

MILIK PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG

MIKROBIOLOGI

## LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING



### FORMULASI AGENS HAYATI PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT LAYU BAKTERI *Ralstonia solanacearum* TANAMAN PISANG

Dra. Linda Advinda, M.Kes  
Dra. Moralita Chatri, M.P  
Dr. rer.nat. Jon Efendi, M.S  
Dra. Des M, M.S

UNIVERSITAS NEGERI PADANG	
TANGGAL	: 17 Juni 2008
NO. INVENTARIS	: 40 / 1
KOLEKSI	: K1
NO. INVENTARIS	: 135/Hd/2008-f.(1)
KLASIFIKASI	: 581.2 For f-1

DIBIYAI OLEH  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
SESUAI DENGAN SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN HIBAH PENELITIAN  
NOMOR: 024/SP2H/PP/Dp2M/III/2007

Plant - Diseases

UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
OKTOBER, 2007

## HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

1. Judul Penelitian : FORMULASI AGENS HAYATI PSEUDOMONAS  
BERFLUORESENSI SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT  
LAYU BAKTERI *Ralstonia solanacearum* TANAMAN PISANG

2. Ketua Peneliti

a. Nama lengkap : Dra. Linda Advinda, M.Kes  
b. Jenis Kelamin : P  
c. NIP : 131851522  
d. Jabatan Fungsional : Penata TK.I  
e. Jabatan Struktural : Lektor  
f. Bidang Keahlian : Mikrobiologi  
g. Fakultas/Jurusan : FMIPA/Biologi  
h. Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang

i. Tim Peneliti

No.	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas/Jurusan	Perguruan Tinggi
1.	Linda Advinda	Mikrobiologi	MIPA/Biologi	UNP
2.	Moralita Chatri	Fitopatologi	MIPA/Biologi	UNP
3.	Jon Efendi	Kimia Anorganik	MIPA/Kimia	UNP
4.	Des M	Taksonomi Tumbuhan	MIPA/Biologi	UNP

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian

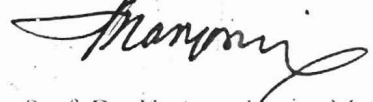
a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan: 2 (dua) tahun  
b. Biaya total yang diusulkan : Rp. 100.000.000,-  
c. Biaya yang disetujui tahun I Rp. 42.000.000,-

Padang, 25 Oktober 2007  
Ketua Peneliti,

  
Dra. Linda Advinda, M.Kes  
NIP. 131851522



Menyetujui  
Ketua Lembaga Penelitian UNP,

  
Prof. Dr. H. Anas Yasin, M.A  
NIP: 130365634

## PENGANTAR

Kegiatan penelitian mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian integral dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana Universitas Negeri Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerjasama dengan Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Ditjen Dikti Depdiknas dengan surat perjanjian kerja Nomor : 024/SP2H/PP/DP2M/III/2007 Tanggal 29 Maret 2007, dengan judul *Formulasi Agens Hayati Pseudomonas berfluoresensi Sebagai Pengendali Penyakit Layu Bakteri Ralstonia solanacearum Tanaman Pisang*

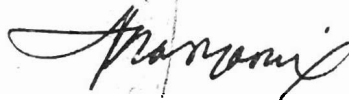
Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang telah dapat memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan penelitian, kemudian untuk tujuan diseminasi, hasil penelitian ini telah diseminarkan ditingkat nasional. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya, dan peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang membantu pelaksanaan penelitian ini. Secara khusus, kami menyampaikan terima kasih kepada Direktur Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Ditjen Dikti Depdiknas yang telah memberikan dana untuk pelaksanaan penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan dan semoga kerjasama yang baik ini akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terima kasih.

Padang, Oktober 2007  
Ketua Lembaga Penelitian  
Universitas Negeri Padang,



Prof. Dr.H. Anas Yasin, M.A.  
NIP. 130365634

FORMULASI AGENS HAYATI PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI  
SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT LAYU BAKTERI  
*Ralstonia solanacearum* Tanaman Pisang

Linda Advinda, Moralita Chatri, Jon Efendi, Des M

RINGKASAN

Pisang merupakan komoditas penting di Indonesia yang dapat mendukung ketahanan pangan, menyediakan kalori, bahkan dapat mendatangkan devisa negara. Produksi pisang di Propinsi Sumatera Barat menurun dari tahun ke tahun yang disebabkan karena gangguan hama dan penyakit, antara lain penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*.

Pemanfaatan agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi merupakan salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri *R. solanacearum*. Agens hayati ini dapat menghambat pertumbuhan patogen, meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman, dan menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (fitoaleksin).

Telah dilakukan formulasi agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menggunakan media tumbuh molase, agar, Nutrient Glucose Broth (NGB), Na-alginate, dan tepung tapioka. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan formula dan dosis agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang efektif sebagai pengendali penyakit layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman pisang. Penelitian juga bertujuan untuk menjajagi aktivitas enzim Fenilalanina Amonia Liase (FAL), Peroksidase (PO) dan Polifenol oksidase (PFO) pada tanaman pisang yang telah diaplikasi dengan formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.

Hasil penelitian dilaporkan bahwa formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 adalah yang terbaik dalam mempertahankan masa aktif bakteri dari pada formula molase, agar, NGB, dan Na-alginate. Dosis dari formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang terbaik untuk pengendali penyakit layu bakteri *R. solanacearum* adalah  $10^8$  sel/ml. Aktivitas enzim PFO (Polifenol Oksidase) meningkat setelah aplikasi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 pada tanaman pisang.

Penelitian lebih lanjut untuk mengkaji produksi fitoaleksin sebagai akibat induksi ketahanan oleh formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi perlu dilakukan, dan penting juga dijajagi secara mikroskopis (histopatologis) ruang atau tempat interaksi patogen – pembuluh tanaman pisang.

## PRAKATA

Penelitian yang berjudul “Formulasi Agens Hayati *Pseudomonas* Berfluoresensi sebagai Pengendali Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum* Tanaman Pisang” telah dilakukan, dan didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.

Penelitian Hibah Bersaing tahun I ini merupakan penelitian laboratorium dan kebun percobaan. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang yang telah memberi kesempatan untuk melakukan penelitian.

Kesimpulan yang utuh dari penelitian ini belum dapat dilaporkan, karena masih banyak aspek yang akan dilanjutkan untuk diteliti pada tahun II. Diharapkan penelitian tahun II mampu menjadi jawaban untuk dapat mengendalikan penyakit layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman pisang.

Semoga penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Peneliti

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN DAN SUMMERY	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	2
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	9
BAB IV. METODE PENELITIAN	10
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	34

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Jumlah bakteri <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi Pfpj1 (Log X) yang aktif pada setiap formula dan masa inkubasi berbeda	19
2. Zona hambatan bahan uji (dosis formula tapioka) terhadap <i>R. solanacearum</i>	21
3. Masa inkubasi <i>R. solanacearum</i> , Intensitas Penyakit, dan lama kematian bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	22
4. Aktivitas PO tanaman pisang setelah diaplikasi dengan formula tapioka <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	24
5. Aktivitas PFO tanaman pisang setelah diaplikasi dengan formula tapioka <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	24

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Grafik jumlah bakteri <i>Pseudomonas</i> berfluorensi Pfpj1 yang aktif pada setiap formula dan masa inkubasi berbeda	20
2. Zona hambatan yang tidak terbentuk pada medium TTC dengan menggunakan bahan uji terhadap <i>R. solanacearum</i>	21
3. Aktivitas FAL (produksi asam sinamat)	23



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Jumlah bakteri dan Tabel sidik ragam beberapa variabel pengamatan	34
2. Dokumentasi Penelitian	36



## BAB I. PENDAHULUAN

Produksi pisang di Propinsi Sumatera Barat menurun dari tahun ke tahun (1998 produksi 80.326 ton, 1999 produksi 81.865 ton, 2000 produksi 59.549 ton, 2001 produksi 48.810 ton, dan 2002 produksi 33.367 ton) (Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat, 2002). Penurunan produksi pisang disebabkan karena gangguan hama dan penyakit, antara lain penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* yang hampir memusnahkan pertanaman pisang di Sumatera Barat. Dari hasil pemantauan di lapangan sepanjang tahun 2002, diketahui penyakit ini sedikitnya menyerang satu juta rumpun pisang (Djoni, 2003).

Pemanfaatan agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi merupakan salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri. Agens hayati ini dapat menghambat pertumbuhan patogen, meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman, dan menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (fitoaleksin). Advinda (2004) melaporkan *Pseudomonas* berfluoresensi isolat PjPfl mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*, dan juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang.

Hingga saat ini masih belum banyak diteliti tentang pembuatan formula dari agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi. Kloeper dan Schroth (1981, *cit* Cook dan Baker, 1983) menggunakan formula 20% xanthan gum untuk menumbuhkan bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi, dan bakteri terpelihara selama dua bulan pada suhu 40°C. Sedangkan Weller dan Cook (1983, *cit* Cook dan Baker, 1983) memperbanyak bakteri ini dalam 1.5% metil selulosa. Dalam formula 1.5% metil selulosa populasi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi mampu bertahan selama lima minggu.

Dalam penelitian ini, peneliti memformula agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi isolat PjPj1. Formula ini memanfaatkan bahan yang mampu menjadi media tumbuh bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1 seperti: molase, agar, Nutrient Glucose Broth (NGB), Na-alginate, dan tepung tapioka. Kemudian formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1 yang terbaik mempertahankan populasi bakteri, diuji potensinya mengendalikan penyakit layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman pisang dengan melihat respon fisiologis.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Pisang (*Musa sp*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Hingga saat ini hampir setiap orang gemar mengkonsumsi pisang karena rasanya lezat, gizinya tinggi, dan harganya relatif murah. Pisang dapat dimakan dalam bentuk segar dan dapat diolah dalam berbagai bentuk produk seperti pisang sale, keripik tepung pisang dan lain-lain. Menurut Badan Pusat Statistik (2002) total produksi pisang di Indonesia mencapai 4.384.384 ton. Propinsi Sumatera Barat menduduki urutan ke empat setelah Lampung, Sumatera Selatan, dan Sumatera Utara dalam memproduksi pisang yaitu 46.389 ton.

Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat (2002) melaporkan bahwa produksi pisang di Propinsi Sumatera Barat menurun dari tahun ke tahun (1998 produksi 80.326 ton, 1999 produksi 81.865 ton, 2000 produksi 59.549 ton, 2001 produksi 48.810 ton, dan 2002 produksi 33.367 ton). Penurunan produksi pisang disebabkan karena gangguan hama dan penyakit layu. Penyakit layu bakteri dan layu *Fusarium* hampir memusnahkan pertanaman pisang di Sumatera Barat. Penyakit ini dilaporkan mulai berkembang di Sumatera Barat tahun 1996. Dari hasil pemantauan di lapangan sepanjang tahun 2002, diketahui penyakit ini sedikitnya menyerang satu juta rumpun pisang (Djoni, 2003). Nurhadi *et al* (1994) mengemukakan bahwa kehilangan hasil akibat penyakit layu bakteri pada tanaman pisang mencapai 20.015,98 ton, setara dengan Rp. 2.401.917.100,- dari 28 desa dalam enam kecamatan di Lampung Selatan, dan Hermanto *et al* (1998) memperkirakan sebesar Rp. 130.000.000 pada tahun 1998 di Kecamatan Sungai Pagu, Sumatera Barat.

Salah satu penyakit penting yang dapat menurunkan produksi pisang adalah penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* ras 2, dan dikenal sebagai penyakit Moko. Penyakit layu bakteri di Indonesia menempati urutan pertama dalam daftar prioritas penyakit yang disusun oleh jaringan kerja sama Asia Pasifik (Anonim, 1991). Berdasarkan jumlah kerugian dan luasnya serangan, Geddes (1992, *cit* Supriadi 2000) menempatkan *R. solanacearum* pada urutan ke enam dari 68 organisme pengganggu tanaman (OPT) di Indonesia.

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* adalah penyakit yang amat penting di belahan bumi ini. Bakteri ini menyerang sejumlah tanaman, meliputi lebih dari 270 spesies dalam 3 famili. Tanaman yang sering diserang patogen ini adalah tanaman

yang bernilai ekonomis seperti tembakau, tomat, kentang, lada, terung, kacang-kacangan, dan pisang (Goto, 1992).

Bakteri *R. solanacearum* dikelompokkan dalam beberapa ras berdasarkan patogenitasnya terhadap inang utama, yaitu ras 1 mempunyai banyak sekali inang, terutama famili Solanaceae dan sejumlah tanaman lainnya, ras 2 inang utamanya *Heliconia spp* dan pisang triploid, ras 3 inang utamanya adalah kentang dan tomat (Sigeo, 1993 dan Buddenhagen, 1986 *cit* Supriadi, 2000), ras 4 inang utamanya jahe, dan ras 5 inang utamanya adalah arbei (*Morus alba*) (Buddenhagen, 1986 *cit* Supriadi, 2000).

Bakteri *R. solanacearum* berbentuk batang, berukuran kira-kira 0.5-0.7 x 1.5-2.5  $\mu\text{m}$ , gram negatif dan aerob. Sejumlah strain menghasilkan pigmen coklat yang berdifusi ke medium kompleks (Buchanan dan Gibbons, 1974). Bakteri ini tidak berspora, mudah ditumbuhkan pada medium agar yang diperkaya dengan karbohidrat seperti gula, dan membentuk koloni tidak beraturan, fluidal, diameter 0.5-4.5 mm, dan berwarna putih susu. Pada medium yang mengandung tetrazolium klorida, bakteri berwarna merah muda di bagian tengah koloninya menunjukkan virulensi yang tinggi. Sebaliknya koloni bakteri berbentuk bulat kecil (1-2 mm) dan berwarna merah tua menunjukkan sifat tidak virulen (Supriadi, 2000). Bakteri *R. solanacearum* tidak memproduksi pigmen fluoresens, mengakumulasi poly- $\beta$ -hydroxybutyrate, reduksi nitrat dan denitrifikasi (Goto, 1992).

Bakteri *R. solanacearum* terutama merugikan di daerah tropis. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini sangat cepat berkembang pada suhu 27°C (Semangun, 2000), dan tidak ditemukan pada temperatur kurang dari 10°C (Goto, 1992). *R. solanacearum* tumbuh lebih aktif dalam keadaan kering (kandungan air 15-20%) daripada tanah yang lembab (kandungan air 40-50%), dan keasaman rendah (pH 5.4). Lingkungan yang kering dan keasaman yang rendah menyebabkan mikroorganisme lain tidak mampu tumbuh karena kompetisi terhadap nutrisi atau adanya produksi substansi penghambat. Meskipun masih ditemukan pada kedalaman tanah 80-100 cm, biasanya bakteri ini dijumpai pada kedalaman tanah 30 cm (Okabe, 1969, 1971, *cit* Goto, 1992).

