

LAPORAN PENELITIAN
DOSEN MUDA



TANGGAP FISILOGIS TANAMAN PISANG YANG DIIMUNISASI
DENGAN PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI TERHADAP
BAKTERI *Ralstonia solanacearum*

MILIK PERPUSTAKAAN UNIV. NEGERI PADANG	
DITERIMA TGL. :	15-1-2007
SUMBER HARGA :	Hd
KOLEKSI :	K1
NO. INVENTARIS :	25/hd/2007 - t. 1 (1)
KLASIFIKASI :	634.772 Adh4.1

Oleh:
Dra. Linda Advinda, M.Kes
Dra. Moralita Chatri, M.P

DIBIYAI OLEH DP2M
SURAT PERJANJIAN NO: 006/SP3/PP/DP2M/II/2006
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL

FAKULTAS MIPA/JURUSAN BIOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
SEPTEMBER, 2006

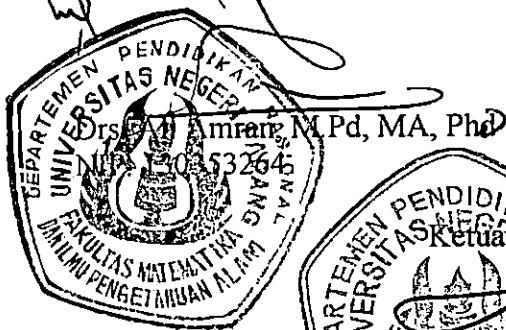
MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

**HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN HASIL
PENELITIAN DOSEN MUDA**

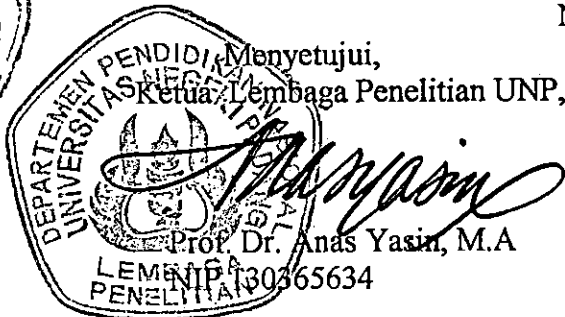
1. Judul Penelitian : Tanggap Fisiologis Tanaman Pisang Yang Diimunisasi Dengan Pseudomonas Berfluoesensi Terhadap Bakteri *Ralstonia solanacearum*
2. Bidang Ilmu Penelitian : MIPA
3. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Dra. Linda Advinda, M.Kes
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. NIP : 131851522
 - d. Pangkat/Golongan : Penata/III d
 - e. Jabatan : Lektor
 - f. Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
4. Jumlah Tim Peneliti : 2 orang
5. Lokasi Penelitian : Lab. Mikrobiologi dan Kebun Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang
6. Bila penelitian ini merupakan kerjasama kelembagaan
- a. Nama Instansi : -
 - b. Alamat : -
7. Waktu Penelitian : 8 (delapan) bulan
8. Biaya : Rp. 9.000.000,-

Mengetahui
Dekan Fakultas MIPA
Universitas Negeri Padang

Padang, 24 September 2006
Ketua Peneliti,



Drs. Linda Advinda, M.Kes
NIP. 131851522



Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian UNP,
Prof. Dr. Anas Yasin, M.A
NIP. 130365634

TANGGAP FISILOGIS TANAMAN PISANG YANG DIIMUNISASI
DENGAN PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI TERHADAP
BAKTERI *Ralstonia solanacearum*

PHYSIOLOGIES RESPONS OF BANANAWHICH IS IMMUNIZATIONED
WITH FLUORESCENT PSEUDOMONADS AGAINST
Ralstonia solanacearum BACTERIA

Linda Advinda, Moralita Chatri

RINGKASAN

Pisang (*Musa sp*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Penurunan produksi pisang di Sumatera Barat disebabkan karena bakteri *Ralstonia solanacearum*. Pemanfaatan agens hayati Pseudomonas berfluoresensi adalah alternatif dalam pengendalian penyakit layu bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk menjajagi tanggap fisiologis tanaman pisang yang diimunisasi dengan Pseudomonas berfluoresensi terhadap bakteri *R. solanacearum*, menggunakan isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, dan Kontrol. Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil dari penelitian dilaporkan bahwa semua isolat Pseudomonas berfluoresensi mempunyai kemampuan yang sama dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang dan mengendalikan penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*. Isolat Pj₁ dan Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Fenilalanin Amonia Liase (FAL) tanaman pisang pada 48 jam dan 72 jam setelah aplikasi Pseudomonas berfluoresensi, sedangkan isolat Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Peroksidase (PO) tanaman pisang pada 48 jam setelah aplikasi Pseudomonas berfluoresensi. Semua isolat Pseudomonas berfluoresensi tidak mampu meningkatkan aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PFO) tanaman pisang.

SUMMARY

Banana (*Musa sp*), the plant that come from South-East Asia, have been distributed widely in the world, including Indonesia. Decreasing of banana production in West Sumatera because of *Ralstonia solanacearum* bacteria. The use of biological agent such as Fluorescent pseudomonads is an alternative in controlling this bacterial wilt disease.

The goal of this research to explore physiologis responses of banana which is immunized with Fluorescent pseudomonads against *R. solanacearum* bacteria, using Pj₁,

Pj₂, Pj₃, Pb₁ isolates and control. Completely randomized design, with 5 treatments and 3 replications was used. Data was analyzed by analysis of variance and DNMRT testing significant differences at 5% α level.

The result of research showed that all of Fluorescent pseudomonads isolates have the same capability in increasing the growth of banana and controlling bacterial wilt disease *R. solanacearum*. After application of Fluorescent pseudomonads Pj₁ and Pj₃ isolates could increase the activity of phenylalanine ammonia lyase enzyme in 48 and 72 hours, meanwhile Pj₃ isolate could increase the activity of peroxidase enzyme of banana plant in 48 hours after application. None of them could increase the activity of polyphenol oxidase enzyme of banana plant.

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 : 006/SP3/PP/DP2M/II/2006 Tanggal 1 Februari 2006, dengan judul *Tanggap Fisiologis Tanaman Pisang yang Diimunisasi dengan Pseudomonas Berfluorensensi terhadap Bakteri Ralstonia solanacearum*

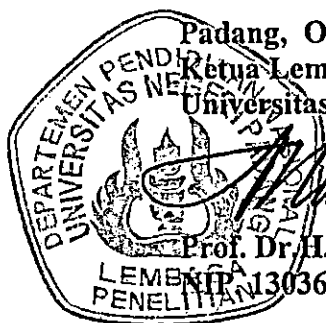
Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang telah dapat memberikan informasi yang dapat dipakai 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 2006
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang,

Prof. Dr. H. Anas Yasin, M.A.
LEMBAGA PENELITIAN
130365634



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN DAN SUMMERY	ii
PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.	11
BAB IV. METODE PENELITIAN	12
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Masa Inkubasi dan Intensitas Penyakit Layu Bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i> pada Tanaman Pisang yang telah Diimunisasi dengan <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	18
2. Tinggi, Diameter Batang, dan Jumlah Daun Tanaman Pisang yang telah Diimunisasi dengan <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi dan diinokulasi dengan <i>Ralstonia solanacearum</i>	19
3. Aktivitas FAL Tanaman Pisang	20
4. Aktivitas PO Tanaman Pisang	21
5. Aktivitas PFO Tanaman Pisang	22

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Aktivitas FAL Tanaman Pisang (12, 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi isolat <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	20
2. Aktivitas PO Tanaman Pisang (12, 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi isolat <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	22
3. Aktivitas PFO Tanaman Pisang (12, 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi isolat <i>Pseudomonas</i> berfluoresensi	23

BAB I. PENDAHULUAN

Pisang (*Musa sp*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Produksi pisang tahun 2000 adalah 3.584.694 ton yang merupakan urutan pertama diantara produksi buah-buahan di Indonesia (Daryanto, 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 Jakarta, 2002)

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 dan layu Fusarium yang 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 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.

Penyakit layu bakteri disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* ras 2, dan dikenal sebagai penyakit Moko. *R. solanacearum* adalah patogen yang sulit dikendalikan karena bersifat tular tanah, dan dapat disebarkan oleh serangga pengunjung bunga. Patogen ini dapat menyebabkan kerusakan yang fatal karena menyerang tanaman pada berbagai fase pertumbuhan (Stansbury *et al*, 2001). Bakteri ini menginfeksi perakaran dan rhizome (bonggol) melalui luka mekanis pada bibit/bonggol pisang (Habazar dan Rivai, 2000).

