

**KEMAMPUAN *Pseudomonas putida* Pf-20 dan 24.7B UNTUK MEMPERBAIKI SIFAT KIMIA MEDIA TUMBUH DAN KETAHANAN TERINDUKSI TEMBAKAU H877 TERHADAP *Cucumber mosaic virus***

**THE CAPABILITY *Pseudomonas putida* Pf-20 and 24.7B TO IMPROVE THE CHEMICAL OF GROWTH MEDIUM AND THE INDUCED-RESISTANCE OF TOBACCO H877 TO *Cucumber mosaic virus***

W.S. Wahyuni, dan A. Iwan

Jurusan HPT

e-mail wahyuni@mega-plasma.net

A. Mudjiharjati, T.C. Setyowati, dan H. Purwiko

Jurusan Tanah Fakultas Pertanian UNEJ, Jl. Kalimantan 37

Jember, 68121

**ABSTRACT**

*P. putida* Pf-20 from medium M1 (paddy soil, leaves compost and manure compost, 1:3:2) has a higher affinity and more rapid to solubilize phosphate on Pikovskaya medium, rather than *P. putida* 27.4B. Those affinities of both strains from the media M1 with CMV-48 were much greater than that of medium without CMV. After 64 days planted, the content of N total, C-organic, CEC,  $K_2O$ , and  $P_2O_5$  were better on medium M1, but the pH was little bit decreased. The reduction of  $PO_4$  and Fe in medium M1 could due to the bacterial growth, and for producing siderophore, particularly on the media with viral treatment. These bacteria strains did not affect on the plant height and number of leaves on media M1, M2 or M3, however, these bacteria affected on the total root length and root densities in the medium M1 with virus. The more available nutrient in the medium, the more rapid bacteria colonized rhizosphere and roots. Both of these bacteria were effective to reduce the disease severity of CMV on tobacco H877. The medium M1 was the best medium for bacterial and tobacco growth.

Key words: Bacteria strains, disease severity of CMV

**INTISARI**

*P. putida* Pf-20 asal media M1(tanah sawah, kompos daun, dan pupuk kandang, 1:3:2) mempunyai afinitas yang lebih tinggi dan lebih cepat melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya daripada *P. putida* 27.4B. Afinitas keduanya lebih tinggi pada media dengan CMV-48. Setelah 64 hari, kandungan N-total, C organik, KTK,  $K_2O$ ,  $P_2O_5$  pada media M1 lebih tinggi tetapi pH-nya sedikit menurun. Pada media M1 penurunan  $PO_4$  dan Fe digunakan untuk pertumbuhan tembakau, bakteri, dan untuk menghasilkan siderofor, terutama pada media dengan perlakuan virus. Kedua macam galur tidak mempengaruhi tinggi tanaman dan jumlah daun pada media M1, M2 atau M3, tetapi keduanya mempengaruhi total panjang akar dan kerapatan akar pada media M1 dengan perlakuan virus. Makin baik ketersediaan nutrisi dalam media, makin cepat bakteri mengkolonisasi rizosfer dan perakaran. Oleh karena itu, peranan kedua macam bakteri ini sebagai PGPR dan penginduksi ketahanan tembakau makin baik. Kedua galur bakteri mempunyai efektivitas

yang sama untuk mengurangi keparahan penyakit CMV pada tembakau H877. Media M1 adalah media terbaik untuk pertumbuhan bakteri dan tembakau.

Kata kunci: Dua galur *P. putida*, kandungan hara media, keparahan penyakit CMV

## PENGANTAR

Beberapa kelompok *fluorescens pseudomonad* diketahui sebagai *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) yang berperan membantu proses degradasi bahan organik dan sebagai bioreaktor untuk mengkatalisis pelarutan dan pelepasan fosfat dari partikel tanah. Pada umumnya, kandungan fosfat dalam tanah adalah 0,5% (b/b), tetapi hanya sedikit total fosfat yang tersedia bagi tanaman karena fiksasi fosfat dipengaruhi oleh kandungan Al, Fe, Ca, Mg, dan koloida tanah. Keadaan ini menyebabkan sangat rendahnya efisiensi fosfat dalam pupuk yang diserap tanaman, terutama pada tanah masam (Paul & Clark, 1989). *Pseudomonas putida*<sup>Rif<sup>+</sup></sup> mampu meningkatkan absorpsi fosfat sehingga berat kering ujung akar jagung bertambah (Premono *et al.*, 1996).

Golongan PGPR juga efektif untuk mengendalikan sejumlah penyakit yang bersifat terbawa tanah dengan mekanisme yang berbeda (Ongena *et al.*, 1999; Leeman *et al.* (1996). Crowley (2001) menerangkan bahwa dalam kondisi cekaman Fe, beberapa *Pseudomonas* spp. menghasilkan siderofor berpendar yang memproduksi pseudobaktin atau pioverdin. Beberapa golongan *Pseudomonas* lain dapat menghasilkan siderofor nonfluoresen yang disebut piokelin. Piokelin terdiri atas asam salisilat yang salah satu gugusnya disubstitusi sisteinil peptida. Asam salisilat selain sebagai perantara sintesis piokelin, juga sebagai siderofor endogenus yang penting dalam penginduksian ketahanan sistemik.