Bakteri *R. solanacearum* masuk melalui sistem perakaran tanaman, kemudian segera memperbanyak diri dan mengkolonisasi jaringan pembuluh. Kelayuan tanaman oleh bakteri pada kebanyakan kasus disebabkan karena terhambatnya pengangkutan air akibat terisinya vesel dari xylem oleh massa sel bakteri dan lendir yang dihasilkannya. Kelayuan yang

disebabkan oleh bakteri *R. solanacearum* sangat cepat terjadinya. Tanaman tomat yang memperlihatkan gejala awal serangan patogen ini, hanya dalam beberapa jam kemudian akan layu secara keseluruhan (Goto, 1992). Disamping itu penyakit ini juga dapat menyebar melalui serangga pengunjung bunga jantan dan menunjukkan perkembangan gejala yang berbeda dengan yang ditularkan melalui tanah. Bakteri yang dipindahkan melalui serangga, sering tidak menampakkan gejala luar sampai munculnya buah (Rivai dan Habazar, 2002).

Gejala awal dari penyakit terlihat pada daun muda pertama, kedua ataupun ketiga yang berwarna hijau kekuningan dan akhirnya kolaps pada daerah antara tangkai daun dan helaian daun. Selanjutnya setelah daun tersebut layu maka daun lainnya pun layu dan kolaps. Gejala dalam yang lebih spesifik dari penyakit ini adalah jaringan pembuluh yang berubah warna dari coklat muda sampai coklat tua, dan bila tanaman dipotong akan keluar ooze. Serangga membawa ooze bakteri dari bunga jantan yang terinfeksi, kemudian menularkannya ke bunga jantan lainnya (Agrios, 1997, Stunsbury *et al*, 2001).

Bakteri patogen mampu memperbanyak diri di dalam ruang antar sel tanaman, karena tersedianya cairan yang mengandung gula (Klement *et al*, 1990), protein, nutrisi organik dan anorganik untuk pertumbuhannya (Rohringer *et al*, 1983). Di dalam ruang antar sel, bakteri menghasilkan faktor virulensi berupa ekstrapolisakarida, toksin dan enzim, sedangkan tanaman inang melakukan beberapa reaksi pertahanan aktif (Goto, 1990). Kajian pendahuluan telah dilaksanakan oleh tim yang dipimpin pengusul utama proposal ini dengan biaya bersumber dari Ditjen Dikti pada kegiatan Program Penelitian Dosen Muda tahun anggaran 2004. Penelitian tersebut berhasil mengisolasi bakteri patogen *R. solanacearum* dari buah pisang Kepok yang terserang penyakit layu bakteri (Advinda dkk, 2004).

Jaringan tanaman yang diinokulasi atau diinfeksi dengan bakteri, virus atau jamur, selalu melindungi diri terhadap infeksi. Fonomena yang umumnya terjadi pada tanaman ini disebut dengan induksi ketahanan (imunisasi). Ketahanan tanaman dapat diinduksi dengan perlakuan agens ketahanan (induser) seperti bakteri hidup atau bakteri yang dimatikan, komponen subseluler dari bakteri, agens biotik, ataupun stress, dan mekanisme ini dikenal dengan istilah imunisasi (Klement *et al*, 1990).

Kontak agens penginduksi dengan tanaman akan dapat merangsang mekanisme pertahanan tanaman. Bila agens penginduksi berupa mikroorganisme non patogen kontak dengan perakaran tanaman, maka mikroorganisme tersebut akan menyerap nutrisi dari

perakaran. Sedangkan mikroorganisme menghasilkan metabolit yang dapat diabsorpsi akar dan juga menginduksi ketahanannya. Efek induksi ketahanan ditranslokasikan ke atas (acropetal), yang menyebabkan bagian atas tanaman tahan terhadap beberapa penyakit. Mekanisme ini disebut dengan induksi ketahanan sistemik (Induced Systemic Resistance=ISR). Menurut Tuzun dan Kuc (1990), satu jenis agens penginduksi ketahanan dapat mengimunisasi tanaman terhadap berbagai jenis patogen. Tanaman ketimun yang diperlakukan daun pertamanya dengan organisme penyebab nekrosis dapat melindungi tanaman dari 13 jenis patogen yang meliputi jamur, bakteri, virus, bahkan serangga. Jenns *et al* (1979, dan Doss dan Hevesi, 1981 *cit* Klement *et al*, 1990) mengemukakan bahwa bila daun terbawah dari tanaman ketimun diinokulasi dengan patogen penyebab nekrosis, maka suatu sinyal induksi ketahanan tanaman ditranslokasikan ke seluruh daun tanaman. Kemudian suatu respon ketahanan pada daun sebelah atas terjadi ketika diserang patogen (challengger) 6 hari setelah pre-treatment.

Rhizobacteria merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang berpotensi dikembangkan sebagai agens penginduksi dalam pengendali penyakit tanaman. Habazar (2001) mengemukakan bahwa kemampuan agens hayati dalam menginduksi ketahanan tanaman yang rentan disebabkan karena beberapa faktor, antara lain: 1) Agens antagonis menghasilkan senyawa yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman seperti zat pengatur tumbuh, meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman sehingga dapat meningkatkan kesehatan tanaman dan tahan terhadap penyakit, misal: kelompok Rhizobacteria Pemacu Pertumbuhan Tanaman (Plant Growth Promoting Rhizobacteria= PGPR); 2) Agens antagonis menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (fitoaleksin) seperti senyawa-senyawa fenol. Blanco *et al* (2004) menyatakan bahwa beberapa jenis senyawa yang dihasilkan agens antagonis tersebut antara lain lipopolisakarida (LPS), siderofor, dan asam salisilat.

Rhizobacteria Pemacu Pertumbuhan Tanaman (PGPR) dapat diisolasi dari daerah perakaran tanaman dengan tidak mempertimbangkan fungsinya pada daerah perakaran tersebut. Beberapa strain PGPR dapat menekan penyakit tanaman melalui respon induksi ketahanan, yang diakhiri dengan suatu proses induksi ketahanan sistemik (ISR). Beberapa agens penginduksi ketahanan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman diantaranya *P. fluorescens*, *P. cepacia*, dan *Bacillus sp* (Cook dan Baker, 1983). Hasil penelitian Advinda

(2004) dilaporkan bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi isolat PjPfl dapat menghambat pertumbuhan patogen (*R. solanacearum*), dan juga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang.

*Pseudomonas* berfluoresensi bila diterapkan secara alami pada akar kentang dan gula bit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui penekanan mikroorganisme patogen dalam tanah ( $\pm$  90% kehilangan bakteri gram negatif termasuk *Pseudomonas* yang menghasilkan hidrogen sianida), dan 65% kehilangan jamur rizosfir. Peran antagonis bakteri ini adalah sehubungan dengan PGPR dan produksi siderofor (Kloepper *et al*, 1980 *cit* Sigeo, 1993). Campbell (1989) dan Sigeo (1993) menambahkan bahwa *P. fluorescens* dan *P. putida* berperan penting sebagai agens biokontrol dalam rizosfir, karena aktifitasnya luas dan sangat aktif memproduksi siderofor. Senyawa ini larut dalam air, cepat terdifusi dan dikenal sebagai pyoverdin atau pseudobactin. Zhou dan Paulitz (1994 *cit* Paulitz *et al*, TT) menambahkan bahwa PGPR dapat mengurangi insiden penyakit, dan menambah biomasa pada bagian atas dan bawah tanaman, termasuk meningkatkan jumlah buah tanaman ketimun.

Leeman *et al* (1996, *cit* Press *et al*, 2001) mengemukakan bahwa *P. fluorescens* WCS 374 dapat menginduksi ketahanan sistemik tanaman radis terhadap layu *Fusarium* dengan kondisi Fe yang terbatas pada media tumbuh. *Pseudomonas* spp dapat menginduksi ketahanan sistemik (ISR) tanaman ketimun terhadap busuk akar (root rot) *Pythium* oleh *Pythium aphanidermatum*. Zhou and Paulitz (1994, *cit* Paulitz *et al*, TT) menambahkan *P. aureofaciens* 63-28 dan *P. corrugata* 13 dapat menghambat penyebaran *Pythium aphanidermatum* dari sistem perakaran serta mengurangi zoospora dan perkecambahannya.

*P. aeruginosa* TNSK2 adalah kelompok mikroorganisme PGPR yang telah diisolasi dari perakaran tanaman gandum (Iswandi *et al*, 1987 *cit* Höfte *et al*, TT) dan merupakan agens biokontrol yang efektif terhadap patogen *Pythium splendens* pada perakaran tanaman tomat (Buysens, 1996 *cit* Höfte *et al*, TT). *P. aeruginosa* TNSK2 juga mampu menginduksi ketahanan sistemik tanaman buncis terhadap antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum lindemuthianum* (Höfte *et al*, TT). Sedangkan Nawangsih *et al* (1997) melaporkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* B29 dan B39 dapat menekan populasi bakteri *Xanthomonas campestris* *pv. glycine* penyebab penyakit bisul bakteri pada tanaman kedelai di lapangan. Mulya (1997) melaporkan bahwa *P. fluorescens* Pfg32 mampu menekan penyakit layu bakteri *R. solanacearum*. Hasil uji invitro dan spektrofotometer menegaskan bahwa mekanisme

antagonisnya adalah produksi antibiotik dan siderofor. Raaijmakers *et al* (1999) menemukan bahwa produksi antibiotik 2,4-Diacetylphloroglucinol pada rizosfer tanaman gandum dipengaruhi oleh kemampuan *P. fluorescens* Q2-87 mengkolonisasi perakaran, dan total antibiotik yang dihasilkan sebanding dengan kepadatan populasinya pada rizosfer.

Chen *et al* (2000 *cit* Paulitz *et al*, TT) melaporkan *P. aureofaciens* 63-28 dan *P. corrugata* 13 mampu menginduksi enzim pertahanan tanaman, seperti: fenilalanina amonia liase (FAL), peroksidase (PO), dan polifenoloksidase (PFO) pada perakaran tanaman ketimun. Enzim pertahanan ini mencapai puncaknya pada 2-4 hari setelah perlakuan perakaran dengan *Pythium aphanidermatum*. Redman *et al* (1999) dan Dornenburg *et al* (TT) mengemukakan bahwa enzim fenilalanina amonia liase (FAL) merupakan enzim kunci untuk pembentukan senyawa fenol pada tanaman, sedangkan enzim polifenoloksidase (PFO) dan peroksidase (PO) bertanggungjawab sebagai pengoksidasi senyawa fenol. Leatham *et al* (1980, *cit* Ward, 1986) mengemukakan bahwa oksidasi senyawa fenol merupakan suatu reaktif yang sangat tinggi dan sangat toksik baik bagi tanaman ataupun mikroorganisme. Enzim peroksidase berperan dalam sintesis lignin (Harkin dan Obst, 1973 *cit* Ward, 1986), oksidasi asam indolasetat (Meudt dan Stecher, 1972 *cit* Ward, 1986), biosintesis etilen (Mapson dan Wardale, 1972 *cit* Ward, 1986), dan biosintesis flavonoid (Rathmell dan Bendal, 1972 *cit* Ward, 1986). Menurut Dornenburg *et al* (TT) fenilalanina amonia liase (FAL) dapat meningkatkan pembentukan senyawa fenolik pada tanaman. Aktifitas fenilalanina amonia liase (FAL) ditandai dengan tingginya produksi polifenol yang beredar di ruang antar sel tanaman kentang.

Agrios (1997) mengemukakan bahwa aktifitas enzim PFO umumnya tinggi pada jaringan tanaman tahan yang terinfeksi daripada tanaman rentan atau tanaman sehat yang tidak terinfeksi. Aktifitas PFO sangat penting dalam ketahanan tanaman, karena kemampuannya mengoksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang sifatnya lebih toksik terhadap mikroorganisme dari pada fenol murni. Seiring dengan meningkatnya aktifitas enzim PFO, dihasilkan konsentrasi toksik yang tinggi sehingga tingkat ketahanan tanaman terhadap infeksi pun meningkat. Sedangkan enzim PO juga mengoksidasi fenol menjadi quinon dan dihasilkan hidrogen peroksida sebagai antimikroba. Disamping itu, hidrogen peroksida juga menghasilkan radikal bebas yang reaktifnya sangat tinggi dan selanjutnya dapat meningkatkan polimerisasi senyawa fenol ke dalam bentuk substansi ligninlike yang tersimpan dalam



dinding sel dan papillae. Substansi ini dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan patogen selanjutnya.

Untuk menumbuhkan dan memperbanyak *Pseudomonas* berfluoresensi diperlukan suatu media. Kloeper dan Schroth (1981, *cit* Cook dan Baker, 1983) memproduksi secara massal agens hayati ini dengan menggunakan xanthan gum sebagai media tumbuh. Formula yang mengandung 20% xanthan gum akan memelihara bakteri selama dua bulan pada suhu 40°C, dan mudah diberikan ke biji-bijian. Sedangkan Weller dan Cook (1983, *cit* Cook dan Baker, 1983) menyatakan bahwa populasi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi mampu bertahan selama lima minggu di dalam formula 1.5% metil selulosa, dan penyimpanan pada suhu 5°C. Cook dan Baker (1983) mengemukakan bahwa penelitian yang berkembang sampai saat ini masih menggunakan media agar padat dalam cawan petri untuk memproduksi *Pseudomonas* berfluoresensi secara massal. Untuk diperdagangkan, perlu menumbuhkan bakteri dalam fermenter yang mempunyai efektifitas biakan yang sama dengan media agar padat tersebut.

Pada penelitian ini telah dimanfaatkan bahan formula yang ketersediaannya cukup banyak, sehingga diharapkan dapat menjadi pilihan yang menjanjikan dalam usaha pengembangan media dalam rangka memproduksi secara massal bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi. Penelitian ini akan menggunakan molase, agar, Nutrient Glucose Broth (NGB), Na-alginate, dan tepung tapioka sebagai bahan pembuatan formula dari agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1. Molase adalah cairan yang berasal dari sisa gula yang tidak dapat dikristalkan lagi. Agar-agar berasal dari tanaman *Gelidium amansii*, dan mengandung glose (karbohidrat) yang mempunyai daya gelatin sangat kuat. Nutrient Glucose Broth (NGB) merupakan media tumbuh mikroorganisme yang mengandung asam amino atau senyawa protein seperti: peptide, protease, dan peptone. Sedangkan alginate dapat diproduksi dari glukosa, manitol ataupun glukonat.

### **BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

Tujuan pembuatan formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dengan memanfaatkan media tumbuh bakteri berupa molase, agar, Nutrient Glucose Broth (NGB), Na-alginate, dan tepung tapioka adalah untuk mendapatkan formula dan dosis yang efektif sebagai pengendali penyakit layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman pisang. Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang terbaik mempertahankan populasi bakteri, diuji potensinya mengendalikan penyakit layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman pisang dengan melihat respon fisiologis. Pemanfaatan bahan formula yang ketersediaannya cukup banyak, diharapkan dapat menjadi pilihan yang menjanjikan dalam usaha pengembangan media dalam rangka memproduksi secara massal bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi.