Sampai saat ini pengendalian penyakit layu bakteri pada tanaman pisang belum ditemukan metoda yang efektif. Beberapa peneliti sudah merintis pengendalian penyakit layu pada tanaman pisang dengan beberapa cara antara lain: 1) Program pengendalian terpadu berupa kultur teknis dan pengendalian kimiawi; (2) Pemindahan sifat ketahanan terhadap penyakit dari pisang liar kepada pisang budidaya melalui persilangan antar jenis (Ortiz dan Vuylsteke, 1995); 3) Pembentukan mutan yang tahan terhadap penyakit melalui

induksi mutasi dengan iradiasi (Subandiyah *et al*, TT); 4) Rekayasa genetik (Brimecombe *et al*, 2001; Migheli, 2001); dan 5) Penggunaan agens hayati (Rivai dan Habazar, 2002)

Sebagai salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri pada tanaman pisang yang ramah lingkungan adalah dengan mengoptimalkan fungsi agens hayati. Pengendalian penyakit dengan menggunakan agens hayati yang telah dikembangkan hingga saat ini umumnya masih bersifat langsung terhadap patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, dan parasitisme. Yusriadi *et al* (1997) melaporkan bahwa *P. fluorescens* BSK 8 dan CMK12 sangat potensial untuk menghambat perkembangan *R. solanacearum* secara *in vitro*, dengan mekanisme antagonisnya adalah antibiosis. Aplikasi *P. fluorescens* BSK 8 dan CMK12 pada kacang tanah di rumah kaca, memperlihatkan kemampuannya menghambat perkembangan dan mencegah masuknya *R. solanacearum* ke tanaman. Kloepper *et al* (1980, *cit* Sigeo, 1993) mengemukakan bahwa adanya *P. fluorescens* secara alamiah pada sistem perakaran tanaman kentang dan gula bit dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman dari serangan patogen dalam tanah. Sedangkan Sumardiyono *et al* (2000) melaporkan bahwa intensitas penyakit layu bakteri pada tanaman pisang di rumah kaca menurun setelah diberi perlakuan *P. fluorescens*.

Aspek lain dari pengendalian secara hayati yang masih belum banyak diteliti adalah pengendalian secara tidak langsung dengan mekanisme induksi ketahanan atau yang sering juga disebut dengan imunisasi. Tuzun dan Kuc (1990) mengemukakan bahwa ketahanan tanaman dapat terinduksi dengan inokulasi patogen, bukan patogen, dan metabolit mikroorganisme. Satu jenis agens penginduksi dapat mengimunisasi tanaman terhadap berbagai jenis patogen. Sumardiyono *et al* (2000) melaporkan bahwa *P. fluorescens* dari daerah perakaran *Mimosa invisa* secara *in planta* mampu menginduksi ketahanan tanaman pisang terhadap penyakit layu bakteri *R. solanacearum* dan layu Fusarium oleh *Fusarium oxysporum* f.sp *cubence*.

Kemampuan agens hayati dalam menginduksi ketahanan tanaman yang rentan menurut Habazar (2001) dapat disebabkan oleh 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).

Aplikasi *Pseudomonas* spp sebagai agens hayati dapat menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik, sebagai akibat perubahan biokimia dan perubahan ultrastruktur dari tanaman (Paulitz *et al*, TT). Perakaran tanaman yang diinokulasi dengan *P. aureofaciens* 63-28 dan *Pythium ultimum*, menunjukkan bahwa bakteri terdapat pada permukaan akar dan dalam ruang antar sel korteks. Sedangkan sel-sel *Pythium* menjadi rusak dan tidak teratur karena hilangnya sitoplasma, namun selulosa dinding sel tetap utuh dan tidak mengalami kehancuran (Gamard *et al*, 1997, Paulitz *et al*, 2000 *cit* Paulitz *et al*, TT). Hal ini terjadi karena induksi aktivitas enzim kitinase dari tanaman oleh bakteri (Paulitz *et al*, TT).

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. Hasil dari penelitian adalah telah diisolasi bakteri patogen *R. solanacearum* dari buah pisang Kepok yang terserang penyakit layu bakteri (Advinda *et al*, 2004). Patogen ini dapat dihambat pertumbuhannya oleh agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi (Advinda, 2004). Pada penelitian ini telah dikaji lebih lanjut peran aktivitas enzim ketahanan tanaman pisang yang telah diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap bakteri *R. solanacearum*.

Enzim adalah katalisator protein untuk reaksi kimia, yang berfungsi untuk mempercepat suatu reaksi kimia. Dalam proses reaksi kimia, katalisator ikut serta dalam reaksi, apabila reaksi telah selesai maka ia akan kembali ke keadaan semula. Pada tanaman, ketahanannya terhadap suatu patogen dikendalikan oleh satu atau beberapa enzim. Perubahan dalam aktivitas enzim dapat mempengaruhi tingkat ketahanan tanaman tersebut. *P. aureofaciens* 63-28 dan *P. corrugata* 13 menginduksi enzim fenilalanina amonia liase (FAL), peroksidase (PO), dan polifenoloksidase (PFO) pada perakaran tanaman ketimun, dan mencapai puncaknya 2-4 hari setelah perlakuan perakaran dengan *Pythium aphanidermatum* (Chen *et al* 2000, *cit* Paulitz *et al*, TT). Senyawa antimikroba dapat disintesis tanaman melalui jalur asam sikimat dengan bantuan enzim fenilalanina amonia liase (FAL) sebagai enzim kunci. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL) akan menghasilkan asam sinamat sebagai bahan dasar biosintesis rangkaian senyawa antimikroba (Mishagi, 1982). Menurut Ward (1986) enzim peroksidase berperan penting dalam pembentukan lignin, dan aktifitasnya mempengaruhi ketahanan tanaman terhadap penyakit. Butt (1980) mengemukakan bahwa kerusakan sel-sel oleh serangan patogen dapat mengaktifkan enzim polifenoloksidase. Polifenoloksidase merupakan enzim utama yang mengkatalisis senyawa fenol menjadi quinon. Agrios (1997) menambahkan enzim ini

sangat tinggi pada saat jaringan tanaman yang tahan terinfeksi patogen daripada tanaman yang rentan. Hingga saat ini belum ada informasi tentang tanggap fisiologis (baik aktivitas enzim pertahanan ataupun pertumbuhan) tanaman pisang yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap bakteri *R. solanacearum*.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

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 μm , 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- β -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).

Penyakit layu bakteri pertama kali dilaporkan pada tahun 1910 di Trinidad, dan memusnahkan tanaman pisang yang ada di daerah tersebut. Penyakit ini telah menyebar

sampai ke Amazon Brazil, Peru bagian Timur ke Utara sampai Guatemala dan Mexico bagian Selatan (Stansbury *et al*, 2001). Penyakit inipun dilaporkan telah menyebar di Indonesia, seperti wilayah Banjarbaru, pulau Selayar, Minahasa, Maluku Tengah dan Jayapura (Sunarjono *et al*, 1989), Sulawesi Selatan (Roesmiyanto dan Hutagalung, 1989), Jawa (Subianto, 1989, Eden-Green, 1992), Sumatera Barat (Hermanto *et al*, 1998) dan Bali (Sudana *et al*, 2000). Penyakit ini dijumpai pada tanaman pisang varietas Batu (Kepok), Jimbluk, Kapas, Nangka, Kepok Besar, dan Muli di Sumatera Barat, Jawa Barat, dan Lampung (Sahlan dan Nurhadi, 1994).

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).

Bakteri ini merupakan patogen tular tanah yang menginfeksi perakaran dan bonggol tanaman pisang. Bakteri masuk ke dalam jaringan pembuluh melalui luka mekanis pada bibit/bonggol pisang. Setelah bakteri masuk ke dalam jaringan dan berkembang serta menyebar secara sistemis pada seluruh bagian tanaman mengakibatkan tanaman menjadi layu. Disamping itu penyakit ini juga dapat menyebar melalui serangga pengujung bunga jantan dan menunjukkan perkembangan gejala yang berbeda dengan yang ditularkan melalui tanah. Bakteri yang dipindahkan melalui serangga, sering tidak menampilkan 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, Stansbury *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).

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, akan menyerap nutrisi dari perakaran tersebut. 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 (challenger) 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). 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). Strain *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* Sige, 1993). Campbell (1989) dan Sige (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 7NSK2 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* 7NSK2 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 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.

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menjajagi tanggap fisiologis tanaman pisang yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap bakteri *R. solanacearum*.

B. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam rangka pemanfaatan salah satu agens hayati yaitu *Pseudomonas* berfluoresensi sebagai penginduksi enzim ketahanan tanaman pisang. Hasil penelitian ini dapat menjadi data awal untuk merencanakan suatu paket teknologi pengendalian penyakit layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman pisang dengan menggunakan *Pseudomonas* berfluoresensi.

BAB IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan kebun percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *R. solanacearum*, isolat A, B, C, dan D dari *Pseudomonas* berfluoresensi, bibit pisang Barangan hasil kultur jaringan, medium King's B, medium Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC), mercaptoetanol, PVP, fenilalanin, HCl, pirogalol, katekol, akuades steril, alkohol, kapas, kain kasa, aluminium foil, HCl, dan alkohol 70%.