*P. putida* Pf-20 telah diuji efektivitasnya melawan *Cucumber mosaic*

*virus* (CMV) di rumah kaca (Wahyuni *et al.*, 2003, Wahyuni, 2003, Wahyuni *et al.*, 2006). *P. putida* 27.4B mempunyai kemampuan yang baik untuk melarutkan fosfat (Premono *et al.*, 1996; Firki-Ali, 2002) dan memperbaiki pertumbuhan jagung (Premono *et al.*, 1996). Berdasarkan pada hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (1) kemampuan dua macam galur *P. putida* memperbaiki sifat kimia tiga macam komposisi media tumbuh, (2) macam komposisi media tumbuh yang cepat merangsang *P. putida* untuk mendominasi daerah perakaran tembakau, dan (3) kemampuan bakteri untuk menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi CMV. Perubahan kimia yang terjadi pada sebelum dan setelah tanah diinvestasi dengan bakteri atau tanaman tembakau diperlakukan dengan virus, diamati sebagai indikator bahwa bakteri menggunakan senyawa atau hara tertentu dalam tanah untuk perbanyakan dan kemampuannya mengkolonisasi perakaran.

## BAHAN DAN METODE

**Persiapan media tanam dan rancangan penelitian.** Bibit tembakau cerutu H877 (tahan TMV, tetapi rentan CMV) umur 35 hari dipindahkan ke media tumbuh yang komposisinya berbeda. Percobaan dilakukan dengan rancangan acak lengkap faktorial (3<sup>2</sup> x 2 x 5). Faktor pertama, 3 macam media tanam (M1, M2, M3), faktor ke dua adalah introduksi tanaman dengan bakteri *P. putida* Pf-20 (B1), *P. putida* 27.4B (B2), dan H<sub>2</sub>O (B0). Faktor ke tiga adalah tanaman diinokulasi (V1) dan tidak diinokulasi (V0) dengan CMV. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang tiga kali. Media M1 adalah campuran tanah sawah,

pupuk kandang dan kompos daun (1:2:3) dengan pH 6,0. Media M2 adalah tanah sawah yang disiram dengan 5% cairan ekstrak kompos jerami padi, tiga kali seminggu. Media kontrol (M3) adalah tanah M1 yang disterilkan dan disiram dengan 500 ml larutan Hoagland yang dikondisikan mengandung  $10^{-6}$  M Fe, tiga kali seminggu.

**Preparasi inokulum bakteri dan virus.** Dua galur *P. putida*, Pf-20 koleksi Dr. T. Arwiyanto, UGM, dan *P. putida* 27.4B koleksi Dr. E.M. Premono, P3GI, digunakan sebagai bahan kajian untuk penelitian ini. Masing-masing bakteri diperbanyak dalam media air pepton yang mengandung 100 ppm rifampisin. CMV-48 (koleksi Dr. W.S. Wahyuni) diperbanyak pada tembakau H382 dan digunakan sebagai inokulum virus pada konsentrasi 5 mg daun  $\text{ml}^{-1}$  bufer 5 mM  $\text{PO}_4$ , pH 7.0.

**Inokulasi bakteri, CMV, dan jumlah tanaman terinfeksi serta keparahan penyakit CMV.** Sehari setelah bibit tembakau dipindahkan dari media pembibitan, media tanam (5 kg tanah komposisi berbeda per polybag) disiram dengan 100 ml suspensi masing-masing bakteri pada kerapatan  $2 \times 10^8$  cfu/ml. Inokulasi CMV dilakukan secara mekanik pada daun pertama, pada 7 hari setelah inokulasi (hs.  $\acute{y}$ ) dengan bakteri. Tanaman kontrol diinokulasi dengan air steril. Jumlah tanaman sakit dan keparahan penyakit dihitung seperti pada Wahyuni *et al.*, (2003).

**Uji kemampuan bakteri untuk melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya.** Uji kemampuan dua galur bakteri untuk melarutkan fosfat dilakukan dengan mengambil sampel tanah per ulangan secara acak pada kedalaman 10-12 cm, pada hari ke 14, 21, 28, 35 dan 42 setelah inokulasi bakteri. Masing-masing 1 g sampel tanah ditambah 9 ml 8,5% NaCl, dikocok sampai tersuspensi sempurna, lalu diencerkan dengan larutan 8,5% NaCl

sampai  $10^{-6}$ , dan secara duplo ditumbuhkan pada media Pikovskaya (10 g glukosa, 5 g  $\text{Ca}_3\text{PO}_4$ , 0,1 g  $\text{FeSO}_4$ , 0,5 g *yeast extract*, 15 g bacto-agar, dan ditambah 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ). Populasi bakteri dihitung setelah 72 jam. Apabila di sekitar koloni bakteri yang tumbuh timbul zone terang (halo) berarti bakteri mampu melarutkan fosfat yang tersedia dalam media Pikovskaya.

**Kemampuan bakteri mengkolonisasi akar dan rizosfer.** Untuk mengetahui kemampuan bakteri mendominasi tanah perakaran dan mengkolonisasi perakaran tanaman bila ditumbuhkan dalam komposisi media yang berbeda, pada 64 hari setelah tanam, 1 g rizosfer atau 1 g akar tanaman yang diambil secara acak dari tiap ulangan, dibuat suspensi secara serial sampai  $10^{-6}$  kemudian ditanam pada media King's B yang mengandung 100 ppm rifampisin. Sebagai pembanding, pada 32 hari setelah inokulasi bakteri diamati populasi bakteri pada rizosfer, 1 g sampel tanah diambil secara acak dari kedalaman 10-12 cm per ulangan (Leeman *et al.*, 1995). Jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung seperti pada Wahyuni *et al.*, (2003).