## BAB IV. METODE PENELITIAN

Penelitian tahun I terdiri dari tiga tahap:

Tahap 1. Pembuatan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.

Tahap 2. Uji Potensi Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro* dan *in planta*.

Tahap 3. Aktivitas Enzim Pertahanan Tanaman Pisang yang Telah Diaplikasi dengan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl.

### **Tahap 1. Pembuatan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.**

#### **1.1 Metode**

Pembuatan formula dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dengan menggunakan molase, agar, Nutrient Glucose Broth (NGB), Na-alginate, dan tepung tapioka, menguji potensinya sebagai pengendali penyakit layu bakteri *R. solanacearum* tanaman pisang secara *in vitro* dan *in planta*. Tanaman pisang yang digunakan adalah kultivar Barangan hasil kultur jaringan yang diperoleh dari Balai Benih Induk (BBI) Jakarta (Lampiran 2).

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam Faktorial 5x4 dengan 3 kali ulangan.

Faktor A adalah jenis formula, yang terdiri dari 5 taraf yaitu:

A1 = formula molase

A2 = formula agar

A3 = formula Nutrient Glucose Broth (NGB)

A4 = formula Na-alginate

A5 = formula tepung tapioka

Faktor B adalah masa inkubasi, yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

B1 = masa inkubasi 2 minggu

B2 = masa inkubasi 4 minggu

B3 = masa inkubasi 6 minggu

B4 = masa inkubasi 8 minggu

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMR pada taraf nyata 5%.

#### **1.2 Persiapan Penelitian**

##### **1.2.1 Peremajaan dan Perbanyak Inokulum *Pseudomonas* berfluoresensi**

*Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan adalah isolat PfPj1. *Pseudomonas* berfluoresensi PfPj1 merupakan hasil terbaik dari penapisan beberapa isolat yang telah dilakukan oleh Advinda (2004). Isolat diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B dengan metode gores. Perbanyakan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 ml medium King's B cair di dalam erlenmeyer 100 ml, dan dishaker selama 24 jam (preculture). Diambil 1 ml preculture, kemudian dipindahkan ke dalam 24 ml medium King's B cair dan diinkubasi selama 3 x 24 jam (main culture) di atas shaker (Lampiran 2).

### **1.2.2 Peremajaan dan Perbanyakan Inokulum *R. solanacearum***

Isolat *R. solanacearum* yang digunakan merupakan hasil isolasi yang telah dilakukan oleh Advinda (2004). Isolat diremajakan dalam cawan petri pada medium TTC dengan metode gores. Satu ose biakan murni dalam petri dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml akuades steril (pengenceran  $10^{-1}$ ). Sumber inokulum *R. solanacearum* diperbanyak dengan cara menginjektikan suspensi bakteri pada pengenceran  $10^{-1}$  sebanyak 0,1 ml pada pangkal batang semu bibit tanaman pisang Barangan berumur 1 bulan setelah aklimatisasi (3 cm di atas tanah, sudut  $45^{\circ}\text{C}$ ). Patogenisitas isolat ditandai dengan kemampuan bakteri untuk menimbulkan gejala penyakit berupa daun layu, menguning, dan kering (Lampiran 2).

Isolat *R. solanacearum* diisolasi dari tanaman pisang Barangan yang telah menampakkan gejala penyakit dengan cara mengambil  $1\text{ cm}^2$  jaringan tanaman pada bagian yang diinokulasi, kemudian disterilkan dengan alkohol 70% dan dicuci dengan akuades steril. Selanjutnya jaringan dihancurkan dengan lumpang porselen dan ditambahkan 9 ml akuades steril (pengenceran  $10^{-1}$ ).

## **1.3 Pelaksanaan**

### **1.3.1 Formula Molase**

Molase 50% sebanyak 49 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan disterilkan dalam autoclave suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, kemudian didinginkan. Selanjutnya ke dalam medium tersebut dimasukkan 1 ml suspensi *Pseudomonas* berfluoresensi PfPj1 (populasi  $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) dan diinkubasi sesuai perlakuan pada suhu kamar (Lampiran 2).

### 1.3.2 Formula Agar

Agar kering 200 g direndam 1 malam dengan air, kemudian dicuci sampai bersih. Rebus agar dengan 1 liter air selama 40 menit hingga air menjadi 200 ml, kemudian ditiris. Masukkan agar ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml dan disterilkan dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit. Setelah agar steril didiamkan hingga suhu 45°C, kemudian ke dalam agar tersebut dimasukkan 1 ml suspensi *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 (populasi  $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) dan di vortex. Selanjutnya agar dituangkan pada cawan petri dan inkubasi sesuai perlakuan pada suhu kamar (Lampiran 2).

### 1.3.3. Formula Nutrient Glucose Broth (NGB)

Sebanyak 50 ml Nutrient Broth + 0.5% (w/v) glukosa disterilisasi dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan. Selanjutnya ke dalam medium tersebut dimasukkan 1 ml suspensi *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 (populasi  $10^8$  sel/ml berdasarkan skala McFarland) dan diinkubasi sesuai perlakuan pada suhu kamar (Lampiran 2).

### 1.3.4 Formula Na-alginate

Sebanyak 50 ml main culture (populasi  $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dikeluarkan semua, sehingga yang tersisa berupa pelet. Pelet dicuci dengan menambahkan 10 ml 0.15 M NaCl, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan dikeluarkan lagi, sehingga pelet yang tersisa dicuci kembali dengan cara yang sama dengan sebelumnya. Terakhir adalah panen dari sel bakteri (pelet).

Sel basah (pelet) dari *Pseudomonas* berfluoresensi masing-masing sebanyak 1 g dicampurkan ke dalam media 2% Na-alginate. Kemudian diteteskan ke dalam 150 ml 2%  $\text{CaCl}_2$ , dan dibiarkan selama 20 menit. Butiran yang dihasilkan (ukuran 1.0 –1.2 mm) dikeringkan pada suhu ruang. Butiran Ca-alginate dilarutkan dalam 300 ml Na-sitrat buffer (pH 7.0) selama 40 menit (Patel *et al*, TT) (Lampiran 2).

### 1.3.5. Media Tepung Tapioka

Sebanyak 50 ml main culture (populasi  $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dikeluarkan semua, sehingga yang tersisa berupa pelet. Pelet

tersebut dicampurkan secara merata ke dalam 2 gram tepung tapioka steril, kemudian diinkubasi sesuai perlakuan pada suhu kamar (Lampiran 2).

#### 1.4 Pengamatan

Masa Aktif *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

Masa aktif *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dalam setiap formula diamati pada 2, 4, 6, 8 minggu masa inkubasi. Masa aktif bakteri ditandai dengan jumlah bakteri yang tumbuh setelah masa inkubasi, dan diamati dengan cara pengenceran seri ( $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ) serta media tumbuh King's B.

### Tahap 2. Uji Potensi Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro* dan *in planta*

Formula dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang digunakan pada Tahap 2 ini adalah yang mempunyai masa aktif terbaik (hasil Tahap 1). Terdapat 2 seri dalam penelitian ini, yaitu: seri I ditujukan untuk mendapatkan dosis dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang terbaik menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro*, dan seri II bertujuan mendapatkan dosis dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang terbaik menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in planta*.

#### 2.1 Seri I: Menentukan dosis terbaik dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 untuk menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro*.

##### 2.1.1 Metode

Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah:

P1 = kepadatan bakteri  $10^8$  sel/ml

P2 = kepadatan bakteri  $10^6$  sel/ml

P3 = kepadatan bakteri  $10^4$  sel/ml

K = kontrol (tanpa formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1)

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMR pada taraf nyata 5%.

##### 2.1.2 Pelaksanaan

Kertas cakram steril (diameter 1 cm) direndam dalam suspensi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 (sesuai perlakuan) selama 10 detik, kemudian dikeringkan dalam petri steril. Selanjutnya empat buah kertas cakram tersebut diletakkan ke dalam petri yang telah

berisi medium TTC dan suspensi *R. solanacearum*. Biakan ini diinkubasi pada suhu kamar selama 2 x 24 jam.

### 2.1.3 Pengamatan

Diameter Zona Hambatan

Pengamatan terhadap zona hambatan dilakukan dengan menghitung besarnya zona hambatan yang terbentuk pada kertas cakram dengan menggunakan mikrometer.

## 2.2 Seri II: Menentukan dosis terbaik dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1 untuk menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in planta*.

### 2.2.1 Metode

Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan.

Perlakuan tersebut adalah:

P1 = kepadatan bakteri  $10^8$  sel/ml

P2 = kepadatan bakteri  $10^6$  sel/ml

P3 = kepadatan bakteri  $10^4$  sel/ml

K = kontrol (tanpa formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1)

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

### 2.2.2 Pelaksanaan

Satu bulan setelah planlet pisang Barangan diaklimatisasi, dilakukan aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1 sesuai perlakuan. Perakaran dari bibit pisang dibersihkan dari sisa tanah dan dicelupkan ke dalam 20 ml suspensi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1 (sesuai perlakuan) selama 10 menit. Kemudian bibit pisang ditanam dalam polibag (diameter 30 cm) yang telah berisi 9 kg tanah+pupuk kandang steril dengan perbandingan 3:1.

Setelah satu bulan aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1, dilakukan inokulasi *R. solanacearum* melalui pelukaan akar bibit pisang. Tanah di sekitar batang bibit pisang ditusuk dengan jarak 5 cm dari batang dan kedalaman 10 cm, kemudian disiram dengan suspensi *R. solanacearum* ( $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) sebanyak 20 ml. Masa inkubasi dari bakteri diamati setiap hari selama 2 bulan, ditandai dengan gejala awal yaitu penguningan daun (Lampiran 2).

### 2.2.3 Pengamatan

#### a. Masa Inkubasi

Masa inkubasi dari bakteri diamati setiap hari setelah tanaman diinokulasi dengan *R. solanacearum*. Hal ini ditandai dengan munculnya gejala awal yaitu terjadi penguningan daun yang dimulai dengan bagian tengah di dekat pelepah daun dan diikuti dengan layunya daun tersebut (Baharuddin, 1994).

#### b. Intensitas Serangan

Pengamatan intensitas serangan penyakit dilakukan setiap minggu dengan cara skoring sebagai berikut (Sumardiyono dkk, 1999):

Skor	Keterangan
1	Daun tidak layu
2	1 helai daun layu
3	2 – 3 daun layu
4	4- 5 daun layu
5	> 5 daun layu (mati)

Intensitas penyakit dihitung dengan rumus:

$$IP = \frac{\sum n \times V}{N \times Z} \times 100\%$$

IP = Intensitas Penyakit

n = jumlah tanaman dengan skor tertentu

V = skor dari tanaman tertentu

N = Jumlah tanaman yang diamati

Z = skor tertinggi (5)

#### c. Lama Kematian Bibit Pisang

Lama kematian bibit pisang diamati setiap hari mulai dari munculnya gejala awal kelayuan bibit hingga bibit mati.

### Tahap 3. Aktivitas Enzim Pertahanan Tanaman Pisang yang Telah Diaplikasi dengan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl.

#### 3.1 Metode

Dosis dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl yang digunakan pada Tahap 3 adalah yang terbaik menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in planta* (hasil Tahap 2).



Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan.

Perlakuan tersebut adalah:

L1 = 1 hari setelah aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1

L2 = 2 hari setelah aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1

L3 = 3 hari setelah aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1

L4 = 4 hari setelah aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1

K = kontrol (0 hari, tanpa formula *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1)

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DN MRT pada taraf nyata 5%.

## **3.2 Pelaksanaan**

### **3.2.1 Aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1**

Satu bulan setelah planlet diaklimatisasi, dilakukan aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl. Perakaran dari bibit pisang dibersihkan dari sisa tanah dan dicelupkan ke dalam 20 ml suspensi formula *Pseudomonas* berfluoresensi selama 10 menit. Kemudian bibit pisang ditanam dalam polibag (diameter 30 cm) yang telah berisi 9 kg tanah + pupuk kandang steril dengan perbandingan 3 : 1.

### **3.2.2 Penentuan aktivitas enzim pertahanan tanaman.**

#### **a. Aktivitas Enzim Fenilalanina Amonia Liase (FAL).**

Penentuan aktivitas enzim FAL dilakukan menurut prosedur Saunders dan McClure (1975). Daun tanaman yang masih muda dipotong-potong sampai halus, dan 20 gram potongan jaringan dihancurkan dengan mortar, kemudian ditambahkan 40 ml bufer borat (pH 8,8) yang mengandung 54 mM mercaptoetanol dan 2 gram PVP. Selanjutnya campuran ini disentrifus dengan kecepatan 30.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Campuran 20 µl supernatan, 7 ml bufer borat, dan 20 µl fenilalanin diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dalam shaker (500 rpm). Selanjutnya reaksi tersebut dihentikan dengan menambahkan 1 ml 6 N HCl. Ke dalam kuvet diisi 3 ml campuran tersebut.

#### **b. Aktivitas enzim Peroksidase (PO) dan Polifenol Oksidase (PFO).**

Daun tanaman yang masih muda dipotong-potong sampai halus, dan ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian jaringan dihancurkan dengan mortar setelah ditambahkan segera 2.5 ml 0.5 M dapar kalium fosfat pH 7 dan 0.1 gram PVP. Campuran tersebut diambil

ekstraknya dan disaring dengan dua lapis kain kasa, disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan digunakan untuk mengukur aktivitas enzim.

Pengukuran aktivitas Peroksidase (PO) dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak enzim sebanyak 0.2 ml ke dalam kuvet yang telah berisi 5 ml larutan pirogalol (0,631 gram pirogalol dalam dapar fosfat 0.005 M, pH 6, dan volume akhir 100 ml), kemudian dikocok. Kuvet diletakkan pada spektrofotometer, kemudian diatur agar jarum absorban menunjukkan angka nol pada panjang gelombang 420 nm. Kuvet dikeluarkan dan tambahkan 0.5 ml larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1%, dikocok dan segera diletakkan pada spektrofotometer serta segera diamati perubahan absorban pada transmittan setiap 5 detik sampai tidak lagi terjadi perubahan.

Pengukuran aktivitas Polifenol Oksidase (PFO) dilakukan dengan cara memasukkan 0,5 ml ekstrak enzim dan 3 ml air destilasi ke dalam kuvet dan dikocok. Kuvet diletakkan pada spektrofotometer, kemudian diatur agar jarum menunjukkan absorban yang sama dengan angka nol pada panjang gelombang 495 nm, kemudian ditambahkan 1 ml larutan katekol 400 ppm, dikocok dan segera diletakkan pada spektronik. Perubahan absorban diamati setiap 5 detik sampai tidak terjadi perubahan lagi

### 3.3 Pengamatan

#### a. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL)

MILIK PERPUSTAKAAN  
UNIV. NEGERI PADANG

Penentuan aktivitas enzim dilakukan sesuai perlakuan yaitu: 1, 2, 3, dan 4 hari setelah inokulasi *R. solanacearum* pada bibit pisang yang telah diaplikasikan formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1. Aktivitas enzim diukur berdasarkan asam sinamat yang dihasilkan dengan menggunakan spektrofotometer ultra ungu pada panjang gelombang 290 nm dengan baku asam sinamat murni. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL) dinyatakan dengan  $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{g}$  jaringan.