Alat yang digunakan adalah: autoclave, laminar air flow, rotary evaporator, refrigerator, gelas piala, gelas ukur, jarum ose, tabung reaksi, shaker, cawan petri, jarum ose, lup, pinset, pipet ukur, batang pengaduk, erlenmeyer, gelas ukur, sentrifuga, Spectronic 20 Bausch & Lomb, Spectrofotometer UV, lampu spiritus, pisau, timbangan analitik, corong pisah, dan vortex.

C. Rancangan Penelitian

Terdapat dua seri dalam penelitian ini, yaitu: seri I ditujukan untuk menguji ketahanan tanaman pisang yang telah diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap *R. solanacearum*, sedangkan seri II bertujuan mengamati aktivitas enzim pertahanan pada bibit pisang yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi. Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan adalah hasil penapisan Advinda (2004) yaitu isolat A, B, C, D, dan Kontrol. Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah:

- A = isolat Pj₁ asal perakaran pisang jantan sehat Lubuk Alung
- B = isolat Pj₂ asal perakaran pisang jantan sehat Kayu Tanam
- C = isolat Pj₃ asal perakaran pisang jantan sehat Pakandangan
- D = isolat Pb₁ asal perakaran pisang batu sehat Pasar Usang
- Kontrol = tanpa isolat *Pseudomonas* berfluoresensi

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

D. Persiapan Penelitian

1. Peremajaan dan Perbanyakkan Inokulum *Pseudomonas* berfluoresensi

Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan adalah hasil penapisan Advinda (2004) yaitu isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁. Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B dengan metode gores. Perbanyakkan 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 49 ml medium King's B cair dan diinkubasi selama 3 x 24 jam (main culture) di atas shaker.

2. Isolasi *R. solanacearum*

Buah pisang yang terserang penyakit layu bakteri diambil dari daerah endemik penyakit layu bakteri di Kabupaten Solok Propinsi Sumatera Barat. Bakteri diisolasi di laboratorium dengan memotong buah pisang berukuran 1 cm³ (terbawa jaringan sakit dan sehat). Potongan tersebut direndam dalam alkohol 70% selama 10 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril. Selanjutnya jaringan tersebut dimaserasi, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml akuades steril (pengenceran 10⁻¹).

3. Persiapan tanah untuk penanaman

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daerah endemik penyakit layu bakteri (Desa Tabek Panjang Baso Sumatera Barat). Tanah dikering anginkan, diayak dan ditambahkan pupuk kandang (3 : 1), kemudian disterilisasi dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya tanah dimasukkan ke dalam gelas akua plastik sebanyak 200 g dan polybag (diameter 30 cm) sebanyak 6 kg.

4. Aklimatisasi planlet

Bibit pisang Barangan berupa planlet hasil kultur jaringan diperoleh dari Balai Benih Indonesia (BBI) Jakarta. Planlet diaklimatisasi dengan cara mengeluarkan dari botol dan perakarannya dicuci dengan air mengalir. Kemudian planlet ditanam dalam gelas akua plastik yang telah dipersiapkan, dan diletakkan di ruang setengah bayang. Setelah 3 minggu dalam ruang setengah bayang, bibit pisang diletakkan di rumah kawat (modifikasi Sunarjono, 2002).

5. Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi pemberian air, pemupukan, dan penyiangan gulma. Sekurang-kurangnya tanaman diberi air dua hari sekali. Dosis pupuk NPK (15-15-15) yang diberikan ke tanaman adalah 650 kg/ha/tahun (Sunarjono, 2002).

E. Pelaksanaan Penelitian

1. Aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi

Satu bulan setelah planlet diaklimatisasi, dilakukan aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi. Perakaran dari bibit pisang dikeluarkan dari gelas akua plastik dan dibersihkan dari sisa tanah. Perakaran tersebut dicelupkan ke dalam 20 ml suspensi *Pseudomonas* berfluoresensi (skala 1 McFarland's) selama 10 menit untuk masing-masing isolat. Kemudian bibit pisang ditanam dalam polibag yang telah dipersiapkan dan diletakkan di rumah kawat.

2. Uji Ketahanan Tanaman Pisang Terhadap *R. solanacearum* (Seri I)

Suspensi bakteri *R. solanacearum* (pengenceran 10^{-1}) berasal dari sumber inokulum yang telah dipersiapkan. Setelah 1 bulan aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi, dilakukan inokulasi *R. solanacearum* melalui pelukaan akar bibit pisang. Tanah di sekitar batang bibit pisang yang telah di aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi ditusuk dengan jarak 5 cm dari batang dan kedalaman 10 cm, kemudian disiram dengan suspensi *R. solanacearum* sebanyak 20 ml. Masa inkubasi dari bakteri diamati setiap hari selama 2 bulan, ditandai dengan gejala awal yaitu penguningan daun.

3. Kajian enzim pertahanan (Seri II)

Aktivitas enzim pertahanan (FAL, PFO, dan PO) pada bibit pisang diamati 1 – 4 hari setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi.

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. Supernatan didiamkan selama 1 malam pada suhu 4°C untuk selanjutnya digunakan mengukur aktivitas enzimnya.

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 diisikan 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 H₂O₂ 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 spektroskop. Perubahan absorban diamati setiap 5 detik sampai tidak terjadi perubahan lagi.

F. Pengamatan

1. 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).

2. Intensitas Serangan

Pengamatan intensitas serangan penyakit dilakukan setiap minggu dengan cara skoring sebagai berikut (Sumardiyono *et al*, 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)

3. Pertumbuhan tanaman

Pengamatan pertumbuhan tanaman pisang dilakukan satu kali dalam 2 minggu hingga bibit berumur 3 bulan setelah aklimatisasi, meliputi tinggi tanaman, diameter batang, dan jumlah daun.

4. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL)

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) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi bahan}}{\text{Absorbansi baku}} \times \frac{1000}{\text{berat bahan (g)}} \times \frac{1000}{2.5} \times \frac{0.5}{1000}$$

Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL) dinyatakan dengan $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{g}$ jaringan.

5. Aktivitas enzim peroksidase (PO) dan polifenol oksidase (PFO)

Aktivitas PO maupun PFO diukur dengan rumus:

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

APO = aktivitas peroksidase

ΔA = selisih absorban .

Δt = selisih waktu

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

G. Teknik Analisis Data

Data yang terkumpul dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA), dan uji lanjut DNMRT pada taraf signifikansi 5%.

25/nd/007-1111
634, 7/2
Adw
tel

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan adalah isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁. *Pseudomonas* berfluoresensi ini digunakan untuk melihat kemampuannya sebagai pengendali penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman pisang. Hasil dari penelitian memperlihatkan bahwa keempat isolat *Pseudomonas* berfluoresensi ini mampu sebagai pengendali penyakit layu bakteri *R. solanacearum* (Tabel 1).

Tabel 1. Masa Inkubasi dan Intensitas Penyakit Layu Bakteri *R. solanacearum* pada Tanaman Pisang yang telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi.

Isolat	Masa Inkubasi (hari)	Intensitas Penyakit (%)
Pj ₁	*	*
Pj ₂	*	*
Pj ₃	*	*
Pb ₁	*	*
Kontrol	10,33	27,78

Keterangan:

* = tidak memperlihatkan gejala layu

Masa inkubasi dari bakteri diamati setiap hari setelah tanaman yang telah diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi diinokulasi dengan *R. solanacearum*. Hal ini ditandai dengan munculnya gejala awal yaitu terjadi penguningan daun. Pada Tabel 1 terlihat bahwa semua isolat *Pseudomonas* berfluoresensi mampu meningkatkan ketahanan tanaman pisang, sehingga tidak cocok (inkompatibel) bagi bakteri *R. solanacearum*. Sedangkan perlakuan kontrol (tanpa isolat *Pseudomonas* berfluoresensi) mempunyai masa inkubasi 10,33 hari. Tanaman pisang pada perlakuan kontrol tidak mampu menahan serangan bakteri patogen yang diinokulasikan. Mekanisme penekanan penyakit oleh *Pseudomonas* berfluoresensi tidak akan nyata terlihat, kecuali bila bakteri ini sukses menempati lingkungan perakaran (Sullivan dan Gara, 1992 cit Saravanan *et al*, 2004). Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang berbeda mempunyai kemampuan spesifik dalam menempati relung tertentu (Kloepper *et al*, 1980 cit Saravanan *et al*, 2004).