**Analisis sifat kimia tanah.** Kandungan hara dalam media tumbuh pada sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis sebagai berikut: (a) Tingkat kemasaman (pH) tanah diukur dengan metode Elektrode gelas, (b) Kandungan N-total tanah dengan metode Kjeldhal, (c) Kandungan P-tersedia dengan metode Bray-1 dan kadar P terekstrak diukur berdasarkan intensitas warna pada Abs 882 nm, (d) K-tersedia atau K tertukar yang terekstrak dalam  $\text{NH}_4$ -oksalat pH 7, (f) Kandungan Fe-tersedia yang terekstrak dalam DTPA, (g) Kandungan bahan organik dengan metode Walkey & Black.

**Total panjang akar dan kerapatan akar.** Total panjang akar dan kerapatan akar dihitung seperti pada Wahyuni et al. (2003). Total panjang akar dan kerapatan akar mencerminkan arsitektur perakaran tanaman, makin rapat dan makin panjang akar berarti arsitektur perakaran makin baik sehingga kemampuannya mengambil unsur hara dari media makin baik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Afinitas *P. putida* Pf-20 dan 27.4 B yang diintroduksi ke dalam media tanam untuk melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya.** Sampai 28 hsi. y bakteri, *P. putida* Pf-20 asal media M1 (tanah sawah, pupuk kandang, kompos daun) mempunyai afinitas lebih tinggi untuk melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya daripada *P. putida* 27.4B. Meskipun afinitas kedua bakteri asal media M2 dan M3 tidak berbeda ( $P < 0,05$ ) namun sangat rendah dibandingkan dengan yang berasal dari media M1. Proyeksi bakteri yang tumbuh pada media Pikovskaya mencerminkan bahwa makin sedikit kandungan kompos dalam media tumbuh M2 dan M3, afinitas kedua galur untuk melarutkan fosfat makin kurang.

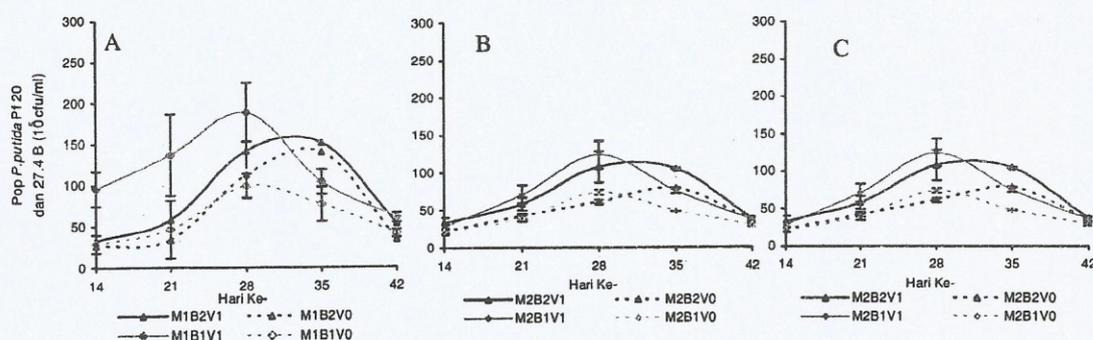
Populasi *P. putida* Pf-20 atau 27.4B yang diisolasi dari media M1, M2 atau M3 dengan tembakau yang diinokulasi virus, lebih tinggi daripada media yang sama tetapi tanpa perlakuan virus (Gambar 1). Meskipun keadaan nutrisi dan lingkungan media tumbuh dan media Pikovskaya berbeda, dapat diasumsikan bahwa datangnya patogen pada tanaman menyebabkan eksudat akar tembakau yang disekresikan ke media tumbuh pada awal perlawanannya terhadap patogen akan merangsang *P. putida* lebih aktif melarutkan  $\text{Ca}_3\text{PO}_4$  sehingga fosfat menjadi lebih tersedia bagi bakteri sendiri dan bagi tanaman (Neumann dan Römheld, 2001). Oleh sebab itu, populasi kedua galur bakteri

asal media M1 dengan virus yang ditumbuhkan pada media Pikovskaya menjadi lebih banyak.

**Kandungan hara dan pH media tanam pada 64 hst.** Gambar 2 menunjukkan bahwa nisbah C/N terendah terdapat dalam media M1, dan ini menyebabkan laju dekomposisi bahan organik yang terjadi makin cepat. Akibatnya, kandungan N total, C organik dan fosfat ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) lebih tinggi. Keadaan ini memberikan dukungan pada perkembangan populasi kedua galur bakteri, dan populasi tertinggi terdapat pada media M1 pada 64 hst. Laju proses dekomposisi bahan organik yang cepat dalam media M1 menyebabkan pH-nya menjadi lebih masam dibandingkan dengan pada media M2 dan M3. Keadaan yang sama juga ditemukan oleh Addy (2003), dan ini membuktikan ada keterlibatan *P. putida* sebagai PGPR dalam proses tersebut.

