana, L., A. Y. Pradhana, A. P. Manambangtua. 2017. Optimalisasi Waktu Pengomposan Pupuk Kandang dari Kotoran Kambing dan Debu Sabut Kelapa dengan Bioaktivator EM4. *Sains dan Teknologi Lingkungan*, 9(1) : 16 - 24.
- Vidhyasekaran P., K. Sethuraman, K. Rajappan, K. Vasumathi. 1997. Powder formulations of *Pseudomonas fluorescens* to control pigeonpea wilt. *Biol. Control*, 8(3) : 166–171.
- Vidhyasekaran, P., Muthamilan, M., 1995, Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant. Dis.* 79(1) : 782–786.
- Widodo, S. Wiyono. 2012. Formulasi Tepung Biofungisida Berbahan Aktif Ganda *Pseudomonas fluorescens* PG 01 dan *Bacillus Polymixa* BG 25. *Ilmu Pertanian Indonesia*, 17(3) : 180 -185
- Wuryandari, Y. 2004. Daya Tahan Hidup *Pseudomonas putida* Strain Pf-20 Dalam Beberapa Macam Inokulum. *Perlindungan Tanaman Indonesia*, 10(1) : 33-41.