Semua isolat *Pseudomonas* berfluoresensi (Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁) yang diaplikasikan ke perakaran tanaman pisang juga mampu mencegah terjadinya penyakit layu bakteri *R. solanacearum*. Tanaman yang tidak diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi mempunyai intensitas penyakit 27,78% (Tabel 1). Gejala awal dari penyakit terlihat pada daun muda pertama 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. Hasil penelitian Saravanan *et al* (2004) dilaporkan bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi Pfm yang diaplikasikan pada perakaran tanaman

pisang sangat potensial menghambat patogen *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. Sedangkan Vidhyasekaran *et al* (2001) menyatakan bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi Pfi mampu menginduksi ketahanan tanaman padi dari patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

Tanaman pisang yang telah diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi dan diinokulasi *R. solanacearum* memperlihatkan pertumbuhan yang lebih baik bila dibandingkan dengan kontrol (tanpa *Pseudomonas* berfluoresensi). Tanaman pisang yang menampakkan pertumbuhan yang terbaik adalah setelah diimunisasi dengan isolat Pj₂. Sedangkan pertumbuhan tanaman pisang yang tidak diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi memperlihatkan pertumbuhan yang terendah (Tabel 2). Dari hal di atas terlihat bahwa tanaman yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi tidak hanya dapat meningkatkan ketahanannya terhadap patogen, tetapi juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian Zhou dan Paulitz (1994 *cit* Paulitz *et al*, TT) memperlihatkan bahwa aplikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dapat mengurangi insiden penyakit dan menambah biomasa pada bagian atas dan bawah tanaman, termasuk meningkatkan jumlah buah.

Tabel 2. Tinggi, Diameter Batang, dan Jumlah Daun Tanaman Pisang yang telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi dan Diinokulasi dengan *R. solanacearum*.

Isolat	Pertumbuhan Tanaman Pisang		
	Tinggi bibit (cm)	Diameter batang (mm)	Jumlah daun (helai)
Pj ₂	101,67 a	44,60 a	11,00
Pj ₃	101,33 a	41,93 ab	10,33
Pb ₁	95,33 ab	43,00 ab	9,67
Pj ₁	93,33 ab	42,87 ab	10,00
Kontrol	81,67 b	39,27 b	9,67

Keterangan: angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%

Pemanfaatan *Pseudomonas* berfluoresensi efektif dalam mengendalikan penyakit tular tanah, dan dilaporkan menginduksi ketahanan sistemik (ISR). Induksi ketahanan sistemik ini dapat mengurangi penyakit dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Liu *et al*, 1995, Yan *et al*, 2002). Disamping itu dilaporkan juga bahwa *Pseudomonas* berfluoresensi adalah golongan PGPR yang menghasilkan hormon tumbuh seperti gibberelin, sitokinin, dan asam indol asetat (Dubeikovsky *et al*, 1993, *cit* Vidhyasekaran *et al*, 1997).

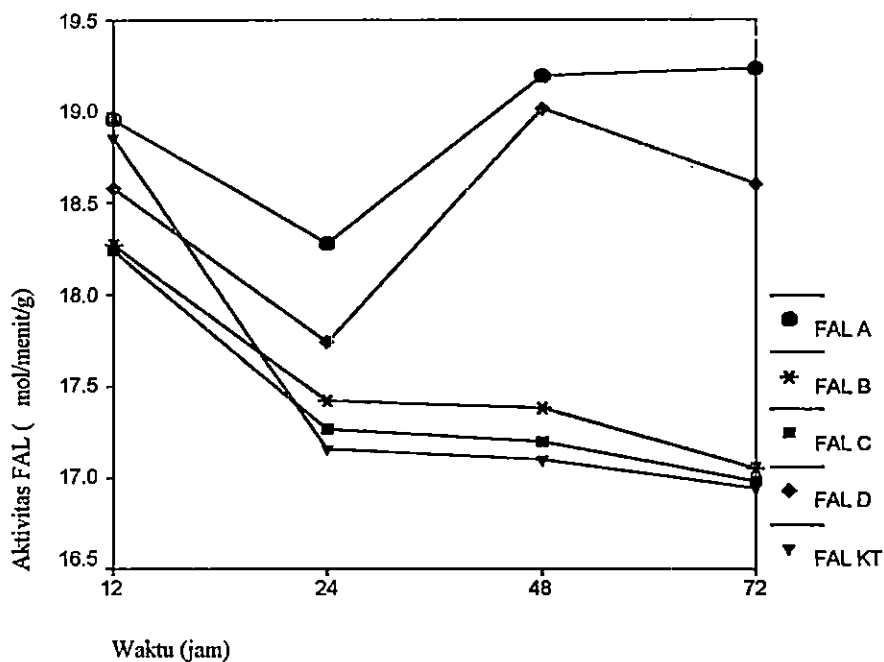
Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi juga digunakan untuk mempelajari kemampuannya dalam menginduksi enzim ketahanan tanaman pisang. Setiap isolat

Pseudomonas berfluoresensi memperlihatkan kemampuan yang berbeda dalam menginduksi enzim Fenilalanin Amonia Liase (FAL). Isolat Pj₁ memperlihatkan kemampuan yang terus meningkat dalam menginduksi enzim FAL sejak 12 jam setelah diaplikasikan ke perakaran tanaman pisang hingga 72 jam berikutnya. Isolat Pj₃ juga mampu menginduksi enzim FAL, namun hanya pada 48 jam setelah aplikasi. Pada 72 jam setelah aplikasi ke tanaman pisang, terjadi penurunan aktivitas enzim FAL (Tabel 3).

Tabel 3. Aktivitas FAL tanaman pisang (μ mol/menit/g)

No	Isolat	Aktivitas FAL			
		12 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1.	Pj ₁	18.96	18.29	19,19 a	19.23 a
2.	Kontrol	18.85	17.16	17,09 b	16.94 b
3.	Pj ₃	18.58	17.74	19,01 a	18.60 a
4.	Pb ₁	18.28	17.42	17,38 b	17.05 b
5.	Pj ₂	18.24	17.26	17,19 b	16.98 b

Keterangan: angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%



Gambar 1. Aktivitas FAL tanaman pisang (12, 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi isolat *Pseudomonas* berfluoresensi)

Aktivitas enzim FAL pada tanaman pisang yang diimunisasi dengan isolat Pj₁ dan Pj₃ meningkat cukup tinggi pada 48 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi, bila dibandingkan dengan dua isolat lainnya dan kontrol. Namun pada pengamatan 72 jam, isolat Pj₁ tetap memperlihatkan peningkatan aktivitas FAL, sedangkan isolat Pj₃ menurun aktivitasnya (Gambar 1).

Pada penelitian ini, isolat Pj₁ berpengaruh nyata dalam menginduksi enzim FAL tanaman pisang, bila dibandingkan dengan kontrol (tanpa *Pseudomonas* berfluoresensi). Enzim ini tetap terinduksi bila perakaran pisang diaplikasi dengan isolat Pj₁. Hasil penelitian Saravanan *et al* (2004) melaporkan bahwa isolat Pf_m yang diaplikasikan ke perakaran tanaman pisang, mampu menginduksi meningkatnya enzim FAL meskipun tanpa inokulasi patogen. Namun akan lebih meningkat lagi bila terjadi penetrasi patogen pada sistem perakaran pisang.

FAL adalah enzim kunci dalam jalur phenil propanoid dan berperan penting dalam biosintesis senyawa-senyawa fenol seperti: asam ferulat, kafeat, kumarat, sinapat, flavonoid, tanin, dan struktur polimer lignin. Senyawa-senyawa tersebut selalu diinduksi dan berperan spesifik untuk melindungi tanaman terhadap tekanan biotik maupun abiotik (Hahlbrock dan Cheel, 1989, Jones, 1984). Perakaran tanaman ketimun yang diaplikasi dengan *Pseudomonas corrugata* dapat meningkatkan aktivitas FAL, namun aktivitasnya menurun setelah perakaran tersebut diinokulasi dengan *Pythium aphanidermatum* (Chen *et al*, 2000).

Isolat-isolat yang berbeda dari *Pseudomonas* berfluoresensi mempunyai kemampuan yang berbeda juga dalam menginduksi enzim Peroksidase (PO). Isolat Pj₃ memperlihatkan kemampuan penginduksian enzim Peroksidase (PO) yang tinggi setelah 48 jam aplikasi, dan yang paling rendah adalah aplikasi dengan isolat Pb₁ (Tabel 4).