Peningkatan kandungan fosfat pada media M1 dapat disebabkan oleh aktivitas bakteri untuk melarutkan fosfat selama proses dekomposisi bahan organik. Berdasarkan pada Gambar 1, kedua galur *P. putida* asal media M1 diketahui yang terbaik melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya, dan kemampuan keduanya dapat diproyeksikan pada analisis kandungan fosfat dalam tanah setelah 64 hst perlakuan. Pelarutan fosfat dalam media M1 dapat diakibatkan oleh aktivitas asam organik dan atau enzim fosfatase yang dihasilkan oleh mikrobia tanah selama proses dekomposisi bahan organik (Paul & Clark, 1989; Varinini & Pinton, 2001). Fosfat dan besi meskipun dalam jumlah sedikit, berguna dalam sintesis beberapa enzim, hormon, asam organik, senyawa volatil, antibiotik atau siderofor. Senyawa-senyawa ini berperan dalam pertahanan tanaman terhadap patogen (Brimecombe *et al.*, 2001). Pembentukan senyawa tersebut dapat dikaitkan dengan terjadinya perubahan kandungan hara dalam rizosfer tanaman saat sampel tanah diambil pada 64 hst. (Gambar 2).

Sebelum diintroduksi dengan *P. putida*, media M1 yang diperlakukan dengan bakteri,



Gambar 1. Afinitas dua galur *Pseudomonas putida* melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya. Sampel rizosfer tembakau diambil pada hari yang berkelanjutan sejak introduksi bakteri pada (A). media M1 (tanah sawah + pupuk kandang+ pupuk hijau), (B). media M2 (tanah sawah+ekstrak jerami), (C). media M3 (tanah sawah+ larutan Hoagland). B1: *P. putida* Pf-20, B2: *P. putida* 27.4B, B0: tanpa diinokulasi bakteri, V1: diinokulasi dengan virus, dan V0: tanpa virus.

dengan atau tanpa virus, mempunyai kandungan K<sub>2</sub>O tertinggi tetapi setelah 64 hst. kandungannya menurun. Penyebab penurunan K<sub>2</sub>O ini diduga sebagai akibat aktivitas bakteri yang tinggi, dan disertai dengan peningkatan penggunaan K untuk pertumbuhan tembakau. Setelah perlakuan bakteri dan virus, kandungan C organik dan kandungan N pada antarperlakuan mengalami penurunan, karena C dan N digunakan sebagai sumber nutrisi bagi kehidupan tanaman dan bakteri. Menurut Crowley (2001), C dan N serta beberapa mineral lain juga digunakan untuk membentuk antibiosis atau senyawa pertahanan tanaman terhadap patogen.

Pada 64 hst, secara umum kandungan N-total, C organik, KTK, K<sub>2</sub>O, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pada media M1 lebih tinggi daripada media M2 dan M3, tetapi kurang berbeda antarperlakuan bakteri dan virus (P > 0,05). Dibandingkan dengan perlakuan tanpa bakteri, perubahan kandungan hara dan pH antarperlakuan bakteri dan virus lebih disebabkan oleh aktivitas *P. putida* dalam menggunakan substrat untuk hidupnya, karena figur pertumbuhan tembakau tidak terlalu

berbeda antara M1, M2 dan M3, dengan atau tanpa virus (P > 0,05, Tabel 1).

**Kemampuan *P. putida* Pf-20 dan 27.4 B mengkoloni perakaran dalam kaitannya dengan jumlah tanaman sakit dan tingkat keparahan penyakit.** Pada saat tanaman berumur 32 hst, populasi kedua galur bakteri yang mengkoloni perakaran secara umum sepadan dengan populasi bakteri yang melarutkan fosfat dalam media Pikovskaya. Bakteri asal rizosfer tanaman yang diinokulasi virus mempunyai populasi lebih tinggi daripada bakteri asal rizosfer tanaman tanpa virus (Gambar 3). Hal ini sama dengan temuan Wahyuni et al., (2003), dan Andayani (2004). Populasi kedua galur bakteri meningkat pada saat tanaman berumur 64 hst. Populasi *Pseudomonas* spp. pendar fluor tertinggi dicapai pada 2-2,5 bulan setelah diinokulasikan ke media tanam, hal ini juga sama dengan temuan Leeman et al., (1995), Wahyuni et al. (2003), dan Wahyuni (2003).

Pada 32 hst, *P. putida* Pf-20<sup>Rif+</sup> asal media M1 dengan virus, populasinya lebih

Tabel 1. Populasi dua galur *P. putida*, dan pengaruhnya terhadap tingkat keparahan penyakit CMV dan agronomi tembakau pada 64 hst