#### b. Aktivitas enzim peroksidase (PO) dan polifenol oksidase (PFO)

Penentuan aktivitas enzim dilakukan sesuai perlakuan yaitu: 1, 2, 3, dan 4 hari setelah inokulasi *R. solanacearum* pada bibit pisang yang telah diaplikasikan formula *Pseudomonas* Berfluoresensi Pfpj1. Aktivitas PO maupun PFO diukur dengan rumus:

$$\text{APO} = \frac{\Delta A}{\Delta t} / (\text{g}) \text{ jaringan}$$

APO = aktivitas peroksidase

$\Delta A$  = selisih absorban

$\Delta t$  = selisih waktu

Hasil pengukuran absorban pada pengamatan digambarkan pada kertas grafik, dengan absis  $t$  (waktu) dan ordinat  $A$  (absorban). Aktivitas enzim ditentukan dari  $\Delta A$  pada awal reaksi persatuan waktu (menit) per gram jaringan segar.

## BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. HASIL

#### Tahap 1. Pembuatan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.

Formulasi agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 telah dilakukan menggunakan molase, agar, NGB, Na-alginate, dan tepung tapioka. Hasil pengamatan terhadap masa aktif bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 setelah diformula pada molase, agar, NGB, Na-alginate, dan tepung tapioka ditandai dengan jumlah bakteri yang tumbuh pada setiap masa inkubasi. Setiap formula memperlihatkan jumlah bakteri aktif tidak sama dan pada masa inkubasi yang berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 (Log X) yang aktif pada setiap formula dan masa inkubasi berbeda.

Faktor Tunggal A (Formula)	Faktor Tunggal B (Masa Inkubasi)				Faktor Utama
	B1 (2 minggu)	B2 (4 minggu)	B3 (6 minggu)	B4 (8 minggu)	
A1 (Molase)	34,41	32,60	0	0	16,75 a
A2 (Agar)	6,56	7,18	5,28	4,28	5,83 b
A3 (NGB)	53,36	53,21	0	0	26,64 c
A4 (Na-alginate)	6,37	8,85	8,80	5,29	7,33 d
A5 (Tapioka)	33,42	33,47	42,11	41,54	37,63 e
Faktor Utama	26,82 A	27,06 A	11,24 B	10,22 C	

Ket: Angka yang diikuti huruf besar dan huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata pada uji DNMR taraf nyata 5%.

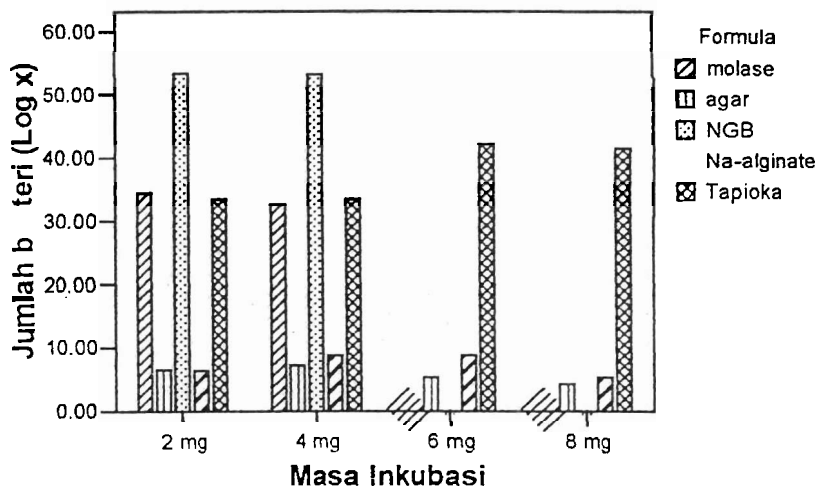
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa setiap bentuk formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang diujikan memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah bakteri yang aktif (Lampiran 1.). Setelah diuji secara statistik ditemukan bahwa perlakuan A1 (molase), A2 (agar), A3 (NGB), A4 (Na-alginate), dan A5 (tapioka) adalah berbeda nyata. Jumlah bakteri yang terbanyak adalah pada perlakuan A5 (tapioka) yaitu 37,63 atau  $42,66 \cdot 10^{36}$  CFU/ml. Sedangkan jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang terkecil adalah pada perlakuan A2 (agar) yaitu 5,83 atau  $6,76 \cdot 10^5$  CFU/ml (Lampiran 1).

Perlakuan masa inkubasi juga memperlihatkan perbedaan yang nyata dari hasil analisis sidik ragam. Setelah diuji secara statistik ternyata perlakuan B1 (2 minggu) dan B2 (4 minggu) berbeda tidak nyata, namun berbeda nyata dengan perlakuan B3 (6 minggu) dan B4

(8 minggu). Sedangkan perlakuan B3 (6 minggu) berbeda nyata dengan B4 (8 minggu). Pada perlakuan B2 (4 minggu) ditemukan rerata jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 terbanyak yaitu 27,06 atau  $11,48 \cdot 10^{26}$  CFU/ml, sedangkan yang paling sedikit ditemukan pada perlakuan B4 (8 minggu) yaitu 10,22 atau  $16,60 \cdot 10^9$  CFU/ml (Lampiran 1).

Perlakuan A5 (tapioka), disamping mempunyai rerata jumlah bakteri terbanyak, tetapi juga mempunyai masa aktif bakteri terlama yaitu hingga masa inkubasi 8 minggu (B4) dengan jumlah bakteri 41,54 atau  $34,67 \cdot 10^{40}$  CFU/ml. Namun pada masa inkubasi 6 minggu (B3), jumlah bakteri pada perlakuan A5 (tapioka) terbanyak dari pada perlakuan B1, B2, dan B4, yaitu 42,11 atau  $12,88 \cdot 10^{41}$  CFU/ml (Lampiran 1).

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat Gambar 1.



Gambar 1. Grafik jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang aktif pada setiap formula dan masa inkubasi berbeda.

Pada Gambar 1. dapat dilihat bahwa jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 terbanyak ada pada formula NGB dengan masa inkubasi 2 dan 4 minggu. Namun pada masa inkubasi 6 dan 8 minggu tidak ditemukan lagi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang mampu hidup. Bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 mampu hidup pada formula Na-alginate hingga 8 minggu masa inkubasi, meskipun pada akhir pengamatan ini bakteri memasuki fase kematian. Pada formula molase, bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 hanya mampu bertahan hidup hingga 4 minggu masa inkubasi. Formula tapioka mampu mempertahankan aktivitas bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 hingga akhir

pengamatan (8 minggu masa inkubasi) dengan pertumbuhan bakteri yang seimbang atau pada posisi fase stasioner

**Tahap 2. Uji Potensi Formula Pseudomonas berfluoresensi PFPj1 menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro* dan *in planta***

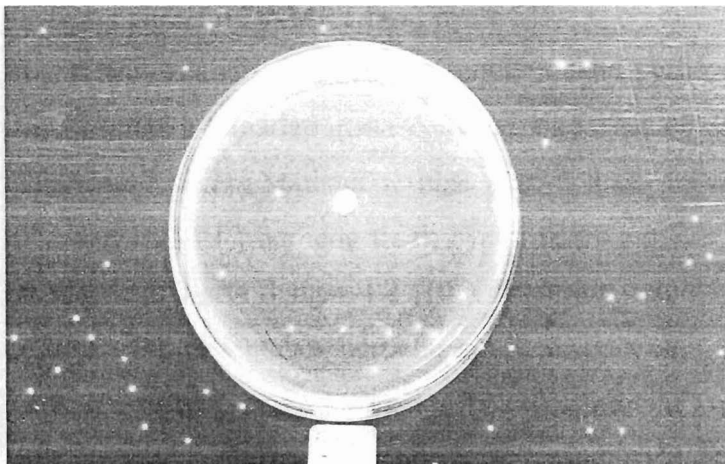
2.1 Seri I: Menentukan dosis terbaik dari formula Pseudomonas berfluoresensi PFPj1 untuk menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro*.

Formula yang digunakan untuk pengamatan Tahap 2, Seri I adalah yang mempunyai masa aktif bakteri Pseudomonas berfluoresensi PFPj1 terbaik (hasil Tahap 1) yaitu formula tapioka. Dari perlakuan ternyata tidak ada satupun perlakuan dosis formula tapioka Pseudomonas berfluoresensi yang mampu membentuk daerah zona hambat (Tabel 2).

Tabel 2. Zona hambatan bahan uji (dosis formula tapioka) terhadap *R. solanacearum*

No	Dosis (kepadatan bakteri Pseudomonas berfluoresensi)	Zona hambat (mm)
1.	P1 ( $10^8$ )	0
2.	P3 ( $10^6$ )	0
3.	P2 ( $10^4$ )	0
4.	K (kontrol)	0

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat Gambar 2.



Gambar 2. Zona hambatan yang tidak terbentuk pada medium TTC dengan menggunakan bahan uji terhadap *R. solanacearum*.

Pada Gambar 2. terlihat bahwa pemberian formula tapioka dengan berbagai dosis *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*.

## 2.2 Seri II: Menentukan dosis terbaik dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 untuk menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in planta*.

Formula yang digunakan untuk pengamatan Tahap 2, Seri II adalah yang mempunyai masa aktif bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 terbaik (hasil Tahap 1) yaitu formula tapioka. Hasil pengamatan terhadap masa inkubasi *R. solanacearum*, Intensitas Penyakit, dan lama kematian bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi terdapat perbedaan yang nyata (Tabel 3).

Tabel 3. Masa inkubasi *R. solanacearum*, Intensitas Penyakit, dan lama kematian bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi.

No.	Dosis (kepadatan bakteri <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi)	Masa Inkubasi (hari)	Intensitas Penyakit (%)	Lama Kematian Bibit (hari)
1.	K (kontrol)	10,0 a	33,33 b	10,00 b
2.	P1 ( $10^8$ )	6,67 ab	22,22 a	20,00 a
3.	P3 ( $10^4$ )	6,67 ab	33,33 b	15,33 ab
4.	P2 ( $10^6$ )	6,33 b	31,11 b	19,33 a

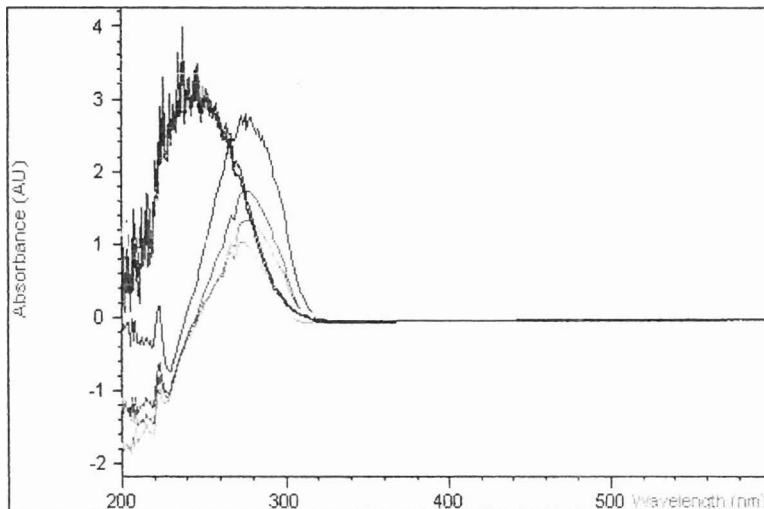
Ket: Angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan yang nyata dari perlakuan dosis formula tapioka terhadap masa inkubasi, intensitas penyakit, dan lama kematian bibit pisang. Setelah diuji secara statistik terlihat bahwa masa inkubasi pada perlakuan K (kontrol), P1 ( $10^8$ ), dan P3 ( $10^4$ ) berbeda tidak nyata, namun antara perlakuan P1 ( $10^8$ ) dan P3 ( $10^4$ ) juga berbeda tidak nyata dengan P2 ( $10^6$ ). Intensitas serangan penyakit yang terkecil adalah pada perlakuan P1 ( $10^8$ ), dan berbeda nyata dengan tiga perlakuan lainnya. Namun intensitas serangan penyakit pada perlakuan P2 ( $10^6$ ), P3 ( $10^4$ ), dan K (kontrol) berbeda tidak nyata. Kematian bibit pisang yang paling cepat terjadi pada perlakuan K (kontrol). Hasil uji statistik terhadap lama kematian bibit memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata antara perlakuan P1 ( $10^8$ ), P2 ( $10^6$ ), dan P3 ( $10^4$ ). Namun perlakuan K (kontrol) berbeda tidak nyata dengan perlakuan P3 ( $10^4$ ).

### Tahap 3. Aktivitas Enzim Pertahanan Tanaman Pisang yang Telah Diaplikasi dengan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.

#### a. Aktivitas FAL

Aplikasi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 telah dilakukan pada tanaman pisang. Dari hasil pengamatan dengan Spektrofotometer UV ternyata aktivitas FAL belum terlihat, ditandai dengan tidak terbentuk asam sinamat.



Gambar 3. Aktivitas FAL (produksi asam sinamat)

Pada Gambar 3. terlihat absorbansi dari asam sinamat dengan konsentrasi 10, 12, 15, dan 25 ppm dapat terdeteksi pada panjang gelombang yang sama. Namun panjang gelombang semua perlakuan tidak sama dengan panjang gelombang yang seharusnya yaitu panjang gelombang asam sinamat.

#### b. Aktivitas PO

Aplikasi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 telah dilakukan pada tanaman pisang. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata dari perlakuan yang diberikan (Tabel 4)



Tabel 4 Aktivitas PO tanaman pisang setelah diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

Perlakuan	Aktivitas enzim PO (perubahan absorbans/g/menit)
L1	0,213
L2	0,176
L3	0,027
L4	0,015
K	0,009

Keterangan:

L1 = 1 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

L2 = 2 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

L3 = 3 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

L4 = 4 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

K = kontrol (0 hari, tanpa formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1)

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa perlakuan L1 (1 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1) mempunyai aktivitas enzim PO tertinggi yaitu 0,213 perubahan absorbans/g/menit. Aktivitas PO pada kontrol adalah yang paling rendah yaitu 0,009 perubahan absorbans/g/menit.

#### b. Aktivitas PFO

Aplikasi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 telah dilakukan pada tanaman pisang. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan perbedaan yang nyata terhadap aktivitas PFO (Tabel 6) dan (Lampiran 1).

Tabel 5 . Aktivitas PFO tanaman pisang setelah diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

Perlakuan	Aktivitas enzim PFO (perubahan absorbans/g/menit)
L3	0,060 a
L4	0,037 ab
L2	0,027 bc
K	0,020 bc
L1	0,009 c

Ket: Angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%.