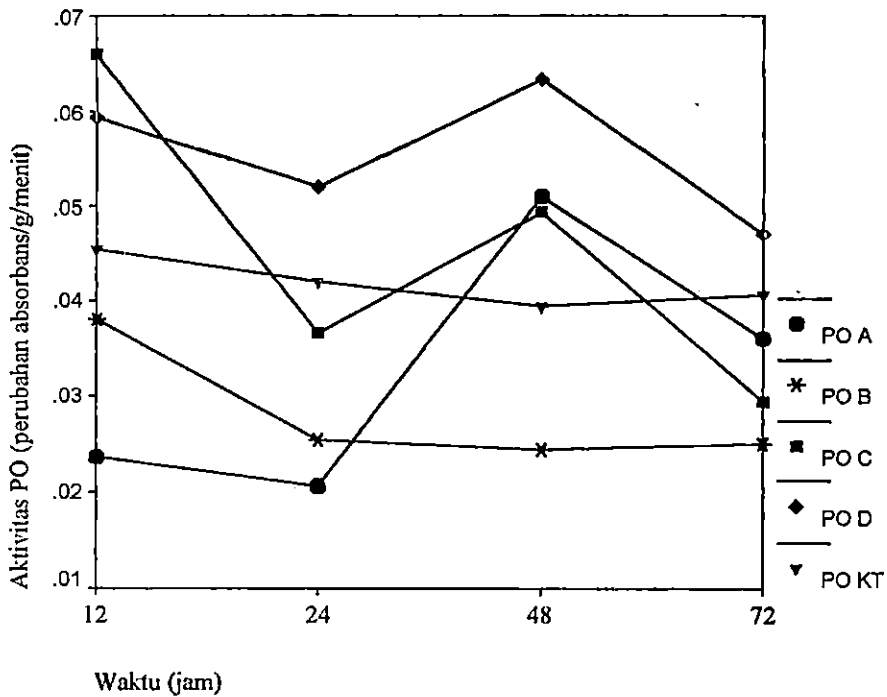
Tabel 4. Aktivitas PO tanaman pisang (perubahan absorbans/g/menit)

No	Isolat	Aktivitas PO			
		12 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1.	Pj ₂	0.066	0.037	0.049 b	0.029 ab
2.	Pj ₃	0.059	0.052	0.063 a	0.047 c
3.	Kontrol	0.045	0.042	0.039 c	0.041 bc
4.	Pb ₁	0.038	0.025	0.024 d	0.025 a
5.	Pj ₁	0.024	0.021	0.051 b	0.036 abc

Keterangan: angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%

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). 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* (Saravanan *et al*, 2004).



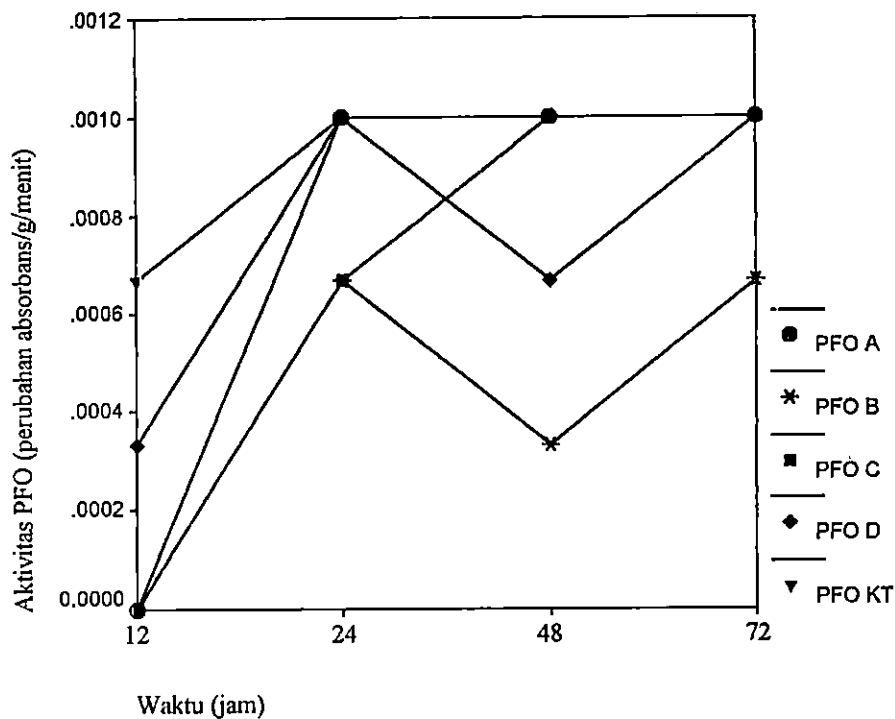
Gambar 2. Aktivitas PO tanaman pisang (12, 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi isolat *Pseudomonas* berfluoresensi)

Aktivitas enzim PO pada tanaman pisang yang diimunisasi dengan isolat Pj₁, Pj₂, dan Pj₃ pada 48 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi meningkat, bila dibandingkan dengan isolat Pb₁ dan kontrol. Namun pada pengamatan 72 jam, aktivitasnya menurun (Gambar 2).

Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi digunakan untuk mempelajari kemampuannya dalam menginduksi enzim Polifenol Oksidase (PFO) pada tanaman pisang. Setelah analisis statistik, ternyata setiap isolat *Pseudomonas* berfluoresensi tidak memperlihatkan kemampuan yang berbeda dalam aktivitas enzim PFO tanaman pisang (Tabel 5).

Tabel 5. Aktivitas PFO tanaman pisang (perubahan absorbans/g/menit)

No	Isolat	Aktivitas PFO			
		12 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1.	Kontrol	0,0007	0,0010	0,0010	0,0010
2.	Pj ₃	0,0003	0,0010	0,0007	0,0010
3.	Pj ₂	0,0000	0,0007	0,0010	0,0010
4.	Pj ₁	0,0000	0,0010	0,0010	0,0010
5.	Pb ₁	0,0000	0,0007	0,0003	0,0007



Gambar 3. Aktivitas PFO tanaman pisang (12, 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi isolat *Pseudomonas* berfluoresensi)

Setelah 24 jam aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi terlihat peningkatan aktivitas PFO tanaman pisang. Setelah 48 jam aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi, masing-masing isolat memberikan respon yang berbeda dalam aktivitas PFO. Isolat Pj₂ mampu meningkatkan aktivitas PFO hingga 48 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi, namun hingga pengamatan 72 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi tidak terjadi peningkatannya.

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 (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

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁ mempunyai kemampuan yang sama dalam mengendalikan penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman pisang.
2. Isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁ mempunyai kemampuan yang sama dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang.
3. Isolat Pj₁ dan Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Fenilalanin Amonia Liase (FAL) tanaman pisang pada 48 jam dan 72 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi.
4. Isolat Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Peroksidase (PO) tanaman pisang pada 48 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi.
5. Isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁ tidak mampu meningkatkan aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PFO) tanaman pisang.

B. Saran

Penelitian lebih lanjut tentang penerapan *Pseudomonas* berfluoresensi di lapangan perlu dilakukan sebagai agens hayati yang ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Advinda, L., Alberida, H., Anhar, A. 2004. **Kajian Histopatologis Akar Tanaman Pisang yang Diinokulasi dengan Bakteri *Ralstonia solanacearum* E.F Smith.** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri 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.
- Agrios, G.N. 1997. **Plant Pathology.** Fourth Edition. Academic Press. Sydney. Tokyo. Toronto.
- Badan Pusat Statistik Jakarta. 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
- Brimecombe, M.J., De Leij. F.A.A.M., Lynch, J.M. 2001. **Nematode Community Structure as a Sensitive Indicator of Microbial Perturbation Induced by a Genetically Modified *Pseudomonas fluorescens* Strain.** School of Biomedical and Life Sciences. University of Surrey. Guildford. Surrey.
- Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** Eighth Edition. The Williams & Wilkins Company. Baltimore.
- Butt, V.S. 1980. **Direct Oxidases and Related Enzymes.** In The Biochemistry of Plants, Vol 2. Academic Press, Inc.
- Campbell, R. 1989. **Biological Control of Microbial Plant Pathogens.** Cambridge University Press. Cambridge.
- Chen, C., Belanger, R.R., Benhamou, N., Paulitz, T.C. 2000. Defence Enzymes Involved in Cucumber Roots by Treatment with Plant Growth Promoting Rhizobacteria and *Pythium aphanidermatum*. **Physiol. Mol. Plant Pathol**, 56:13-23
- Cook, R.J., Baker, K.F. 1983. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens.** APS PRESS. St. Paul. Minnesota.
- Daryanto. 2002. **Langkah Penanggulangan Penyakit Layu Pisang di Indonesia.** Disampaikan pada Seminar Nasional Penyakit Layu Pisang di Padang tanggal 22-23 Oktober 2002. Padang.
- 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
- Hahlbrock, K., Scheel, D. 1989. Physiology and Molecular Biology of Phenylpropanoid Metabolism. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol** 40:347-369
- Hermanto, C., Setyawati, T., Santoso, P.J. 1998. **Konfirmasi: Daerah Endemik Baru Penyakit Layu Bakteri Pisang di Sumatera Barat**. Disampaikan pada Seminar Sehari PFI Komca Sumbar, Riau, dan Jambi. Padang. 4 November 1998.
- 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
- Jones, D.H. 1984. Phenylalanine Ammonia-Lyase: Regulation of Its Induction and Its Role in Plant Development. **Phytochem** 23:1349-1359
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C. 1990. **Methods in Phytobacteriology**. Akademiai Kiado. Budapest.
- Liu, L., Kloepper, J.W., Tuzun S. 1995. Induction of Systemic Resistance in Cucumber by Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Duration of Protection and Effect of Protection and Effect of Host Resistance on Protection and Root Colonization. **Phytopathology**, 85:1064-1068
- Migheli, Q. 2001. Genetically Modified Biocontrol Agents: Environmental Impact and Risk Analysis. Special Issue 47-56. **Jurnal of Plant Pathology (2001)**,83(2).
- Misaghi, I.J., 1982. **Physiology and Biochemistry of Plant Pathogen Interaction**. Plenum Press. New York.
- 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.
- Ortiz., Vulysteke, D.R. 1995. Expression on the Dihydroflannol Reductase Gen in an Athocianin Free Barley Mutant. **Hereditas** 199:67-75
- 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
- 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
- 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 Agensi Hayati (PUSPAHATI) dengan Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang.
- Sahlan., Nurhadi., Hermanto, C. 1996. **Penyakit-penyakit Utama Tanaman Pisang di Indonesia**. Dalam: Balai Penelitian Tanaman Buah. 1996. Pisang. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Hal: 85-110.
- Samiyappan, R. 2003. Molecular Mechanisms Involved in the PGPR Mediated Suppression of Insect Pests and Plant Pathogens Attacking Major Agricultural and Horticultural Crops in India. **6th International PGPR Workshop, 5-10 October 2003. Calicut, India.**
- 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 off *Pinus pinaster* hypocotyl. **Plant Physiol** 111:941-946
- Sigeo, D.C. 1993. **Bacterial Plant Pathology**. Cambridge University Press. Cambridge.
- Stunsbury, C., McKirdy, S., Power, G. 2001. Moko Disease *Ralstonia solanacearum* (race 2). **Factsheet No 21/2001.**
- Subandiyah, S., Indarti, S., Harjoko, T., Pratiwi, N.I., Sumardiyono, C., Mulyadi. TT. **Bacterial Wilt Disease Complex of Banana in Indonesia**. Dept. of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture. Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Sumardiyono, C., Hadisutrisno, B., Subandiyah, S., Widyastuti, S.M. 2000. **Mekanisme Pengendalian Penyakit Layu Bakteri *Pseudomonas solanacearum* dan Layu Fusarium *Fusarium oxysporum* F.SP. *cubense* Pada Pisang dengan Rhizobakteria**. Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada.
- 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
- 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.