Perlakuan	Populasi bakteri* (x 10 <sup>6</sup> cfu/ml) pada umur 64 hst.			Keparahan penyakit (%)	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun
	dalam rizosfer	di permukaan akar	dalam jaringan akar			
M1B1V1	156,3 b	344,5 a	208,0 b	2,1 bc	120,3 b	25,3 a
M1B1V0	111,3 cd	161,8 bc	153,5 cd	0,0 c	134,3 a	25,3 a
M1B2V1	233,5 a	309,5 a	346,0 a	1,3 bc	130,3 ab	24,0 b
M1B2V0	112,5 cd	129,8 cd	160,8 cd	0,0 c	132,3 ab	25,0 a
M1B0V1	0,0 f	0,0 e	0,0 f	3,8 b	114,3 b	23,0 c
M1B0V0	0,0 f	0,0 e	0,0 f	0,0 c	117,7 b	24,7 ab
M2B1V1	124,5 c	93,0 d	158,5 cd	2,0 bc	117,3 b	24,3 b
M2B1V0	63,3 d	84,5 d	104,0 d	0,0 c	129,0 ab	23,0 c
M2B2V1	89,3 d	156,0 bc	177,5 c	2,2 bc	130,3 ab	21,7 d
M2B2V0	82,0 d	126,3 cd	87,0 e	0,0 c	130,3 ab	25,0 a
M2B0V1	0,0 f	0,0 e	0,0 f	3,7 b	115,3 b	21,0 d
M2B0V0	0,0 f	0,0 e	0,0 f	0,0 c	116,7 b	21,0 d
M3B1V1	120,0 c	246,5 b	228,5 b	2,0 bc	127,0 ab	24,7 ab
M3B1V0	102,3 cd	134,3 c	176,5 c	0,0 c	118,0 b	24,7 ab
M3B2V1	245,0 a	230,5 b	327,3 a	2,1 bc	133,7 ab	24,7 ab
M3B2V0	54,3 e	176,8 bc	115,8 d	0,0 c	128,7 ab	24,7 ab
M3B0V1	0,0 f	0,0 e	0,0 f	14,1 a	111,3 b	22,0 c
M3B0V0	0,0 f	0,0 e	0,0 f	0,0 c	115,7 b	22,7 c

M1 (tanah sawah + P.kandang + P.hijau), M2 (tanah sawah + ekstrak jerami), M3 (tanah sawah + larutan Hoagland), B1 *P.putida* Pf-20, B2 *Pseudomonas putida* 27.4 B, B0 tanpa bakteri, V0 tidak diinokulasi virus, V1 diinokulasi virus. \* Bakteri yang diintroduksi dan diisolasi dari media adalah resisten terhadap rifampicin

tinggi daripada *P. putida* 24.7B, dan sebaliknya pada media M3. Akan tetapi pada 64 hst, populasi *P. putida* 27.4B lebih tinggi daripada galur Pf-20 (Tabel 1). Berkaitan dengan ketersediaan P dan Fe dalam media setelah 64 hst (Gambar 2), bahan organik yang dicampurkan dalam media M1 sudah terdekomposisi, dan penyiraman larutan Hoagland yang dikondisikan mengandung 10 µM Fe secara berkala dan berkelanjutan pada media M3, menyebabkan substrat pertumbuhan bakteri dan tanaman menjadi lebih baik. Hal ini

meningkatkan populasi kedua galur bakteri, dan ini lebih tinggi pada tanaman dengan virus dibandingkan dengan tanpa virus. Keadaan ini meningkatkan kemampuan bakteri membentuk senyawa yang merangsang pertahanan tanaman sehingga tingkat keparahan penyakit serta jumlah tanaman sakit per perlakuan menjadi rendah (Tabel 1).

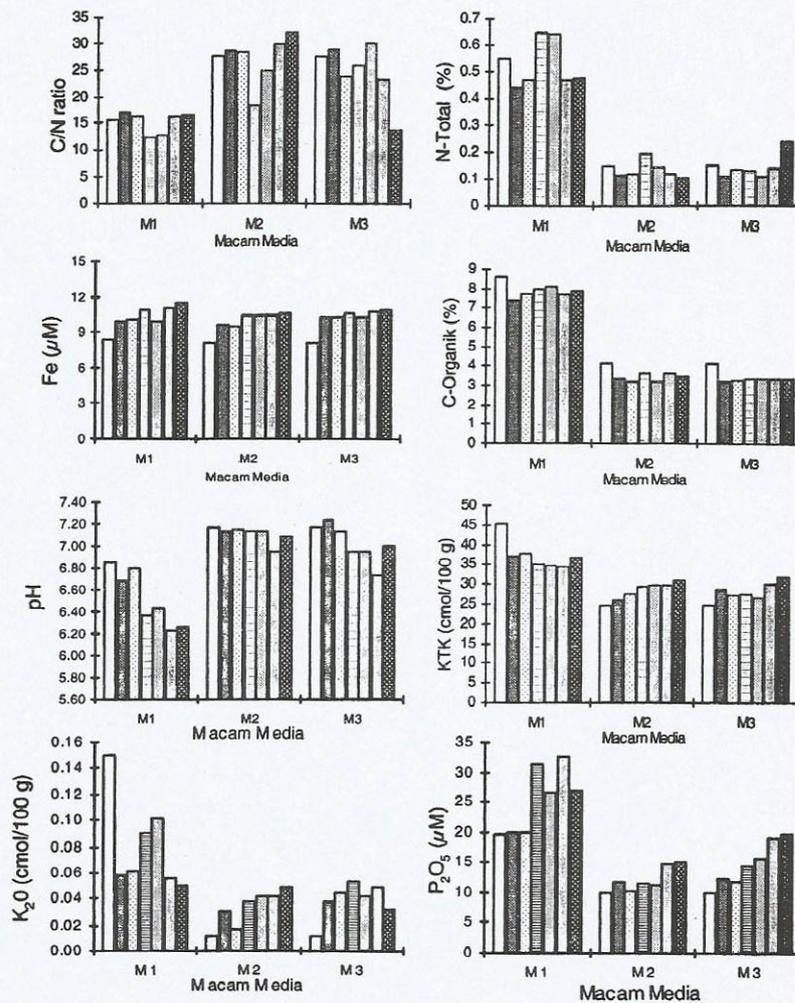
**Pengaruh introduksi *P. putida* terhadap jumlah tanaman sakit dan tingkat keparahan penyakit CMV. *P. putida* Pf-20**