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa perlakuan L3 (3 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1) mempunyai aktivitas enzim PFO tertinggi yaitu 0,060 perubahan

absorbans/g/menit. Aktivitas PFO pada perlakuan L1 (1 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1) adalah yang paling rendah yaitu 0,009 perubahan absorbans/g/menit.

Hasil uji statistik dinyatakan bahwa perlakuan L3 (3 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1) dan L4 (4 hari aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1) berbeda tidak nyata.

## **B. PEMBAHASAN**

### **Tabap 1. Pembuatan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.**

Rerata jumlah bakteri terbanyak ditemukan pada formula tapioka yaitu 37,63, sedangkan yang paling sedikit pada formula agar. Bila dilihat Tabel 1. ternyata jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 pada formula tapioka mulai masa inkubasi 2 hingga 6 minggu terjadi kecendrungan peningkatan jumlah bakteri, walaupun pada masa inkubasi 8 minggu terjadi sedikit penurunan jumlah bakteri. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa formula tapioka mampu menjadi media tumbuh bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dan mempertahankan bakteri ini tetap aktif hingga 8 minggu masa inkubasi. Hal ini mungkin disebabkan karena tepung tapioka cukup menyediakan udara untuk kehidupan bakteri, mengandung karbohidrat sebagai sumber energi, enzim pengurai seperti lipase dan protease. Menurut Suprapti (2005), di dalam 100 g tepung tapioka terkandung kalori 362,0 kal, air 12,0 g, karbohidrat 86,9 g, protein 0,5 g, dan lemak 0,3 g. Anonim (2006) mengemukakan bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi memiliki enzim lipase yang mampu merombak lipid menjadi lipid sederhana, dan enzim protease yang merombak protein menjadi senyawa sederhana sehingga mudah diserap dan dicerna oleh bakteri.

Pada Gambar 1. terlihat bahwa bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang diformula dengan NGB (Nutrient Glucose Broth) mempunyai jumlah bakteri terbanyak bila dibandingkan dengan 4 formula lainnya hingga 4 minggu masa inkubasi. Namun pada 6 dan 8 minggu masa inkubasi bakteri ini tidak mampu lagi hidup ataupun aktif di dalam formula tersebut. Hal ini terjadi karena di dalam media tumbuh NGB terkandung nutrisi yang kaya seperti ekstrak daging, peptone, dan karbohidrat (Campbell, 1989). Pada masa inkubasi 2 minggu pada formula NGB bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 berada pada fase logaritmik (eksponensial). Pada fase ini terjadi pembelahan sel lebih cepat dan konstan sehingga jumlah bakteri lebih banyak. Keadaan ini berlangsung terus hingga nutrisi berkurang

atau habis, dan terbentuknya sisa metabolisme yang bersifat racun untuk bakteri (Alberida dan Advinda, 1999). Masa inkubasi 6 dan 8 minggu dalam formula NGB, bakteri berada pada fase kematian dan tidak ditemukan lagi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 yang masih aktif. Hal ini disebabkan karena nutrisi yang telah habis dan adanya sisa metabolisme yang dapat menjadi toksin bagi bakteri. Goto (1992) mengemukakan bahwa pada fase kematian akan terlihat ukuran sel bakteri menjadi kecil, atau pemanjangan sel yang abnormal.

Bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 tetap aktif hingga 8 minggu masa inkubasi dalam formula tapioka (Gambar 1). Pada minggu ke 8 masa inkubasi bakteri berada pada fase stasioner. Menurut Goto (1992), pada fase stasioner pertumbuhan bakteri maksimum dan konstan. Kecepatan pertumbuhan bakteri semakin berkurang pada fase ini karena lingkungan yang tidak menguntungkan seperti ketersediaan oksigen, nutrisi, dan perubahan pH.

## **Tahap 2. Uji Potensi Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro* dan *in planta***

### **2.1 Seri I: Menentukan dosis terbaik dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 untuk menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro*.**

Perlakuan dosis formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dengan kepadatan populasi  $10^8$ ,  $10^6$ , dan  $10^4$  sel/ml belum mampu membentuk zona hambat terhadap *R. solanacearum* (Tabel 2). Hal ini mungkin disebabkan kepadatan populasi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi yang kurang sehingga belum efektif dalam menjalankan fungsinya memproduksi antibiotik. Adaptasi terhadap media tumbuh yang baru yaitu TTC mungkin juga dapat mempengaruhi pertumbuhan *Pseudomonas* berfluoresensi yang ada dalam formula tapioka. Menurut Raaijmakers *et al* (1999), kepadatan populasi *Pseudomonas fluorescens* mempengaruhi produksi antibiotik 2,4-Diacetylphloroglucinol (Phl) pada Rizosfer tanaman gandum. Sedangkan Mulya dan Tsuyumu (1998) melaporkan bahwa kemampuan agens hayati *Pseudomonas fluorescens* PfG32 dalam mengendalikan *R. solanacearum* tergantung pada produksi antibiotik. Produksi antibiotik strain ini dipengaruhi oleh kondisi optimal dari pH, suhu, sumber Nitrogen, dan Karbon.

### **2.2 Seri II: Menentukan dosis terbaik dari formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 untuk menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara *in planta*.**

Masa inkubasi *R. solanacearum* pada tanaman pisang dapat diperlambat hingga 6.67 hari setelah aplikasi dengan formula tapioka dosis P1 ( $10^8$ ) dan P3 ( $10^4$ ), meskipun secara

statistik berbeda tidak nyata dengan perlakuan dosis P2 ( $10^6$ ). Tingkat ketahanan tanaman yang bervariasi diduga merupakan salah satu penyebab perbedaan masa inkubasi. Sullivan dan Gara (1992 cit Saravanan *et al*, 2004) menyatakan bahwa mekanisme penekanan penyakit oleh *Pseudomonas* berfluoresensi dapat terlaksana dengan baik tergantung kemampuannya menempati lingkungan perakaran. Selanjutnya Kloepper *et al* (1980 cit Saravanan *et al*, 2004) berpendapat bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi yang berbeda mempunyai kemampuan spesifik dalam menempati relung tertentu.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan yang nyata dari intensitas penyakit pada bibit pisang yang diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi. Perlakuan P1 ( $10^8$ ) memperlihatkan intensitas penyakit yang paling sedikit yaitu 22,22% dan berbeda nyata dengan tiga perlakuan lainnya. Hal ini mungkin disebabkan karena kemampuan bakteri dengan dosis P1 ( $10^8$ ) mengkoloni perakaran, sehingga dapat menginduksi ketahanan alami tanaman dengan adanya akumulasi fitoaleksin. Habazar (2001) mengemukakan bahwa aplikasi agens hayati pada tanaman dapat menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba seperti fitoaleksin. Menurut Blanco *et al* (2004) beberapa jenis senyawa yang dihasilkan agens hayati tersebut antara lain lipopolisakarida (LPS), siderofor, dan asam salisilat.

Tanaman yang tidak diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi (perlakuan K) mengalami kematian lebih awal bila dibandingkan dengan perlakuan dosis formula tapioka yaitu 10 hari setelah terlihat gejala awal terserang penyakit. Meskipun masa inkubasi lebih lambat pada perlakuan K (kontrol), namun lama kematian tanaman lebih cepat. Hal ini disebabkan karena tidak adanya agens penginduksi ketahanan tanaman yang diaplikasikan pada bibit, sehingga walaupun masa inkubasinya lebih lama dari perlakuan lainnya, namun lama kematiannya lebih awal. Perlakuan P1 ( $10^8$ ) mampu memperlambat kematian tanaman yaitu 20 hari. Saravanan *et al* (2004) melaporkan bahwa aplikasi *Pseudomonad* fluoresens Pfm pada perakaran tanaman pisang sangat berpotensi untuk menghambat patogen *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. Sedangkan Vidhyasekaran *et al* (1997) menyatakan bahwa *Pseudomonad* fluoresens Pf<sub>1</sub> mampu menginduksi ketahanan tanaman padi dari patogen *Pyricularia oryzae*. Dari hasil penelitian Blanco *et al* (2004) dilaporkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* memproduksi asam salisilat dan pseudobactin,

sehingga mampu menekan penyakit layu *Verticillium* pada tanaman *Olea europaea* L. oleh jamur *Verticillium dahliae* Kleb.

### **Tahap 3. Aktivitas Enzim Pertahanan Tanaman Pisang yang Telah Diaplikasi dengan Formula *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.**

#### **a. Aktivitas FAL**

Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya aktivitas FAL setelah aplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1. Hal ini terlihat pada Gambar 3. dimana pengamatan dengan baku mutu asam sinamat dengan konsentrasi 10, 12, 15, dan 25 dapat dilihat puncak dengan arah cendrung sama pada panjang gelombang yang sama. Namun untuk setiap perlakuan yang diberikan belum terlihat adanya pembentukan asam sinamat. Puncak yang dibentuk oleh perlakuan yang diberikan memberikan tanda bahwa senyawa lain yang mungkin diproduksi oleh tanaman pisang.

#### **b. Aktivitas PO**

Pada penelitian ini tidak terlihat adanya perbedaan yang nyata dari perlakuan terhadap aktivitas PO. Hal ini mungkin terjadi karena tidak diberikannya inokulasi patogen terhadap tanaman. PO adalah enzim yang merombak senyawa fenolik secara kondensasi membentuk lignin (Sánchez *et al*, 1996), dan berperan spesifik dalam reaksi hipersensitif terhadap patogen (Peng dan Kuc, 1992 *cit* Saravanan *et al*, 2004). Aktivitasnya berasosiasi dengan ketahanan penyakit tanaman dan meningkat dalam tanaman inang seiring dengan infeksi patogen (Samiyappan, 2003). Saravanan *et al* (2004) melaporkan bahwa aktivitas PO tanaman pisang meningkat setelah enam hari aplikasi dengan *P. fluorescens*. Aktivitas ini lebih meningkat lagi setelah delapan hari aplikasi dengan *P. fluorescens* dan inokulasi *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

#### **c. Aktivitas PFO**

Aktifitas enzim PFO sangat penting dalam ketahanan tanaman, karena kemampuannya mengoksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang sifatnya lebih toksik terhadap mikroorganisme dari pada fenol murni. Seiring dengan meningkatnya aktifitas enzim PFO, dihasilkan konsentrasi toksik yang tinggi sehingga tingkat ketahanan tanaman terhadap infeksi pun meningkat (Agrios, 1997, Kosuge, 1969 *cit* Saravanan *et al*, 2004). Akumulasi enzim PFO tidak hanya melibatkan respon pertahanan tanaman, tapi juga berasosiasi dengan

induksi pertahanan sistemik oleh *Pseudomonas fluorescens* terhadap penyakit layu pada pisang yang disebabkan oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Saravanan *et al*, 2004).

## BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

1. Formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 adalah yang terbaik dalam mempertahankan masa aktif bakteri hingga 8 minggu masa inkubasi.
2. Dosis  $10^8$  sel/ml formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 adalah yang terbaik dalam mengendalikan serangan *R. solanacearum*
3. Aplikasi formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 pada tanaman pisang memberikan perbedaan yang nyata terhadap PFO, berbeda tidak nyata pada PO, dan tidak terlihat adanya aktivitas FAL.

### B. Saran

Penelitian lebih lanjut untuk mengkaji produksi fitoaleksin sebagai akibat induksi ketahanan oleh formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi dan mekanisme histopatologisnya perlu dilakukan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alberida, H., Advinda L. 1999. **Pengantar Mikrobiologi**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang. Padang.
- Advinda, L. 2004. **Tanggap Pertumbuhan Tanaman Pisang yang Telah Diimunisasi dengan Pseudomonas berfluoresensi Terhadap *Ralstonia solanacearum***. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang.
- Advinda, L., Chatri, M., Efendi, J., Des M. 2007. **Formulasi Agens Hayati Pseudomonas berfluoresensi sebagai Pengendali Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum* Tanaman Pisang**. Laporan Hibah Bersaing Tahun I.
- Agrios, G.N. 1997. **Plant Pathology**. Fourth Edition. Academic Press. Sydney. Tokyo. Toronto.
- Anonim. 2006. *Pseudomonas fluorescens*. <http://www.wikipedia>. The free encyclopedia.htm
- Badan Pusat Statistik. 2002. **Produksi Tanaman Sayuran dan Buah-buahan**. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat. 2002. **Sumatera Barat dalam Angka**.
- Blanco, J.M., Jurado, D.R., Hervas, A., Diaz, R.M.J. 2004. **Suppression of Verticillium wilt in Olive Planting Stocs by Root-Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. Biological Control**. [www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)
- Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Eighth Edition. The Williams & Wilkins Company. Baltimore.
- Campbell, R. 1989. **Biological Control of Microbial Plant Pathogens**. Cambridge University Press. Cambridge.
- Cook, R.J., Baker, K.F. 1983. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. APS PRESS. St. Paul. Minnesota.
- Djoni. 2003. **Ditemukan, Penangkal Penyakit Layu Pohon Pisang**. Kompas. 16 Januari 2003.
- Dornenburg, H., Hemmerich, I., Martens, G., Wiesner, P., Knorr, D. (TT). **Stress Responses and Enzymatic Browning Reactions in Potato Cultures after High Pressure Treatment**. Berlin University of Technology-Department of Food Technology. Berlin. Germany.
- Goto, M. 1992. **Fundamentals of Bacterial Plant Pathology**. Academic Press, Inc. Sydney, Tokyo, Toronto.



- Habazar, T. 2001. **Aspek Imunisasi Dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati**. Orasi Ilmiah Pada Rapat Senat Terbuka. Fakultas Pertanian Universitas Andalas dalam Rangka Dies Natalis ke-47. 30 November 2001. Padang.
- Höfte, M., Bigirimana, J., De Meyer, G., Audenaert, K. TT. **Induced Systemic Resistance in Tomato, Tobacco and Bean by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Bacterial Determinants, Signal Transduction Pathways and Role of Host Resistance**. [http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdf\\_manuscripts/höfte.pdf](http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdf_manuscripts/höfte.pdf)
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C. 1990. **Methods in Phytobacteriology**. Akademiai Kiado. Budapest.
- Mulya, K. 1997. **Penekanan Perkembangan Penyakit Layu Bakteri Tomat oleh *Pseudomonas fluorescens* PfG32**. J. Hort. 7(2):685-691.
- Nawangsih, A.A., Thahjono, B., Suwanto, A., Aswidinnoor. 1997. **Keefektifan *Pseudomonas fluorescens* B29 dan B39 Dalam Menekan Penyakit Bisul Bakteri Pada Kedelai di Lapangan**. Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan 9 (2):1-7.
- Nurhadi., Ra'is, M., Harlion. 1994. **Serangan Bakteri dan Cendawan Pada Tanaman Pisang di Propinsi Dati I Lampung**. Info Hort. 2(1):37-40.
- Paulitz, T.C., Chen, C., Belanger, R., Benhamou, N. (TT). **Induced Systemic Resistance by *Pseudomonas spp* Against Pythium Root Rot**. [http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdf\\_manuscripts/paulitz.pdf](http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdf_manuscripts/paulitz.pdf)
- Press, CM., Loper, J.E., Kloepper, J.W. 2001. **Role of Iron in Rhizobacteria-Mediated Induced Systemic Resistance of Cucumber**. Phytopathology 91(6):593-598
- Ward, E.W.B. 1986. **Biochemical Mechanism Involved in Resistance of Plants to Fungi**. In Bailey, J.A (1986). *Biology and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Raaijmakers, J.M., Bonsall, R.F., Weller, D.M.1999. **Effect of Population Density of *Pseudomonas fluorescens* on Production of 2,4-Diacetylphloroglucinol in the Rhizosphere of Wheat**. Phytopathology 89(6):470-475.
- Redman, R.S., Freeman, S., Clifton, D.R., Morrel, J., Brown, G., Rodriguez, R.J. 1999. **Biochemical Analysis of Plant Protection Afforded by a Nonpathogenic Endophytic Mutant of *Colletotrichum magna***. Plant Physiol. 119:795-804.
- Rivai, F., Habazar, T. 2002. **Kematian Massal Tanaman Pisang di Sumatera Barat dan Upaya Penanggulangannya**. Kerjasama Pusat Studi dan Pengembangan Agens Hayati (PUSPAHATI) dengan Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang.
- Saravanan, T., Bhaskaran, R., Muthusamy, M. 2004. ***Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (Cv. Rasthali) against Fusarium Wilt Disease**. Plant Pathology Journal 3 (2): 72-80.