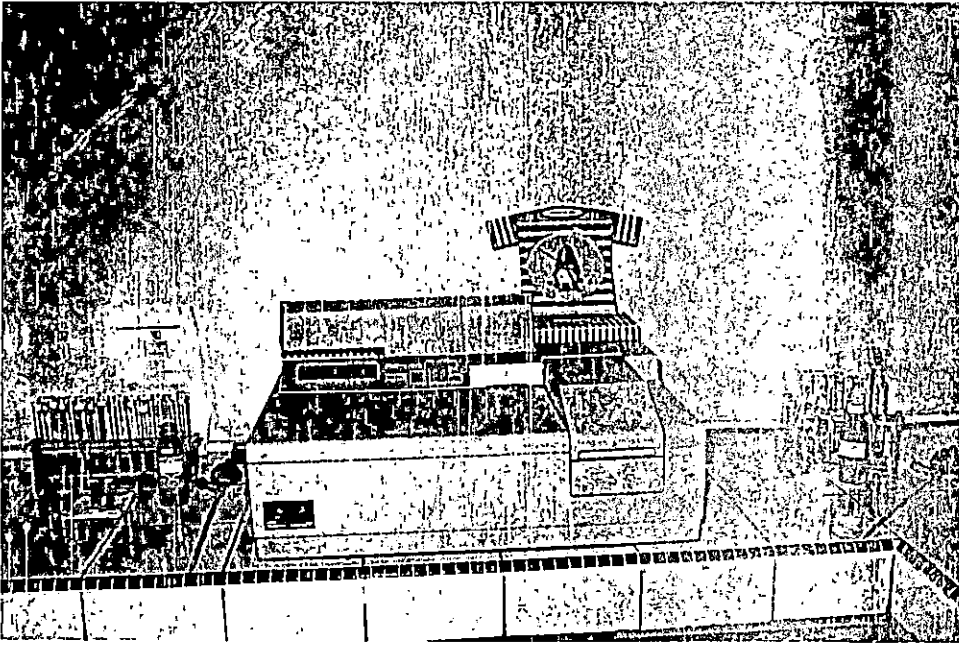
- Yan, Z., Reddy, M.S., Ryu, C., McInroy, J.A., Wilson, M., Kloepper, J.W. 2002. Induced Systemic Protection Against Tomato Late Blight Elicited by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. **Phytopathology**, 92:1329-1333
- Yusriadi., Tjahjono, B., Sinaga, M.S., Machmud, M. 1997. Dampak Introduksi Mikroorganisme Antagonis Terhadap Perkembangan Penyakit Layu Bakteri (*Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith) Pada Kacang Tanah. **Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan** 9(2): 32-37.

Gambar 2. Buah Pisang yang Terserang Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum*



Gambar 1. Main Culture dari Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi





Gambar 3. Spectrofotometer UV dan bahan penelitian



Gambar 4. Tanaman Pisang Barangan

PERSONALIA TENAGA PENELITI

1. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : Dra. Linda Advinda, M.Kes
- b. Golongan, Pangkat, NIP : IIIId, Penata, 131851522
- c. Jabatan Fungsional : Lektor
- d. Jabatan Struktural : -
- e. Fakultas/Program Studi : MIPA/Biologi
- f. Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang
- g. Bidang Keahlian : Mikrobiologi
- h. Waktu untuk penelitian ini : 18 jam/minggu

2. Anggota Peneliti

- a. Nama Lengkap : Dra. Moralita Chatri, M.P
- b. Golongan, Pangkat, NIP : IIIc, Penata, 131953634
- c. Jabatan Fungsional : Lektor
- d. Jabatan Struktural : -
- e. Fakultas/Program Studi : MIPA/Biologi
- f. Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang
- g. Bidang Keahlian : Fitopatologi
- h. Waktu untuk penelitian ini : 10 jam/minggu

DRAF ARTIKEL ILMIAH

TANGGAP FISIOLOGIS TANAMAN PISANG YANG DIIMUNISASI DENGAN PSEUDOMONAS BERFLUORESENSI TERHADAP BAKTERI *Ralstonia solanacearum*

Linda Advinda, Moralita Chatri*

ABSTRAK

Penelitian telah dilakukan dengan tujuan untuk menjajagi tanggap fisiologis tanaman pisang yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*. Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan adalah Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, dan Kontrol. Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anova dan uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil dari penelitian dilaporkan bahwa semua isolat *Pseudomonas* berfluoresensi mempunyai kemampuan yang sama dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang dan mengendalikan penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*. Isolat Pj₁ dan Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Fenilalanin Amonia Liase (FAL) tanaman pisang pada 48 jam dan 72 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi. Isolat Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Peroksidase (PO) tanaman pisang pada 48 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi. Namun semua isolat *Pseudomonas* berfluoresensi tidak mampu meningkatkan aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PFO) tanaman pisang.

Kata kunci: *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas* berfluoresensi

*Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang

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 dan layu *Fusarium* yang hampir memusnahkan pertanaman pisang di Sumatera Barat.

Penyakit layu bakteri disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* ras 2, dan dikenal sebagai penyakit Moko. *R. solanacearum* adalah patogen yang sulit dikendalikan karena bersifat tular tanah, dan dapat disebarkan oleh serangga pengunjung bunga. Patogen ini dapat menyebabkan kerusakan yang fatal karena menyerang tanaman pada berbagai fase pertumbuhan (Stansbury *et al*, 2001). Bakteri ini menginfeksi perakaran dan rhizome (bonggol) melalui luka mekanis pada bibit/bonggol pisang (Habazar dan Rivai, 2000).