dan 27.4B mempunyai efektivitas yang sama untuk mengurangi keparahan penyakit CMV. Macam media juga tidak terlalu berpengaruh pada tingkat keparahan penyakit ( $P > 0.05$ ). Berkurangnya keparahan penyakit disebabkan oleh aktivitas *P. putida*, dan ini dibuktikan dengan kemampuannya mengkolonisasi perakaran dan rizosfer tembakau (Tabel 1, Gambar 3).

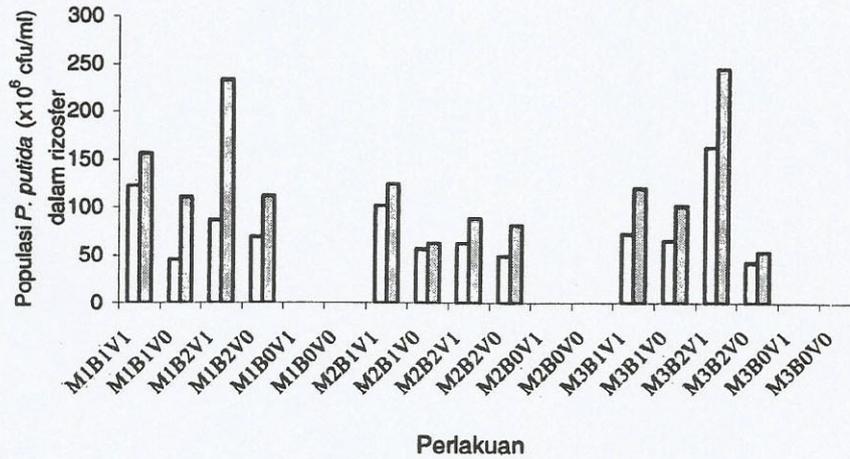
Populasi kedua galur bakteri dalam rizosfer, permukaan akar dan dalam jaringan akar pada media M1 dengan virus, lebih tinggi daripada tanpa virus, dan diikuti dengan pada media M3. Demikian juga temuan Paramita (2004), pada kondisi media yang banyak mengandung kompos jerami dan pupuk kandang dan diintroduksi dengan cacing merah, kedua galur tersebut mempunyai efektivitas yang sama untuk mengurangi keparahan penyakit CMV pada mentimun. Setelah 64 hst, rerata kandungan Fe pada media M1, M2, atau M3 adalah  $10 \mu\text{M}$  (Gambar 2). Wahyuni *et al.*, (2003) menemukan bahwa populasi bakteri optimum dicapai pada konsentrasi Fe  $20 \mu\text{M}$  disertai dengan tingkat keparahan penyakit terendah dibandingkan dengan pada konsentrasi Fe 10 dan  $40 \mu\text{M}$ . Pada media M1 terutama pada tanaman yang diinokulasi dengan virus, kandungan Fe menurun  $1,39 \mu\text{M}$  pada 64 hst, ada kemungkinan Fe lebih banyak dimanfaatkan oleh bakteri untuk menghasilkan siderofor atau senyawa pertahanan lain. Menurut Ongena *et al.*, (1999; 2000) pada konsentrasi Fe  $10 \mu\text{M}$  beberapa PGPR pendar fluor seperti *P. putida* mampu bersaing dengan mikrobia tanah lain untuk mengkelat besi sehingga substrat tumbuhnya menjadi cukup besi. Akibatnya, populasinya berlipat banyak dan kemudian membentuk siderofor sehingga meningkatkan pertahanan tanaman terhadap cekaman patogen atau lingkungan. Siderofor berfungsi untuk memberikan signal transduksi bagi tanaman agar meningkatkan pertahanannya (Leeman *et al.*, 1996), dan ini ditunjukkan dengan rendahnya tingkat keparahan penyakit.

CMV-48 (subgrup II CMV) aslinya pada tembakau H382 di Sukowono Jember menyebabkan mosaik hijau ganas, dan pada *N. glutinosa* di rumah kaca di Balithi Segunung menyebabkan hijau ganas dan kadang-kadang disertai dengan nekrosis pada tulang daun atau pucuk. Pada percobaan ini (Juni-Agustus 2004), CMV-48 menyebabkan gejala mosaik dengan tingkat keparahan penyakit ringan (kurang dari 10%) pada tembakau H877. Akan tetapi, pada percobaan lapangan bulan Agustus-Oktober 2004 di Kelurahan Tegalgede Jember, CMV-48 menyebabkan mosaik hijau ganas dan pada satu dua daun terbawah tembakau H382 menunjukkan nekrosis tulang daun (data tidak ditunjukkan). Hal ini membuktikan bahwa pada kondisi rumah kaca, kedua galur *P. putida* mampu menurunkan keparahan penyakit CMV-48 pada tembakau H877, seperti temuan Paramita (2004) pada mentimun.