- Sánchez, M., Peña, M.J., Revilla, G., Zarra, I. 1996. Changes in Dehydrodiferulic Acids and Peroxidase Activity Against Ferulic Acid Associated with cell walls during growth of *Pinus pinaster* hypocotyl. **Plant Physiol** 111:941-946
- Sigeo, D.C. 1993. **Bacterial Plant Pathology**. Cambridge University Press. Cambridge.
- Stunbury, C., McKirdy, S., Power, G. 2001. **Moko Disease *Ralstonia solanacearum* (race 2)**. Factsheet No 21/2001.
- Suprati, M.L. 2005. Tepung Tapioka. Kanisius. Yogyakarta
- Supriadi. 2000. **Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Tumbuhan Obat dan Strategi Penanggulangannya**. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor.
- Tuzun, S., Kuc, J. 1990. Plant Immunization: an alternative to pesticides for control of Plant Diseases in the Greenhouse and Field. **FFTC Book Series No. 42: 30-40**
- Vidhyasekaran, P., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian, N., Vasumathi, K. 1997. Development of a Powder Formulation of *Pseudomonas fluorescens* for Control of Rice Blast. **Plant Pathology**, 46:291-297

Lampiran 1. Jumlah bakteri dan Tabel sidik ragam beberapa variabel pengamatan

Tabel 1. Jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 (CFU/ml) yang aktif pada setiap formula dan masa inkubasi berbeda.

Faktor Tunggal A (Formula)	Faktor Tunggal B (Masa Inkubasi)				Faktor Utama
	B1 (2 minggu)	B2 (4 minggu)	B3 (6 minggu)	B4 (8 minggu)	
A1 (Molase)	256,67.10 <sup>32</sup>	68,83.10 <sup>31</sup>	0	0	56,23.10 <sup>15</sup> a
A2 (Agar)	50,00.10 <sup>5</sup>	165,33.10 <sup>5</sup>	30,00.10 <sup>4</sup>	30.10 <sup>3</sup>	66,83.10 <sup>4</sup> b
A3 (NGB)	231,67.10 <sup>51</sup>	167,50.10 <sup>51</sup>	0	0	4,37.10 <sup>26</sup> c
A4 (Na-alginate)	23,44.10 <sup>5</sup>	70,79.10 <sup>7</sup>	63,10.10 <sup>7</sup>	19,50.10 <sup>4</sup>	21,38.10 <sup>6</sup> d
A5 (Tapioka)	26,30.10 <sup>32</sup>	29,51.10 <sup>32</sup>	12,88.10 <sup>41</sup>	34,67.10 <sup>41</sup>	42,66.10 <sup>36</sup> e
Faktor Utama	66,07.10 <sup>25</sup> A	11,48.10 <sup>26</sup> A	17,38.10 <sup>10</sup> B	16,60.10 <sup>9</sup> C	

Ket: Angka yang diikuti huruf besar dan huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%.

Sidik ragam jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 pada setiap formula

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20788,945(a)	21	989,950	4568,975	,000
Intercept	21287,317	1	21287,317	98248,638	,000
Formula	8643,684	4	2160,921	9973,429*	,000
MI	3950,444		1316,815	6077,573*	,000
Ulangan	,202	2	,101	,467	,631
Formula * MI	8194,615	12	682,885	3151,758*	,000
Error	8,233	38	,217		
Total	42084,496	60			
Corrected Total	20797,178	59			

Ket: \* = berbeda nyata pada taraf 5%

Sidik ragam masa inkubasi *R. solanacearum* pada bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		26,917	3	8,972	2,991	,096
	Linear Term	Contrast	16,017	1	16,017	5,339	,050
		Deviation	10,900	2	5,450	1,817	,224
Within Groups			24,000	8	3,000		
Total			50,917	11			

Sidik ragam intensitas penyakit pada bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka dari *Pseudomonas berfluoresensi Pfpj1* dan inokulasi *R. solanacearum*

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		251,659	3	83,886	4,528	,039
	Linear Term	Contrast	189,464	1	189,464	10,227	,013
		Deviation	62,196	2	31,098	1,679	,246
Within Groups			148,207	8	18,526		
Total			399,867	11			

Sidik ragam lama kematian bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka dari *Pseudomonas berfluoresensi Pfpj1* dan inokulasi *R. solanacearum*

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		190,333	3	63,444	5,324	,026
	Linear Term	Contrast	173,400	1	173,400	14,551	,005
		Deviation	16,933	2	8,467	,710	,520
Within Groups			95,333	8	11,917		
Total			285,667	11			

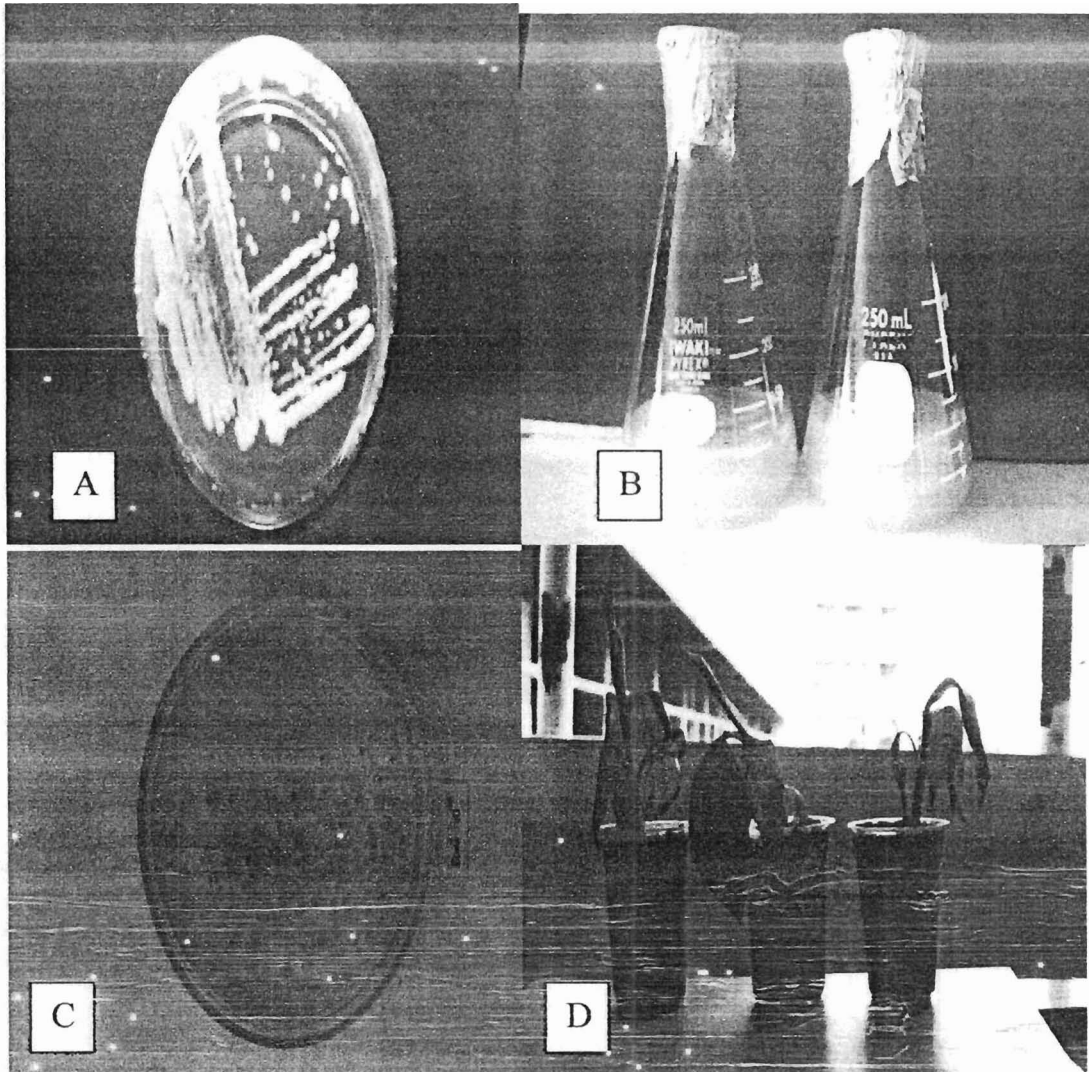
Sidik ragam aktivitas PO

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		,116	4	,029	2,696	,093
	Linear Term	Contrast	,009	1	,009	,844	,380
		Deviation	,107	3	,036	3,313	,065
Within Groups			,108	10	,011		
Total			,224	14			

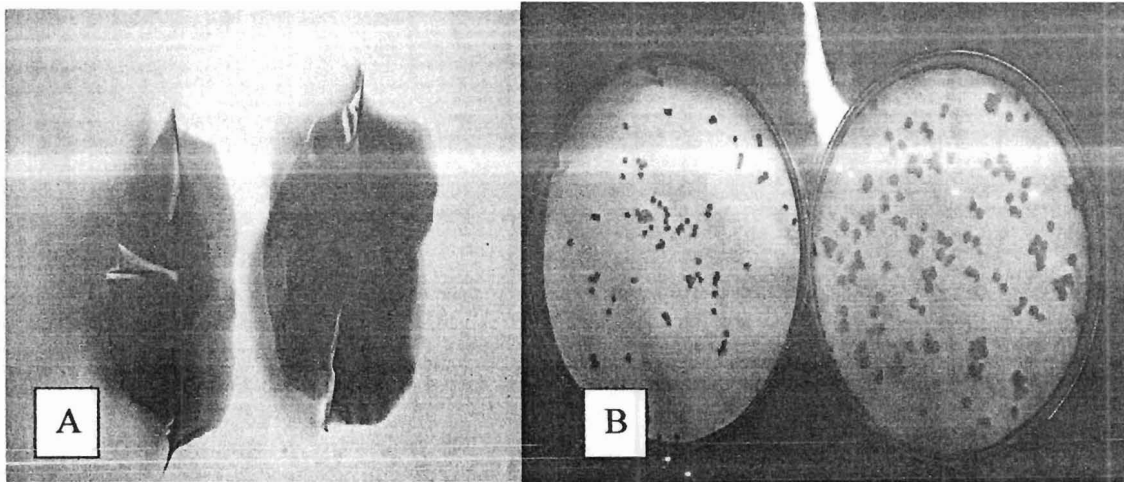
Sidik ragam aktivitas PFO

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		,005	4	,001	6,553	,007
	Linear Term	Contrast	,002	1	,002	12,445	,005
		Deviation	,002	3	,001	4,589	,029
Within Groups			,002	10	,000		
Total			,006	14			

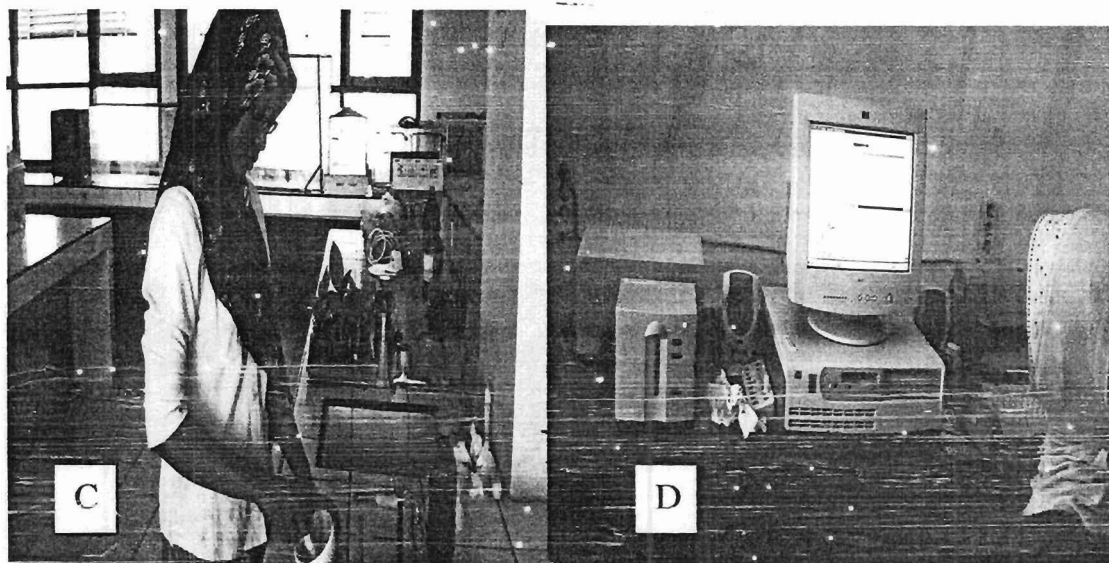
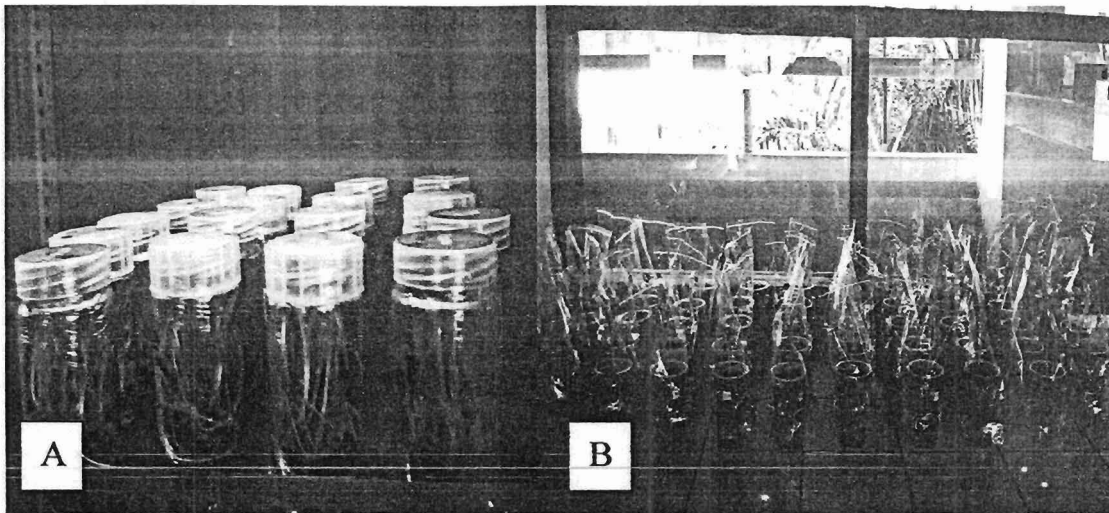
## Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. A. Peremajaan *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj I  
B. Perbanyakan *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj I  
C. Koloni bakteri *R. solanacearum* pada media TTC  
D. Bibit pisang yang telah diinokulasi dengan patogen *R. solanacearum*