Sebagai salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri pada tanaman pisang yang ramah lingkungan adalah dengan mengoptimalkan fungsi agens hayati. Pengendalian penyakit dengan menggunakan agens hayati yang telah dikembangkan hingga saat ini umumnya masih bersifat langsung terhadap patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, dan parasitisme. Yusriadi *et al* (1997) melaporkan bahwa *P. fluorescens* BSK 8 dan CMK12 sangat potensial untuk menghambat perkembangan *R. solanacearum* secara *in vitro*, dengan mekanisme antagonisnya adalah antibiosis. Aplikasi *P. fluorescens* BSK 8 dan CMK12 pada kacang tanah di rumah kaca, memperlihatkan kemampuannya menghambat perkembangan dan mencegah masuknya *R. solanacearum* ke tanaman. Kloepper *et al* (1980, *cit* Sigee, 1993) mengemukakan bahwa adanya *P. fluorescens* secara alamiah pada sistem perakaran tanaman kentang dan gula bit dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman dari serangan patogen dalam tanah. Aspek lain dari pengendalian secara hayati yang masih belum banyak diteliti adalah pengendalian secara tidak langsung dengan mekanisme induksi ketahanan atau yang sering juga disebut dengan imunisasi. Tuzun dan Kuc (1990) mengemukakan bahwa ketahanan tanaman dapat terinduksi dengan inokulasi patogen, bukan patogen, dan metabolit mikroorganisme. Satu jenis agens penginduksi dapat mengimunisasi tanaman terhadap berbagai jenis patogen. Sumardiyono *et al* (2000) melaporkan bahwa *P. fluorescens* dari daerah perakaran *Mimosa invisa* secara *in planta* mampu menginduksi ketahanan tanaman pisang terhadap penyakit layu bakteri *R. solanacearum* dan layu Fusarium oleh *Fusarium oxysporum* f.sp *cubence*.

Kemampuan agens hayati dalam menginduksi ketahanan tanaman yang rentan menurut Habazar (2001) dapat disebabkan oleh 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).

Kajian pendahuluan telah berhasil mengisolasi bakteri patogen *R. solanacearum* dari buah pisang Kepok yang terserang penyakit layu bakteri (Advinda *et al*, 2004). Patogen ini dapat dihambat pertumbuhannya oleh agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi (Advinda, 2004). Pada penelitian ini telah dikaji lebih lanjut peran aktivitas enzim ketahanan tanaman pisang yang telah diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap bakteri *R. solanacearum*.

Enzim adalah katalisator protein untuk reaksi kimia, yang berfungsi untuk mempercepat suatu reaksi kimia. Dalam proses reaksi kimia, katalisator ikut serta dalam reaksi, apabila reaksi telah selesai maka ia akan kembali ke keadaan semula. Pada tanaman, ketahanannya terhadap suatu patogen dikendalikan oleh satu atau beberapa enzim. Perubahan dalam aktivitas enzim dapat mempengaruhi tingkat ketahanan tanaman tersebut. Mishagi (1982) mengemukakan bahwa senyawa antimikroba dapat disintesis tanaman melalui jalur asam sikimat dengan bantuan enzim fenilalanina amonia liase (FAL) sebagai enzim kunci. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL) akan menghasilkan asam sinamat sebagai bahan dasar biosintesis rangkaian senyawa antimikroba. Menurut Ward (1986) enzim peroksidase berperan penting dalam pembentukan lignin, dan aktifitasnya mempengaruhi ketahanan tanaman terhadap penyakit. Butt (1980) melaporkan bahwa kerusakan sel-sel oleh serangan patogen dapat mengaktifkan enzim polifenoloksidase. Polifenoloksidase merupakan enzim utama yang mengkatalisis senyawa fenol menjadi quinon. Agrios (1997) menambahkan enzim ini sangat tinggi pada saat jaringan tanaman yang tahan terinfeksi patogen daripada tanaman yang rentan. Hingga saat ini belum ada informasi tentang tanggap fisiologis (baik aktivitas enzim pertahanan ataupun pertumbuhan) tanaman pisang yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap bakteri *R. solanacearum*.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *R. solanacearum*, isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁ dari *Pseudomonas* berfluoresensi, bibit pisang Barangan hasil kultur jaringan, medium King's B, medium Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC), mercaptoetanol, PVP, fenilalanin, HCl, pirogalol, katekol, akuades steril, dan alkohol 70%.

Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah:

- A = isolat Pj₁ asal perakaran pisang jantan sehat Lubuk Alung
- B = isolat Pj₂ asal perakaran pisang jantan sehat Kayu Tanam
- C = isolat Pj₃ asal perakaran pisang jantan sehat Pakandangan
- D = isolat Pb₁ asal perakaran pisang batu sehat Pasar Usang
- Kontrol = tanpa isolat *Pseudomonas* berfluoresensi

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

Terdapat dua seri dalam penelitian ini, yaitu: seri I ditujukan untuk menguji ketahanan tanaman pisang yang telah diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi terhadap *R. solanacearum*, sedangkan seri II bertujuan mengamati aktivitas enzim pertahanan pada bibit pisang yang diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi.

1. Persiapan Penelitian

a. Peremajaan dan Perbanyak Inokulum *Pseudomonas* berfluoresensi

Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan adalah hasil penapisan Advinda (2004) yaitu isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁. Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B dengan metode gores. Perbanyak 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 49 ml medium King's B cair dan diinkubasi selama 3 x 24 jam (main culture) di atas shaker.

b. Isolasi *R. solanacearum*

Buah pisang yang terserang penyakit layu bakteri diambil dari daerah endemik penyakit layu bakteri di Kabupaten Solok Propinsi Sumatera Barat. Bakteri diisolasi di laboratorium dengan memotong buah pisang berukuran 1 cm³ (terbawa jaringan sakit dan sehat). Potongan tersebut direndam dalam alkohol 70% selama 10 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril. Selanjutnya jaringan tersebut dimaserasi, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml akuades steril (pengenceran 10⁻¹).

c. Persiapan tanah untuk penanaman

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daerah endemik penyakit layu bakteri (Desa Tabek Panjang Baso Sumatera Barat). Tanah dikering anginkan, diayak dan ditambahkan pupuk kandang (3 : 1), kemudian disterilisasi dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya tanah dimasukkan ke dalam gelas akua plastik sebanyak 200 g dan polybag (diameter 30 cm) sebanyak 6 kg.

d. Aklimatisasi planlet

Bibit pisang Barangan berupa planlet hasil kultur jaringan diperoleh dari Balai Benih Indonesia (BBI) Jakarta. Planlet diaklimatisasi dengan cara mengeluarkan dari botol dan perakarannya dicuci dengan air mengalir. Kemudian planlet ditanam dalam gelas akua plastik yang telah dipersiapkan, dan diletakkan di ruang setengah bayang. Setelah 3 minggu dalam ruang setengah bayang, bibit pisang diletakkan di rumah kawat (modifikasi Sunarjono, 2002).

e. Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi pemberian air, pemupukan, dan penyiangan gulma. Sekurang-kurangnya tanaman diberi air dua hari sekali. Dosis pupuk NPK (15-15-15) yang diberikan ke tanaman adalah 650 kg/ha/tahun (Sunarjono, 2002).

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi

Satu bulan setelah planlet diaklimatisasi, dilakukan aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi. Perakaran dari bibit pisang dikeluarkan dari gelas akua plastik dan dibersihkan dari sisa tanah. Perakaran tersebut dicelupkan ke dalam 20 ml suspensi *Pseudomonas* berfluoresensi (skala 1 McFarland's) selama 10 menit untuk masing-masing isolat. Kemudian bibit pisang ditanam dalam polibag yang telah dipersiapkan dan diletakkan di rumah kawat.

b. Uji Ketahanan Tanaman Pisang Terhadap *R. solanacearum* (Seri I)

Suspensi bakteri *R. solanacearum* (pengenceran 10^{-1}) berasal dari sumber inokulum yang telah dipersiapkan. Setelah 1 bulan aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi, dilakukan inokulasi *R. solanacearum* melalui pelukaan akar bibit pisang. Tanah di sekitar batang bibit pisang yang telah di aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi ditusuk dengan jarak 5 cm dari batang dan kedalaman 10 cm, kemudian disiram dengan suspensi *R. solanacearum* sebanyak 20 ml. Masa inkubasi dari bakteri diamati setiap hari selama 2 bulan, ditandai dengan gejala awal yaitu penguningan daun.

c. Kajian enzim pertahanan (Seri II)

Aktivitas enzim pertahanan (FAL, PFO, dan PO) pada bibit pisang diamati 1 – 4 hari setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi.

1) 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. Supernatan didiamkan selama 1 malam pada suhu 4°C untuk selanjutnya digunakan mengukur aktivitas enzimnya.

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 diisikan 3 ml campuran tersebut.

2) 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 H₂O₂ 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. 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 *et al*, 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. Pertumbuhan tanaman

Pengamatan pertumbuhan tanaman pisang dilakukan satu kali dalam 2 minggu hingga bibit berumur 3 bulan setelah aklimatisasi, meliputi tinggi tanaman, diameter batang, dan jumlah daun.

d. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL)

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) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi bahan}}{\text{Absorbansi baku}} \times \frac{1000}{\text{berat bahan (g)}} \times \frac{1000}{2.5} \times \frac{0.5}{1000}$$

Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL) dinyatakan dengan $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{g}$ jaringan.

e. Aktivitas enzim peroksidase (PO) dan polifenol oksidase (PFO)

Aktivitas PO maupun PFO diukur dengan rumus:

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

APO = aktivitas peroksidase

ΔA = selisih absorban

Δt = selisih waktu

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian memperlihatkan bahwa semua isolat *Pseudomonas* berfluoresensi mampu sebagai pengendali penyakit layu bakteri *R. solanacearum* (Tabel 1).