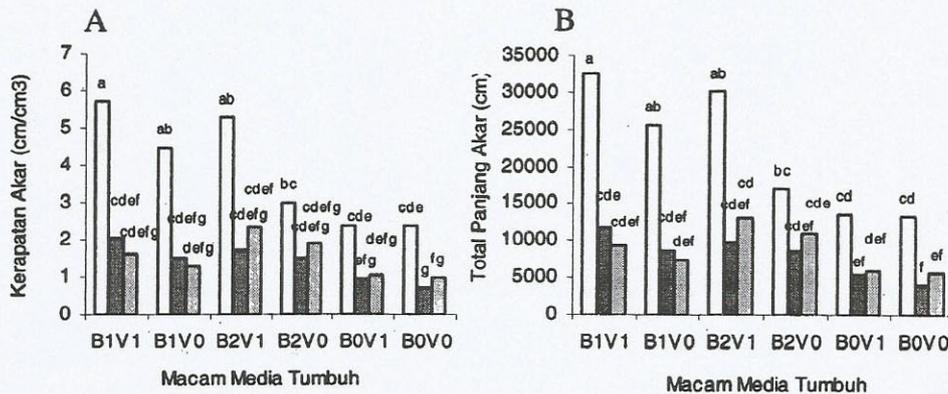
Pada tanaman sakit, kedua galur *P. putida* menyebabkan penyebaran pola gejala mosaik antardaun tidak merata. Seringkali daun yang tumbuh setelah daun dengan gejala mosaik tidak menunjukkan gejala dan setelah tumbuh beberapa daun berikutnya, gejala timbul lagi dengan skala keparahan penyakit bervariasi. Pada beberapa tanaman, daun bagian bawah menunjukkan gejala mosaik samar dan pada daun-daun berikutnya gejala mosaik menjadi sangat lemah sampai lenyap (*recovery*, data tidak ditunjukkan).



Gambar 2. Kandungan hara media tanam pada 64 hst. □ Kandungan hara sebelum perlakuan, ▨ Kandungan hara setelah perlakuan -bakteri +CMV, ▩ Kandungan hara setelah perlakuan bakteri -CMV-, ▤ Kandungan hara setelah perlakuan +*P. putida* 27.4B+CMV, ▥ Kandungan hara setelah perlakuan +*P. putida* 27.4B-CMV, ▦ Kandungan setelah perlakuan +*P. putida* Pf-20 + CMV, ▧ Kandungan hara setelah perlakuan +*P. putida* Pf-20-CMV



Gambar 3. Populasi *P. putida* Pf-20 dan 27.4B resisten rifampisin di dalam rizosfer pada saat tanaman berumur □ 32 hst dan ■ 64 hst. M1, M2, M3, B1; B2; B0, V1, V0 merujuk singkatan pada Gambar 1.



Gambar 4. Perakaran tanaman pada 64 hst. A. Kerapatan akar, B. Total panjang akar. □M1, ■ M2, ▒ M3. M1, M2, M3, B1, B, B0, V0, V1 merujuk singkatan pada Gambar 1. \* Bakteri yang diintroduksi dan diisolasi dari media adalah resisten terhadap rifampisin

**Total panjang akar dan kerapatan akar tanaman pada umur 64 hst.** Pada Gambar 4 ditunjukkan bahwa media M1 adalah media terbaik untuk pertumbuhan akar tembakau H877. *P. putida* Pf-20 mengakibatkan total panjang akar dan kerapatan akar tanaman dengan virus lebih baik daripada yang diakibatkan oleh *P. putida* 27.4B. Meskipun 10  $\mu\text{M}$  Fe dalam larutan Hoagland ditambahkan secara berkala dan berkelanjutan pada media M3 (tanah sawah), tetapi peran Fe dalam pertumbuhan akar tidak sebaik bila tanaman ditumbuhkan pada media yang kaya haranya (M1). Hal ini didukung oleh kemampuan kedua galur bakteri PGPR mengkolonisasi perakaran pada media M3 yang lebih sedikit dibandingkan dengan pada media M1 (Tabel 1, Gambar 4). Wahyuni et al. (2003) menemukan bahwa kandungan Fe 10  $\mu\text{M}$  dalam media pasir kurang meningkatkan total panjang akar dibandingkan dengan kandungan Fe 20  $\mu\text{M}$ . Kandungan Fe yang tinggi [40  $\mu\text{M}$ ] dalam media tumbuh menyebabkan populasi bakteri menurun, tetapi memperbaiki total panjang akar. Premono et al. (1996) juga membuktikan bahwa *P. putida* 27.4B<sup>Rif+</sup> lebih meningkatkan pertumbuhan akar jagung dibandingkan dengan *P. putida* tipe liar, bila keduanya diintroduksi pada media campuran tanah dan pasir dengan pupuk NPK secara seimbang. Galur resisten ini lebih cepat mengkolonisasi perakaran dan afinitasnya melarutkan fosfat lebih tinggi dibandingkan dengan tipe liar.

Meskipun secara umum kedua galur *P. putida* yang tumbuh pada ketiga macam media tumbuh yang berbeda komposisinya, kurang berpengaruh pada tinggi tanaman dan jumlah daun (Tabel 1), tetapi total panjang akar dan kerapatan akar terbaik dicapai oleh tanaman yang ditumbuhkan pada media M1, terutama pada tanaman yang diinokulasi virus (Gambar 4A, B).

