

**DAYA TAHAN HIDUP *PSEUDOMONAS PUTIDA* STRAIN Pf-20
DALAM BEBERAPA MACAM INOKULUM**

***SURVIVAL OF PSEUDOMONAS PUTIDA STRAIN Pf-20 IN THE DIFFERENT
INOCULUM***

Yenny Wuryandari

Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional Veteran Surabaya

Triwidodo Arwiyanto, Bambang Hadisutrisno

Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

I. Hartana

Fakultas Pertanian Universitas Jember

ABSTRACT

*For any crop-protection agent, an efficient formulation is a necessity to translate laboratory activity into adequate field performance. There are particular challenges to be faced in formulation of biological control agents, because the active ingredient is a living organism that must be kept relatively immobile and inactive while in storage, but quickly resume its normal metabolic processes once applied to the target site. The objective of the research was to study survival of *Pseudomonas putida* strain Pf-20 in various formulations at the storage time and germination. The twelve formulations include carriers, additives and concentration of Pf-20. The efficacy of various formulation in maintaining the population of Pf-20 in storage was assessed. The research result showed that population of Pf-20 in the formulation number seven was the highest, with the combination peat+talc, CMC+arginin and concentration of Pf-20 10^{10} CFU/ml. In peat+talc, CMC+arginin, Pf-20 10^{10} CFU/ml-based formulation the bacteria survived even up to 84 days of storage although the population declined. In all formulations, population of Pf-20 increased at the time of seed germination. At the time of seed germination, formulation number seven was the highest too.*

Keyword: formulation, P. putida, seed coating

INTISARI

Untuk beberapa agensia pengendali biologi patogen tanaman, suatu formulasi yang efisien diperlukan untuk aplikasi dalam skala lapangan. Formulasi untuk agensia pengendali biologi mempunyai tantangan khusus karena bahan aktifnya adalah mikroorganisme yang secara relatif tidak berubah dan tidak aktif selama penyimpanan tetapi aktif kembali melakukan metabolisme setelah diaplikasikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya tahan hidup *Pseudomonas putida* strain Pf-20 dalam beberapa formula selama penyimpanan dan perkecambahan. Duabelas formulasi dibuat dengan teknik penyalutan benih yaitu dengan mengkombinasikan bahan pembawa (gambut+talc, kaolin+talc), bahan aditif (CMC, CMC+arginin), dan konsentrasi Pf-20. Populasi Pf-20 pada masing-masing formula diamati setiap minggu selama penyimpanan, pada saat awal berkecambah dan satu minggu setelah berkecambah. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa populasi Pf-20 tertinggi pada formula nomor 7 yaitu formula dengan kombinasi bahan pembawa gambut+talc, bahan aditif CMC+arginin, dan konsentrasi Pf-20 10^{10} CFU/ml. Pada semua formula terjadi penurunan populasi Pf-20 selama dalam penyimpanan. Populasi Pf-20 pada formula nomor 7 sebesar $7,00 \times 10^6$ CFU/pil-benih dan dapat bertahan hidup sampai minggu ke-12. Pada semua formula, populasi Pf-20 mengalami kenaikan sampai 2 orde pada saat awal benih berkecambah atau muncul radikel dan tetap naik sampai hari ke-12. Pada saat benih berkecambah, formula nomor 7 juga menunjukkan populasi bakteri tertinggi.

Kata kunci : formulasi, penyalutan benih, *P. putida* strain Pf-20

PENGANTAR

Diantara *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), pseudomonad fluoresen mendapat banyak perhatian. Strain pseudomonad fluoresen tertentu menunjukkan kemampuan dalam menekan perkembangan beberapa penyakit tumbuhan yang disebabkan oleh patogen terbawa tanah (Fukui *et al.*, 1994; Raaijmakers *et al.*, 1995; Schippers, 1992). Pada umumnya pseudomonad fluoresen yang telah diuji merupakan kelompok *P. fluorescens* dan *P. putida* (Stolp & Gadhari, 1981).

Pseudomonas putida strain Pf-20 merupakan salah satu strain dari pseudomonad fluoresen hasil isolasi dari rizosfer akar putri malu (*Mimosa invisa*) tanaman rotasi di areal perkebunan tembakau milik PTPN II, Sumatera Utara (Arwiyanto, 1997). Dari hasil pengujian baik di rumah kaca maupun di lapangan, Pf-20 ini menunjukkan kemampuan yang tinggi dalam menekan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu pada tembakau (Arwiyanto dan Hartana, 1999).