Tabel 1. Masa Inkubasi dan Intensitas Penyakit Layu Bakteri *R. solanacearum* pada Tanaman Pisang yang telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi.

Isolat	Masa Inkubasi (hari)	Intensitas Penyakit (%)
Pj ₁	*	*
Pj ₂	*	*
Pj ₃	*	*
Pb ₁	*	*
Kontrol	10,33	27,78

Keterangan:

* = tidak memperlihatkan gejala layu

Pada Tabel 1 terlihat bahwa semua isolat *Pseudomonas* berfluoresensi mampu meningkatkan ketahanan tanaman pisang, sehingga tidak cocok (inkompatibel) bagi bakteri *R. solanacearum*. Sedangkan perlakuan kontrol (tanpa isolat *Pseudomonas* berfluoresensi) mempunyai masa inkubasi 10,33 hari. Tanaman pisang pada perlakuan kontrol tidak mampu menahan serangan bakteri patogen yang diinokulasikan. Mekanisme penekanan penyakit oleh *Pseudomonas* berfluoresensi tidak akan nyata terlihat, kecuali bila bakteri ini sukses menempati lingkungan perakaran (Sullivan dan Gara, 1992 *cit* Saravanan *et al*, 2004). Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang berbeda mempunyai kemampuan spesifik dalam menempati relung tertentu (Kloepper *et al*, 1980 *cit* Saravanan *et al*, 2004).

Tabel 2. Tinggi, Diameter Batang, dan Jumlah Daun Tanaman Pisang yang telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi dan Diinokulasi dengan *R. solanacearum*.

Isolat	Pertumbuhan Tanaman Pisang		
	Tinggi bibit (cm)	Diameter batang (mm)	Jumlah daun (helai)
Fj ₂	101,67 a	44,60 a	11,00
Pj ₃	101,33 a	41,93 ab	10,33
Pb ₁	95,33 ab	43,00 ab	9,67
Pj ₁	93,33 ab	42,87 ab	10,00
Kontrol	81,67 b	39,27 b	9,67

Keterangan: angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%

Setiap isolat *Pseudomonas* berfluoresensi memperlihatkan kemampuan yang berbeda dalam menginduksi enzim Fenilalanin Amonia Liase (FAL) (Tabel 3).

Tabel 3. Aktivitas FAL tanaman pisang (μ mol/menit/g)

No	Isolat	Aktivitas FAL			
		12 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1.	Pj ₁	18.96	18.29	19,19 a	19.23 a
2.	Kontrol	18.85	17.16	17,09 b	16.94 b
3.	Pj ₃	18.58	17.74	19,01 a	18.60 a
4.	Pb ₁	18.28	17.42	17,38 b	17.05 b
5.	Pj ₂	18.24	17.26	17,19 b	16.98 b

Keterangan: angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%

Hasil penelitian Saravanan *et al* (2004) melaporkan bahwa isolat P_f_m yang diaplikasikan ke perakaran tanaman pisang, mampu menginduksi meningkatnya enzim FAL meskipun tanpa inokulasi patogen. Namun akan lebih meningkat lagi bila terjadi penetrasi patogen pada sistem perakaran pisang. FAL adalah enzim kunci dalam jalur phenil propanoid dan berperan penting dalam biosintesis senyawa-senyawa fenol seperti: asam ferulat, kafeat, kumarat, sinapat, flavonoid, tanin, dan struktur polimer lignin, yang berperan spesifik untuk melindungi tanaman terhadap tekanan biotik maupun abiotik (Hahlbrock dan Cheel, 1989, Jones, 1984)

Isolat Pj₃ memperlihatkan kemampuan penginduksian enzim Peroksidase (PO) yang tinggi setelah 48 jam aplikasi, dan yang paling rendah adalah aplikasi dengan isolat Pb₁ (Tabel 4).

Tabel 4. Aktivitas PO tanaman pisang (perubahan absorbans/g/menit)

No	Isolat	Aktivitas PO			
		12 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1.	Pj ₂	0.066	0.037	0.049 b	0.029 ab
2.	Pj ₃	0.059	0.052	0.063 a	0.047 c
3.	Kontrol	0.045	0.042	0.039 c	0.041 bc
4.	Pb ₁	0.038	0.025	0.024 d	0.025 a
5.	Pj ₁	0.024	0.021	0.051 b	0.036 abc

Keterangan: angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DNMRT taraf nyata 5%

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).

Isolat *Pseudomonas* berfluoresensi yang digunakan tidak memperlihatkan kemampuan yang berbeda dalam aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PFO) tanaman pisang (Tabel 5).

Tabel 5. Aktivitas PFO tanaman pisang (perubahan absorbans/g/menit)

No	Isolat	Aktivitas PFO			
		12 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1.	Kontrol	0,0007	0,0010	0,0010	0,0010
2.	Pj ₃	0,0003	0,0010	0,0007	0,0010
3.	Pj ₂	0,0000	0,0007	0,0010	0,0010
4.	Pj ₁	0,0000	0,0010	0,0010	0,0010
5.	Pb ₁	0,0000	0,0007	0,0003	0,0007

Aktivitas 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 aktivitas enzim PFO, dihasilkan konsentrasi toksik yang tinggi sehingga tingkat ketahanan tanaman terhadap infeksi pun meningkat (Agrios, 1997, Kosuge, 1969 *cit* Saravanan *et al*, 2004).

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁ mempunyai kemampuan yang sama dalam mengendalikan penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman pisang.
2. Isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁ mempunyai kemampuan yang sama dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang.
3. Isolat Pj₁ dan Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Fenilalanin Amonia Liase (FAL) tanaman pisang pada 48 jam dan 72 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi.
4. Isolat Pj₃ mampu meningkatkan aktivitas enzim Peroksidase (PO) tanaman pisang pada 48 jam setelah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi.
5. Isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, dan Pb₁ tidak mampu meningkatkan aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PFO) tanaman pisang.

2. Saran

Penelitian lebih lanjut tentang penerapan *Pseudomonas* berfluoresensi di lapangan perlu dilakukan sebagai agens hayati yang ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Advinda, L., Alberida, H., Anhar, A. 2004. **Kajian Histopatologis Akar Tanaman Pisang yang Diinokulasi dengan Bakteri *Ralstonia solanacearum* E.F Smith.** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri 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.
- Agrios, G.N. 1997. **Plant Pathology.** Fourth Edition. Academic Press. Sydney. Tokyo. Toronto.
- Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat. 2002. **Sumatera Barat dalam Angka.**
- Butt, V.S. 1980. **Direct Oxidases and Related Enzymes.** In *The Biochemistry of Plants*, Vol 2. Academic Press, Inc.
- 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
- Hahlbrock, K., Scheel, D. 1989. Physiology and Molecular Biology of Phenylpropanoid Metabolism. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 40:347-369**
- Jones, D.H. 1984. Phenylalanine Ammonia-Lyase: Regulation of Its Induction and Its Role in Plant Development. **Phytochem 23:1349-1359**
- Misaghi, I.J., 1982. **Physiology and Biochemistry of Plant Pathogen Interaction.** Plenum Press. New York.
- 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.**
- Sigeo, D.C. 1993. **Bacterial Plant Pathology.** Cambridge University Press. Cambridge.
- Stunsbury, C., McKirdy, S., Power, G. 2001. Moko Disease *Ralstonia solanacearum* (race 2). **Factsheet No 21/2001.**
- Sumardiyono, C., Hadisutrisno, B., Subandiyah, S., Widyastuti, S.M. 2000. **Mekanisme Pengendalian Penyakit Layu Bakteri *Pseudomonas solanacearum* dan Layu *Fusarium oxysporum* F.SP. *cubense* Pada Pisang dengan Rhizobakteria.** Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada.
- 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**
- 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.
- Yusriadi., Tjahjono, B., Sinaga, M.S., Machmud, M. 1997. Dampak Introduksi Mikroorganisme Antagonis Terhadap Perkembangan Penyakit Layu Bakteri (*Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith) Pada Kacang Tanah. **Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan 9(2): 32-37.**

SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN

Produksi pisang di Propinsi Sumatera Barat menurun dari tahun ke tahun. Penurunan produksi pisang disebabkan karena gangguan hama dan penyakit, antara lain penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* yang hampir memusnahkan pertanaman pisang. Pemanfaatan agens hayati *Pseudomonas* berfluoresensi merupakan salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri *R. solanacearum*. Agens hayati ini dapat menghambat pertumbuhan patogen dan juga meningkatkan pertumbuhan tanaman di kebun percobaan. Penelitian lanjutan diharapkan adalah aplikasi *Pseudomonas* berfluoresensi ini pada tanaman pisang di lapangan.