## KESIMPULAN

Populasi kedua galur *P. putida*<sup>Rif+</sup> yang diintroduksi ke media tumbuh yang kaya hara (M1) meningkat tinggi setelah dua bulan. Pada media Pikovskaya, *P. putida* Pf-20 asal media M1 dengan virus, mempunyai afinitas melarutkan P lebih baik daripada *P. putida* 27.4B, meskipun keduanya mempunyai efektivitas yang sama untuk menurunkan keparahan penyakit CMV. Pada kondisi rumah kaca, kedua galur bakteri dapat memperbaiki kandungan hara media tumbuh. Makin baik kandungan hara tersedia dalam media, makin cepat bakteri mengkolonisasi rizosfer dan akar, dan makin baik arsitektur perakaran. Akibatnya, populasi bakteri menjadi tinggi sehingga perannya sebagai PGPR dan penginduksi ketahanan tanaman menjadi lebih baik.

## UNGKAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Dr. I. Hartana atas bantuan pada pelaksanaan penelitian ini. Penelitian dilaksanakan dengan biaya dari Hibah Penelitian Dasar dengan Nomor 78/P.21PT/DPPM/PID/III/2004 tertanggal 1 Maret 2004.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H.S. 2003. Pengaruh introduksi cacing merah (*Lumbricus rubellus*) dan *Pseudomonas putida* Pf-20 pada beberapa medium tumbuh terhadap keparahan penyakit CMV pada tanaman ketimun. *Skripsi. Fak. Pertanian UNEJ*. Jember.
- Andayani, S.D. 2004. Interaksi *P. putida* Pf-20 dengan CMV dan TMV pada tembakau H877. *Skripsi. Fak. Pertanian UNEJ*. Jember.
- Brimecombe, M.J., F.A. de Lej, & J.M. Lynch. 2001. The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. pp. 95-140. *In* R. Pinton, Z. Varanini & P. Nannipieri (eds.).

- The Rhizosphere*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Crowley, D. 2001. Function of siderophore in the plant Rhizosphere. pp. 223-261. In R. Pinton, Z. Varanini & P. Nannipieri (eds.). *The Rhizosphere*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Firky-Ali. 2001. Uji selektivitas bakteri pelarut fosfat pada media cair molase dengan beberapa konsentrasi. *Skripsi. Fakultas Pertanian UNEJ*.
- Leeman M., J.A. van Pelt, M.J. Hendrickx, R.J. Scheffer, P.H.A.M. Baker, & B. Schippers. 1995. Biocontrol of *Fusarium* wilt of radish in commercial greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS374. *Phytopathology* 85:1301-305.
- Leeman, M., F.M. den Ouden, J.A. van Pelt, F.P.M. Dirx, H. Steijl, P.H.A.M. Bakker, & B. Schippers. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86:149-155.
- Neumann, G. & V. Römheld. 2001. The release of root exudates as affected by the plant's physiological status. pp. 41-93. In R. Pinton, Z. Varanini & P. Nannipieri (eds.). *The Rhizosphere*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Ongena, M., F. Daayl, P. Jacques, P. Thonart, N. Benhamou, T.C. Paulitz, P. Cornells, N. Koedam & R.R. Belanger. 1999. Protection cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent pseudomonads: predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis. *Plant Pathol.* 48: 66-76.
- Ongena, M., F. Daayl, P. Jacques, P. Thonart, B. Benhamou, T.C. Paulitz & R.R. Belanger. 2000. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathol.* 49: 523-530.
- Paramita, D.A. 2004. Pemanfaatan cacing merah (*Lumbricus rubellus*) untuk meningkatkan peran *Pseudomonas putida* Pf-20 dan 27.4B dalam menginduksi ketahanan sistemik ketimun cv. Verona F-1 terhadap CMV. *Skripsi S1. Fak. Pertanian UNEJ. Jember*.
- Paul, E.A. & F.E. Clark. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. New York-London.
- Premonò, E.M., A.M. Moaward & P.L.G. Vlek. 1996. Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and survival in the rhizosphere. *Ind. J. Crop Sci.* 11: 13-23.
- Varanini, Z. & R. Pinton. 2001. Direct versus indirect effect of soil humic substances on plant growth and nutrition. pp. 141-157. In R. Pinton, Z. Varanini & P. Nannipieri (eds.). *The Rhizosphere*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Wahyuni, W.S., R. Yutriyono & S. Winarso. 2003. Pengaruh konsentrasi besi dalam media tanam pada aktivitas *Pseudomonas putida* Pf-20 untuk menginduksi ketahanan tembakau terhadap *Cucumber mosaic virus*. *Hayati* 10: 130-133.
- Wahyuni, W.S. 2003. Kemampuan *Pseudomonas putida* Pf-20 untuk mengendalikan *Cucumber mosaic virus*. Hlm 111-115. Pros. Kongres XVII & Seminar PFI. Bandung, 6-8 Agustus 2003.
- Wahyuni, W.S., H.S. Addy, B. Arman, & T.C. Setyowati. 2006. Sinergisme *Lumbricus rubellus* dengan *Pseudomonas putida* Pf-20 dalam menginduksi ketahanan sistemik mentimun terhadap *Cucumber mosaic virus*. *Hayati*. Siap terbit.