Penerapan pengendalian dengan cara pencelupan dirasakan sangat tidak praktis dalam skala lapangan. Produk mikroorganisme sebagai agensia pengendali biologi sebaiknya dijual dalam bentuk yang dapat dengan mudah digunakan, untuk itu harus diformulasikan. Formulasi yang sesuai akan memberikan habitat yang dapat melindungi mikroorganisme, dengan demikian akan dapat meningkatkan potensinya untuk hidup dan mengkoloni secara baik (Boyetchko *et al.*, 1999).

Teknik penyalutan benih dapat diterapkan untuk penerapan spora jamur atau sel bakteri (Paulitz, 1992). Penyalutan benih biasanya didasarkan pada suatu bahan pembawa seperti gambut halus (Glass, 1993). Menurut Boyetchko *et al.* (1999) bahan lain yang ditambahkan bersama bakteri adalah bahan lempung dan turunan selulosa seperti *Carboxymethyl-cellulose* (CMC) dan polimer lain. Keberhasilan metode ini tergantung dari

keberhasilan antagonis mengkoloni rizosfer pada waktu perkecambahan benih (Weller, 1983). Diketahui bahwa perlakuan penyalutan benih dengan pseudomonad fluoresen dapat meningkatkan populasi pseudomonad fluoresen lebih dari 10 kali pada benih. Menurut Callan *et al.* (1990), selama *biopriming* populasi bakteri dapat meningkat dari 10 sampai 10.000 kali tergantung pada jumlah awal inokulum.

Tujuan penelitian ini adalah 1) Untuk mendapatkan formula dengan kombinasi antara konsentrasi Pf-20, bahan aditif dan bahan pembawa teknik penyalutan benih., 2) Untuk mengetahui pengaruh formula terhadap daya hidup Pf-20 dalam pil-benih., dan 3) Untuk mengetahui pengaruh formula terhadap viabilitas Pf-20 dalam pil-benih yang berkecambah.

BAHAN DAN METODE

Bakteri *Pseudomonas putida* strain Pf-20 adalah isolat hasil isolasi dari rizosfer *M. invisa* (Arwiyanto, 1997). Pf-20 ditumbuhkan pada medium King's B pada suhu kamar. Benih tembakau yang digunakan adalah benih tembakau varietas Deli-4. Bahan pembawa meliputi gambut berasal dari Rawa Pening, talk, dan kaolin dari unit Pertambangan Yogyakarta. Bahan aditif yang digunakan yaitu arginin dan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC).

Penelitian dilakukan di laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Pembuatan Formulasi. Formulasi dibuat dengan menggunakan teknik penyalutan benih. Proses penyalutan benih dilakukan dengan mengkombinasikan ketiga bahan yaitu macam bahan pembawa (gambut + talk dan kaolin + talk), macam bahan aditif atau bahan perekat (arginin + CMC dan CMC) serta konsentrasi

inokulum bakteri antagonis yaitu 10^8 CFU/ml, 10^9 CFU/ml dan 10^{10} CFU/ml.

Benih tembakau Deli-4 sebelum disaluti didesinfeksi dengan NaOCl selama 30 detik kemudian dikeringanginkan (Gamliel & Katan, 1992). Benih tersebut diletakkan pada cawan petri berdiameter 15 cm, dan agar benih terpisah satu sama lain cawan petri digoyang-goyang. Bakteri Pf-20 dalam bahan aditif disemprotkan secara merata pada benih, selanjutnya ditaburi secara cepat dengan bahan pembawa. Untuk mengambil sekaligus menjaga agar benih tersaluti satu per satu oleh bahan pembawa maka pengambilan digunakan kuas dengan gerakan berputar-putar atau melingkar. Butiran pada tahap pertama tersebut masih kecil karena bahan pembawa masih sedikit yang menempel. Setelah dioven lebih kurang 5–10 menit pada suhu 35°C untuk membantu penempelan bahan pembawa, butiran diambil dan diletakkan pada cawan petri yang telah diberi kertas steril, selanjutnya digoyang-goyang agar terpisah satu sama lain. Penyemprotan dan penaburan dilakukan seperti pada tahap pertama. Proses yang sama dilakukan sampai tahap 5 sehingga ukuran diameter benih yang disaluti mencapai lebih kurang 1,5 mm. Hasil penyalutan benih tembakau dari berbagai formula yang berupa butiran selanjutnya disebut pil-benih. Ke-12 kombinasi dari 3 bahan untuk formulasi tersebut sekaligus digunakan sebagai perlakuan (12 perlakuan) untuk pengujian selanjutnya.