Gambar 2. A. Formula agar dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1  
B. Formula alginate dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1  
C. Formula molase, NGB, dan tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1



Gambar 3. A. Planlet pisang Barangan  
 B. Aklimatisasi bibit pisang  
 C. Proses penggerusan objek untuk pengukuran aktivitas enzim ketahanan tanaman  
 D. Pengukuran aktivitas enzim ketahanan tanaman dengan Spektrofotometer UV



Gambar 4. A. Bibit pisang umur 1 bulan aklimatisasi di kebun percobaan  
B. Bibit pisang yang terserang bakteri *R. solanacearum*



## BIODATA PENELITI

### Ketua Peneliti:

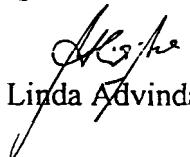
1. Nama Lengkap : Dra. Linda Advinda, M.Kes  
2. Umur/Kelamin/Agama : 43 Tahun/Perempuan/Islam  
3. Alamat : Jl. Hidayah Gg. Hidayah No. 12 A Rt. 10 Rw. V  
Dadok T. Hitam Padang  
4. Pangkat / Golongan : Penata / III d  
5. Jabatan : Lektor  
6. Kesatuan/Jawatan/Dinas  
Perguruan Tinggi : UNP Padang  
7. Alamat Kantor : Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang  
8. E-mail : advinda@yahoo.com  
9. Riwayat Pendidikan

No	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun tamat	Ijazah/Diploma/ Titel	Bidang Studi
1.	UNAIR Surabaya	Surabaya	1997	M.Kes	Mikrobiologi
2.	FMIPA Unand	Padang	1987	Dra	Biologi

### 10. Pengalaman Penelitian.

- Kajian Histopatologis Akar Tanaman Pisang yang Diinokulasi dengan Bakteri *Ralstonia solanacearum* E.F Smith.
- Tanggap Pertumbuhan Tanaman Pisang yang Telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* Berfluoresensi Terhadap *Ralstonia solanacearum*.
- Respon Pertumbuhan Tanaman Pisang terhadap Beberapa Isolat *Pseudomonas* Berfluoresensi.
- Tanggap Fisiologis Tanaman Pisang Yang Diimunisasi Dengan *Pseudomonas* Berfluoresensi Terhadap Bakteri *Ralstonia solanacearum*

Padang, 28 Oktober 2007

  
Linda Advinda

### Anggota Peneliti 1:

1. Nama Lengkap : Dra. Moralita Chatri, M.P  
2. Umur/Kelamin/Agama : 40 Tahun/Perempuan/Islam  
3. Alamat : Jl. Perintis No. 5. Parupuk Tabing. Padang  
4. Pangkat / Golongan : Penata / III c.  
5. Jabatan : Lektor  
6. Kesatuan/Jawatan/Dinas  
Perguruan Tinggi : UNP Padang  
7. Alamat Kantor : Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang  
8. Riwayat Pendidikan

No	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun Tamat	Ijazah/Diploma/ Titel	Bidang Spesialisasi
----	------------------	--------	-------------	-----------------------	---------------------

1.	UNAND	Padang	1989	Dra	Biologi
2.	PS. UNAND	Padang	1998	MP	Fitopatologi

9. Pengalaman Penelitian.

- Identifikasi Patogen pada Tanaman Kedelai di Sentra Produksi Kotamadya Padang
- Pengaruh konsentrasi filtrat *Pseudomonas siringae* pv. *glycinea* ras 4 terhadap kalus kedelai varietas Harosoy.
- Pemanfaatan ekstrak daun alpokat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas siringae* pv. *glycinea* secara *in vitro*
- Pengaruh Dosis Biakan Gliocladium terhadap Jamur *Sclerotium rolfsii* penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang pada Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.)
- Uji Efektifitas daun Mimba untuk Menghambat Pertumbuhan jamur *Alternaria porii*

Padang, 28 Oktober 2007



Moralita Chatri

Anggota Peneliti 2:

1. Nama Lengkap : Dra. Des M, M.S
2. Umur/Kelamin/Agama : 47 Tahun/Perempuan/Islam
3. Pangkat / Golongan : Penata TK I/ IIIc.
5. Jabatan : Lektor
6. Kesatuan/Jawatan/Dinas  
Perguruan Tinggi : UNP Padang
7. Alamat Kantor : Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang
8. Riwayat Pendidikan

No	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun	Ijazah/Diploma/ Titel	Bidang Studi
1.	ITB	Bandung	1996	M.S	Biologi
2.	FMIPA Unand	Padang	1994	Dra	Biologi

9. Pengalaman Penelitian

- Inventarisasi Tumbuhan Obat di Kotamadya Padang
- Pemanfaatan Lahan Pekarangan Sebagai Sumber Gizi di desa Malalo Kecamatan Batipuh Kab. Tanah Datar
- Pemanfaatan Ekstrak Daun Alpokat untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas siringae* pv. *glycinea* secara *in vitro*
- Jenis-jenis Araceae sebagai Tanaman Hias yang Diperdagangkan di Kota Padang
- Ethnobotany Tumbuhan Sayur di Kecamatan Guguk Kabupaten 50 Kota

Padang, 28 Oktober 2007



Des M

## SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN

Penelitian tahun I telah berhasil memformula bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi isolat Pfpj1 pada media tumbuh molase, agar, Nutrient Glucose Broth (NGB), Na-alginate, dan tepung tapioka. Formula tapioka adalah formula terbaik dalam mempertahankan aktivitas bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 hingga 8 minggu masa inkubasi. Setelah diaplikasikan pada tanaman pisang, terlihat dosis  $10^8$  sel/ml dari formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 mampu mengurangi intensitas serangan penyakit layu oleh *R. solanacearum* dan meningkatkan aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PFO).

Penelitian ini perlu dilanjutkan untuk mendalami mekanisme pengendalian penyakit layu bakteri *R. solanacearum* dengan menggunakan agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dalam bentuk formula tapioka. Pengkajian tentang produksi fitoaleksin tanaman pisang sebagai akibat induksi ketahanan tanaman oleh formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 merupakan hal penting yang perlu diteliti lebih lanjut, demikian juga dengan mekanisme histopatologis setelah adanya patogen *R. solanacearum*.

NASKAH ARTIKEL

UJI POTENSI FORMULA TAPIOKA PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI DALAM  
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Ralstonia solanacearum*  
SECARA *IN VITRO* DAN *IN PLANTA*

Oleh:

Linda Advinda  
Moralita Chatri  
Des M  
Jon Efendi

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG

# UJI POTENSI FORMULA TAPIOKA PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Ralstonia solanacearum* SECARA *IN VITRO* DAN *IN PLANTA*

Oleh:

Linda Advinda, Moralita Chatri, Des M<sup>1)</sup>, dan  
Jon Efendi<sup>2)</sup>

Penelitian telah dilakukan untuk menguji potensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro* dan *in planta*. Masa aktif *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 diuji dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah A (masa inkubasi 2 minggu), B (masa inkubasi 4 minggu), C (masa inkubasi 6 minggu), dan D (masa inkubasi 8 minggu). Untuk uji potensi formula secara *in vitro* dan *in planta* digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah P1 (kepadatan bakteri  $10^8$ ), P2 (kepadatan bakteri  $10^6$ ), P3 (kepadatan bakteri  $10^4$ ), dan K (kontrol). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian adalah: perlakuan C (Masa Inkubasi 6 minggu) mempunyai jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 terbanyak yaitu  $139,00.10^{40}$  CFU/ml. Kepadatan populasi  $10^8$ ,  $10^6$ , dan  $10^4$  sel/ml dari formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 belum mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in vitro*. Kepadatan populasi  $10^8$  sel/ml dari formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in planta*.

Kata kunci: *Pseudomonas* berfluoresensi, *Ralstonia solanacearum*, formula, tapioka.

---

<sup>1)</sup> Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang

<sup>2)</sup> Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang

## PENDAHULUAN

Pisang (*Musa sp*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Hingga saat ini hampir setiap orang gemar mengonsumsi pisang karena rasanya lezat, gizinya tinggi, dan harganya relatif murah. Produksi pisang di Propinsi Sumatera Barat menurun dari tahun ke tahun (1998 produksi 80.326 ton, 1999 produksi 81.865 ton, 2000 produksi 59.549 ton, 2001 produksi 48.810 ton, dan 2002 produksi 33.367 ton) (Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat, 2002). Penurunan produksi pisang disebabkan karena gangguan hama dan penyakit, antara lain penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* yang hampir memusnahkan pertanaman pisang di Sumatera Barat. Dari hasil pemantauan di lapangan sepanjang tahun 2002, diketahui penyakit ini sedikitnya menyerang satu juta rumpun pisang (Djoni, 2003).

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* adalah penyakit yang amat penting di belahan bumi ini. Bakteri ini menyerang sejumlah tanaman, meliputi lebih dari 270 spesies dalam 3 famili. Tanaman yang sering diserang patogen ini adalah tanaman yang bernilai ekonomis seperti tembakau, tomat, kentang, lada, terung, kacang-kacangan, dan pisang (Goto, 1992).

Pemanfaatan agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi merupakan salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri. Agens hayati ini dapat menghambat pertumbuhan patogen, meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman, dan menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (fitoaleksin). Advinda (2004) melaporkan *Pseudomonas* berfluoresensi isolat PjPfl mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*, dan juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang.

Hingga saat ini masih belum banyak diteliti tentang pembuatan formula dari agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi. Kloeper dan Schroth (1981, *cit* Cook dan Baker, 1983) menggunakan formula 20% xanthan gum untuk menumbuhkan bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi, dan bakteri terpelihara selama dua bulan pada suhu 40°C. Sedangkan Weller dan Cook (1983, *cit* Cook dan Baker, 1983) memperbanyak bakteri ini dalam 1.5% metil selulosa. Dalam formula 1.5% metil selulosa populasi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi mampu bertahan selama lima minggu.

Telah digunakan tepung tapioka untuk memformula agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi isolat PjPj1. Tepung tapioka dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1. Dosis formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi PjPj1 diuji potensinya mengendalikan penyakit layu bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro* dan *in planta*. Diharapkan pemanfaatan tapioka sebagai media tumbuh bakteri agens hayati ini dapat menjadi pilihan yang menjanjikan untuk usaha pengembangan media dalam rangka memproduksi bakteri secara massal dan aplikasinya di areal pertanian.

## BAHAN DAN METODE

*Pseudomonas* berfluoresensi yang diformula dengan tepung tapioka adalah isolat PjPj1 (hasil terbaik dari penapisan beberapa isolat yang telah dilakukan oleh Advinda, 2004). Untuk pengamatan masa aktif bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah A (masa

inkubasi 2 minggu), B (masa inkubasi 4 minggu), C (masa inkubasi 6 minggu), dan D (masa inkubasi 8 minggu). Untuk uji potensi formula secara *in vitro* dan *in planta* digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah P1 (kepadatan bakteri  $10^8$ ), P2 (kepadatan bakteri  $10^6$ ), P3 (kepadatan bakteri  $10^4$ ), dan K (kontrol). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

## 1. Persiapan Penelitian

### a. Peremajaan dan Perbanyakan *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

Isolat diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B dengan metode gores. Perbanyakan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 ml medium King's B cair di dalam erlenmeyer 100 ml, dan dishaker selama 24 jam (preculture). Diambil 1 ml preculture, kemudian dipindahkan ke dalam 24 ml medium King's B cair dan diinkubasi selama 3 x 24 jam (main culture) di atas shaker.

### b. Peremajaan dan Perbanyakan Inokulum *R. solanacearum*

Isolat *R. solanacearum* yang digunakan merupakan hasil isolasi yang telah dilakukan oleh Advinda (2004). Isolat diremajakan dalam cawan petri pada medium TTC dengan metode gores. Satu ose biakan murni dalam petri dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml akuades steril (pengenceran  $10^{-1}$ ). Sumber inokulum *R. solanacearum* diperbanyak dengan cara menginjektikan suspensi bakteri pada pengenceran  $10^{-1}$  sebanyak 0,1 ml pada pangkal batang semu bibit tanaman pisang Barangan berumur 1 bulan setelah aklimatisasi (3 cm di atas tanah, sudut  $45^{\circ}\text{C}$ ). Patogenisitas isolat ditandai dengan kemampuan bakteri untuk menimbulkan gejala penyakit berupa daun layu, menguning, dan kering.

Isolat *R. solanacearum* diisolasi dari tanaman pisang Barangan yang telah menampakkan gejala penyakit dengan cara mengambil 1  $\text{cm}^2$  jaringan tanaman pada bagian yang diinokulasi, kemudian distrerilkan dengan alkohol 70% dan dicuci dengan akuades steril. Selanjutnya jaringan dihancurkan dengan lumpang porselen dan ditambahkan 9 ml akuades steril (pengenceran  $10^{-1}$ ).

## 2. Pelaksanaan Penelitian

### a. Pembuatan formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

Sebanyak 50 ml main culture (populasi  $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) dari *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dikeluarkan semua, sehingga yang tersisa berupa pelet. Pelet tersebut dicampurkan secara merata ke dalam 2 gram tepung tapioka steril, kemudian diinkubasi selama 2, 4, 6, dan 8 minggu pada suhu kamar.

b. Uji potensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in vitro*

Dosis formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 yang digunakan adalah yang mempunyai masa aktif terbaik setelah perlakuan inkubasi. Kertas cakram steril (diameter 1 cm) direndam dalam suspensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 ( $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands) selama 10 detik, kemudian dikeringkan dalam petri steril. Selanjutnya empat buah kertas cakram tersebut diletakkan ke dalam petri yang telah berisi medium TTC dan suspensi *R. solanacearum*. Biakan ini diinkubasi pada suhu kamar selama 2 x 24 jam.

c. Uji potensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in planta*

Dosis formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 yang digunakan adalah yang mempunyai masa aktif terbaik setelah perlakuan inkubasi. Satu bulan setelah planlet pisang Barangan diaklimatisasi, dilakukan aplikasi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl. Perakaran dari bibit pisang dibersihkan dari sisa tanah dan dicelupkan ke dalam 20 ml suspensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 ( $10^8$  sel/ml berdasarkan skala 1 McFarlands). suspensi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl (sesuai perlakuan) selama 10 menit. Kemudian bibit pisang ditanam dalam polibag (diameter 30 cm) yang telah berisi 9 kg tanah+pupuk kandang steril dengan perbandingan 3:1. Setelah satu bulan aplikasi formula *Pseudomonas* berfluoresensi PjPfl, dilakukan inokulasi *R. solanacearum* melalui pelukaan akar bibit pisang.

### 3. Pengamatan

a. Masa Aktif *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1

Masa aktif *Pseudomonas* berfluoresensi PFPj1 dalam formula tapioka diamati pada 2, 4, 6, 8 minggu masa inkubasi. Masa aktif bakteri ditandai dengan jumlah bakteri yang tumbuh



setelah masa inkubasi, dan diamati dengan cara pengenceran seri ( $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ) serta media tumbuh King's B.

b. Diameter Zona Hambatan

Pengamatan terhadap zona hambatan dilakukan dengan menghitung besarnya zona hambatan yang terbentuk pada kertas cakram dengan menggunakan mikrometer.

c. Masa Inkubasi

Masa inkubasi dari bakteri diamati setiap hari setelah tanaman diinokulasi dengan *R. solanacearum*. Hal ini ditandai dengan munculnya gejala awal yaitu terjadi penguningan daun yang dimulai dengan bagian tengah di dekat pelepah daun dan diikuti dengan layunya daun tersebut (Baharuddin, 1994).

d. Intensitas Serangan

Pengamatan intensitas serangan penyakit dilakukan setiap minggu dengan cara skoring sebagai berikut (Sumardiyono dkk, 1999):

Skor	Keterangan
1	Daun tidak layu
2	1 helai daun layu
3	2 – 3 daun layu
4	4- 5 daun layu
5	> 5 daun layu (mati)

Intensitas penyakit dihitung dengan rumus:

$$IP = \frac{\sum n \times V}{N \times Z} \times 100\%$$

IP = Intensitas Penyakit

n = jumlah tanaman dengan skor tertentu

V = skor dari tanaman tertentu

N = Jumlah tanaman yang diamati

Z = skor tertinggi (5)

e. Lama Kematian Bibit Pisang

Lama kematian bibit pisang diamati setiap hari mulai dari munculnya gejala awal kelayuan bibit hingga bibit mati.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Pembuatan formula tapioka dari *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1

Telah dilakukan formulasi agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menggunakan tapioka. Hasil pengamatan terhadap masa aktif bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 setelah diformula pada tepung tapioka ditandai dengan jumlah bakteri yang tumbuh pada setiap masa inkubasi (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 pada formula tapioka

Perlakuan	Jumlah bakteri	
	CFU/ml	Log x
C (Masa Inkubasi 6 minggu)	$139,00.10^{40}$	42,11 a
D (Masa Inkubasi 8 minggu)	$52,67.10^{40}$	41,54 b
A (Masa Inkubasi 2 minggu)	$29,67. 10^{32}$	33,47 c
B (Masa Inkubasi 4 minggu)	$29,33.10^{32}$	33,42 c

Ket: Angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata pada uji DNMR taraf nyata 5%.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan jumlah bakteri pada setiap masa inkubasi memberikan perbedaan yang nyata. Setelah diuji secara statistik terlihat perlakuan C (Masa Inkubasi 6 minggu) berbeda nyata dengan perlakuan A (Masa Inkubasi 2 minggu), B (Masa Inkubasi 4 minggu), dan D (Masa Inkubasi 8 minggu). Sedangkan perlakuan A (Masa Inkubasi 2 minggu) dan B (Masa Inkubasi 4 minggu) berbeda tidak nyata secara statistik.

Pada perlakuan C (Masa Inkubasi 6 minggu) ditemukan rerata jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 terbanyak yaitu  $139,00.10^{40}$  CFU/ml atau 42,11 (Log x), sedangkan yang paling sedikit pada perlakuan B (Masa Inkubasi 4 minggu) yaitu  $29,33.10^{32}$  CFU/ml atau 33,42 (Log x).

Pada Tabel 1. terlihat jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 pada formula tapioka mulai masa inkubasi 2 hingga 6 minggu terjadi kecendrungan peningkatan, walaupun pada masa inkubasi 8 minggu terjadi sedikit penurunan jumlah bakteri. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa formula tapioka mampu menjadi media tumbuh bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dan mempertahankan bakteri ini tetap aktif hingga 8 minggu masa inkubasi. Hal ini mungkin disebabkan karena tepung tapioka cukup menyediakan udara untuk kehidupan bakteri, mengandung karbohidrat sebagai sumber energi, enzim pengurai seperti

lipase dan protease. Menurut Suprpti (2005), di dalam 100 g tepung tapioka terkandung kalori 362,0 kal, air 12,0 g, karbohidrat 86,9 g, protein 0,5 g, dan lemak 0,3 g. Anonim (2006) mengemukakan bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi memiliki enzim lipase yang mampu merombak lipid menjadi lipid sederhana, dan enzim protease yang merombak protein menjadi senyawa sederhana sehingga mudah diserap dan dicerna oleh bakteri.

b. Uji potensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in vitro*

Dari perlakuan yang diberikan ternyata tidak ada satupun perlakuan dosis formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi yang mampu membentuk daerah zona hambat (Tabel 2).

Tabel 2. Zona hambatan bahan uji (dosis formula tapioka) terhadap *R. solanacearum*

No	Dosis (kepadatan bakteri <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi)	Zona hambat (mm)
1.	P1 ( $10^8$ )	0
2.	P3 ( $10^6$ )	0
3.	P2 ( $10^4$ )	0
4.	K (kontrol)	0

Perlakuan dosis formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 dengan kepadatan populasi  $10^8$ ,  $10^6$ , dan  $10^4$  sel/ml belum mampu membentuk zona hambat terhadap *R. solanacearum*. Hal ini mungkin disebabkan kepadatan populasi bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi yang kurang sehingga belum efektif dalam menjalankan fungsinya memproduksi antibiotik. Adaptasi terhadap media tumbuh yang baru yaitu TTC mungkin juga dapat mempengaruhi pertumbuhan *Pseudomonas* berfluoresensi yang ada dalam formula tapioka. Menurut Raaijmakers *et al* (1999), kepadatan populasi *Pseudomonas fluorescens* mempengaruhi produksi antibiotik 2,4-Diacetylphloroglucinol (Phl) pada Rizosfer tanaman gandum. Sedangkan Mulya dan Tsuyumu (1998) melaporkan bahwa kemampuan agens hayati *Pseudomonas fluorescens* PFG32 dalam mengendalikan *R. solanacearum* tergantung pada produksi antibiotik. Produksi antibiotik strain ini dipengaruhi oleh kondisi optimal dari pH, suhu, sumber Nitrogen, dan Karbon.

c. Uji potensi formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in planta*

Hasil pengamatan terhadap masa inkubasi *R. solanacearum*, Intensitas Penyakit, dan lama kematian bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi terdapat perbedaan yang nyata (Tabel 3).

Tabel 3. Masa inkubasi *R. solanacearum*, Intensitas Penyakit, dan lama kematian bibit pisang yang telah diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1.

No.	Dosis (kepadatan bakteri <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi)	Masa Inkubasi (hari)	Intensitas Penyakit (%)	Lama Kematian Bibit (hari)
1.	K (kontrol)	10,0 a	33,33 b	10,00 b
2.	P1 ( $10^8$ )	6,67 ab	22,22 a	20,00 a
3.	P3 ( $10^4$ )	6,67 ab	33,33 b	15,33 ab
4.	P2 ( $10^6$ )	6,33 b	31,11 b	19,33 a

Ket: Angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan yang nyata dari perlakuan dosis formula tapioka terhadap masa inkubasi, intensitas penyakit, dan lama kematian bibit pisang. Setelah diuji secara statistik terlihat bahwa masa inkubasi pada perlakuan K (kontrol), P1 ( $10^8$ ), dan P3 ( $10^4$ ) berbeda tidak nyata, namun antara perlakuan P1 ( $10^8$ ) dan P3 ( $10^4$ ) juga berbeda tidak nyata dengan P2 ( $10^6$ ). Intensitas serangan penyakit yang terkecil adalah pada perlakuan P1 ( $10^8$ ), dan berbeda nyata dengan tiga perlakuan lainnya. Namun intensitas serangan penyakit pada perlakuan P2 ( $10^6$ ), P3 ( $10^4$ ), dan K (kontrol) berbeda tidak nyata. Kematian bibit pisang yang paling cepat terjadi pada perlakuan K (kontrol). Hasil uji statistik terhadap lama kematian bibit memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata antara perlakuan P1 ( $10^8$ ), P2 ( $10^6$ ), dan P3 ( $10^4$ ). Namun perlakuan K (kontrol) berbeda tidak nyata dengan perlakuan P3 ( $10^4$ ).

Masa inkubasi *R. solanacearum* pada tanaman pisang dapat diperlambat hingga 6,67 hari setelah aplikasi dengan formula tapioka dosis P1 ( $10^8$ ) dan P3 ( $10^4$ ), meskipun secara statistik berbeda tidak nyata dengan perlakuan dosis P2 ( $10^6$ ). Tingkat ketahanan tanaman yang bervariasi diduga merupakan salah satu penyebab perbedaan masa inkubasi. Sullivan dan Gara (1992 *cit* Saravanan *et al*, 2004) menyatakan bahwa mekanisme penekanan penyakit oleh *Pseudomonas* berfluoresensi dapat terlaksana dengan baik tergantung kemampuannya

menempati lingkungan perakaran. Selanjutnya Kloepper *et al* (1980 cit Saravanan *et al*, 2004) berpendapat bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi yang berbeda mempunyai kemampuan spesifik dalam menempati relung tertentu.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan yang nyata dari intensitas penyakit pada bibit pisang yang diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi. Perlakuan P1 ( $10^8$ ) memperlihatkan intensitas penyakit yang paling sedikit yaitu 22,22% dan berbeda nyata dengan tiga perlakuan lainnya. Hal ini mungkin disebabkan karena kemampuan bakteri dengan dosis P1 ( $10^8$ ) mengkoloni perakaran, sehingga dapat menginduksi ketahanan alami tanaman dengan adanya akumulasi fitoaleksin. Habazar (2001) mengemukakan bahwa aplikasi agens hayati pada tanaman dapat menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba seperti fitoaleksin. Menurut Blanco *et al* (2004) beberapa jenis senyawa yang dihasilkan agens hayati tersebut antara lain lipopolisakarida (LPS), siderofor, dan asam salisilat.

Tanaman yang tidak diaplikasi dengan formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi (perlakuan K) mengalami kematian lebih awal bila dibandingkan dengan perlakuan dosis formula tapioka yaitu 10 hari setelah terlihat gejala awal terserang penyakit. Meskipun masa inkubasi lebih lambat pada perlakuan K (kontrol), namun lama kematian tanaman lebih cepat. Hal ini disebabkan karena tidak adanya agens penginduksi ketahanan tanaman yang diaplikasikan pada bibit, sehingga walaupun masa inkubasinya lebih lama dari perlakuan lainnya, namun lama kematiannya lebih awal. Perlakuan P1 ( $10^8$ ) mampu memperlambat kematian tanaman yaitu 20 hari. Saravanan *et al* (2004) melaporkan bahwa aplikasi *Pseudomonad* fluoresens Pfm pada perakaran tanaman pisang sangat berpotensi untuk menghambat patogen *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. Sedangkan Vidhyasekaran *et al* (1997) menyatakan bahwa *Pseudomonad* fluoresens Pf<sub>1</sub> mampu menginduksi ketahanan tanaman padi dari patogen *Pyricularia oryzae*. Dari hasil penelitian Blanco *et al* (2004) dilaporkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* memproduksi asam salisilat dan pseudobactin, sehingga mampu menekan penyakit layu *Verticillium* pada tanaman *Olea europaea* L. oleh jamur *Verticillium dahliae* Kleb.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

Jumlah bakteri *Pseudomonas* berfluoresensi PfPj1 terbanyak terdapat pada perlakuan masa inkubasi 6 minggu yaitu  $139,00.10^{10}$  CFU/ml. Kepadatan populasi  $10^8$ ,  $10^6$ , dan  $10^4$

sel/ml dari formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 belum mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in vitro*. Kepadatan populasi  $10^8$  sel/ml dari formula tapioka *Pseudomonas* berfluoresensi Pfpj1 mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in planta*. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan tentang mekanisme penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Advinda, L. 2004. **Tanggap Pertumbuhan Tanaman Pisang yang Telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi Terhadap *Ralstonia solanacearum*.** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang.
- Anonim. 2006. *Pseudomonas fluorescens*. <http://www.wikipedia, the free encyclopedia.htm>.
- Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat. 2002. **Sumatera Barat dalam Angka.**
- Blanco, J.M., Jurado, D.R., Hervás, A., Diaz, R.M.J. 2004. **Suppression of Verticillium wilt in Olive Planting Stocs by Root-Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp.** Biological Control. [www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)
- Cook, R.J., Baker, K.F. 1983. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens.** APS PRESS. St. Paul. Minnesota.
- Djoni. 2003. Ditemukan, Penangkal Penyakit Layu Pohon Pisang. **Kompas.** 16 Januari 2003.
- Goto, M. 1992. **Fundamentals of Bacterial Plant Pathology.** Academic Press, Inc. Sydney. Tokyo, Toronto.
- Habazar, T. 2001. **Aspek Imunisasi Dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati.** Orasi Ilmiah Pada Rapat Senat Terbuka. Fakultas Pertanian Universitas Andalas dalam Rangka Dies Natalis ke-47. 30 November 2001. Padang.
- Mulya, K., Tsuyumu, S. 1998. Some Physiological Factors Influencing Antibiotic Production by *Pseudomonas fluorescens* PFG32. **Indonesian Journal of Agricultural Biotechnology. V.3(1), January 1998**
- Raaijmakers, J.M., Bonsall, R.F., Weller, D.M.1999. Effect of Population Density of *Pseudomonas fluorescens* on Production of 2,4-Diacetylphloroglucinol in the Rhizosphere of Wheat. **Phytopathology 89(6):470-475.**
- Saravanan, T., Bhaskaran, R., Muthusamy, M. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (Cv. Rasthali) against Fusarium Wilt Disease. **Plant Pathology Journal 3 (2): 72-80.**
- Suprapti, M.L. 2005. **Tepung Tapioka.** Kanisius. Yogyakarta.
- Vidhyasekaran, P., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian, N., Vasumathi, K. 1997. Development of a Powder Formulation of *Pseudomonas fluorescens* for Control of Rice Blast. **Plant Pathology, 46:291-297**