Uji Viabilitas *P. putida* strain Pf-20 dalam Formulasi. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan penyalutan benih dengan formula tertentu terhadap daya tahan hidup Pf-20, dilakukan penghitungan dinamika populasi Pf-20 pada interval satu minggu dari benih dalam formula yang disimpan pada suhu kamar. Secara detail penghitungan populasi adalah sebagai berikut: 10 pil-benih dengan berat 0,02 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml 0,1 M buffer fosfat pH 7 ditambah 0,1%

pepton. Tabung reaksi kemudian digojog selama 15 menit dan didiamkan selama 5 menit, suspensi bagian atas diambil 1 ml dan dilakukan seri pengenceran. Dari tiap seri pengenceran diambil 0,1 ml dan ditumbuhkan pada medium King's B dalam cawan petri. Biakan diinkubasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Populasi bakteri Pf-20 dihitung dalam satuan cfu/pil-benih. Setiap perlakuan diulang 3 kali.

Uji Viabilitas *P. putida* strain Pf-20 dalam pil-benih yang berkecambah pada berbagai formula. Uji viabilitas Pf-20 dilakukan dengan menghitung populasi Pf-20 pada pil-benih yang telah dikecambahkan dengan cara seperti tersebut di atas. Pengamatan dilakukan pada saat pil-benih berkecambah atau muncul warna putih pada pil-benih dan 1 minggu berikutnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penyalutan benih tembakau dengan menggunakan kombinasi antara bahan pembawa gambut+talk, kaolin+talk, bahan aditif CMC, CMC + Arginin, serta konsentrasi strain Pf-20 10^{10} , 10^9 , dan 10^8 CFU/ml diperoleh 12 formula. Duabelas formula yang diperoleh adalah ;

- F1 : CMC, Gambut+talk, Pf-20 10^{10} CFU/ml (CMC, peat+talc, Pf-20 10^{10} CFU/ml)
- F2 : CMC, Kaolin+talk, Pf-20 10^{10} CFU/ml (CMC kaolin + talc, Pf-20 10^{10} CFU/ml)
- F3 : CMC, Gambut+talk, Pf-20 10^9 CFU/ml (CMC, peat+talc, Pf-20 10^9 CFU/ml)
- F4 : CMC, Kaolin+talk, Pf-20 10^9 CFU/ml (CMC, kaolin + talc, Pf-20 10^9 CFU/ml)
- F5 : CMC, Gambut+talk, Pf-20 10^8 CFU/ml (CMC, peat+talc, Pf-20 10^8 CFU/ml)

- F6 : CMC, Kaolin+talk, Pf-20 10^8 CFU/ml
(CMC, kaolin+talc, Pf-20 10^8 CFU/ml)
- F7 : CMC+arginin, Gambut+talk, Pf-20 10^{10} CFU/ml (CMC+arginin, peat+talc, Pf-20 10^{10} CFU/ml)
- F8 : CMC+arginin, Kaolin+talk, Pf-20 10^{10} CFU/ml (CMC+arginin, Kaolin+talc, Pf-20 10^{10} CFU/ml)
- F9 : CMC+arginin, Gambut+talk, Pf-20 10^9 CFU/ml (CMC+arginin, peat+talc, Pf-20 10^9 CFU/ml)
- F10 : CMC+arginin, Kaolin+talk, Pf-20 10^9 CFU/ml (CMC+arginin, Kaolin+talc, Pf-20 10^9 CFU/ml)
- F11 : CMC+arginin, Gambut+talk, Pf-20 10^8 CFU/ml (CMC+arginin, peat+talc, Pf-20 10^8 CFU/ml)
- F12 : CMC+arginin, Kaolin+talk, Pf-20 10^8 CFU/ml (CMC+arginin, Kaolin+talc, Pf-20 10^8 CFU/ml)

Dari 12 formula diuji viabilitas strain Pf-20 dalam pil-benih dan pada pil-benih yang berkecambah, dengan hasil seperti terlihat pada Tabel 1.

Populasi Pf-20 dalam pil-benih pada minggu ke-0 populasi tertinggi pada formula bernomor 7 yaitu pil-benih dari formula dengan kombinasi bahan pembawa gambut+talk, bahan aditif CMC ditambah arginin dan konsentrasi Pf-20 10^{10} CFU/ml. Populasi pada formula 7 dapat mencapai $7,00 \times 10^6$ CFU/pil-benih kemudian diikuti formula bernomor 9, 11, 1, 3, 2, 5, 4, 6, 10 dan terendah formula 12 dengan populasi hanya $2,53 \times 10^2$ CFU/pil-benih. Populasi tersebut menurun seiring dengan lamanya penyimpanan pada semua formula, bahkan pada formula 6, 8, 10 dan 12 pada minggu pertama penyimpanan populasinya sudah tidak terdeteksi. Pada formula nomor 1, 3, 5, 7, 9, dan 11 menunjukkan bahwa populasi Pf-20 masih bertahan sampai dua bulan, bahkan pada formula 7 dan 1 dapat bertahan sampai 3 bulan.

Dari ke-6 formula tersebut di atas yang dapat bertahan sampai 2 bulan adalah formula yang bahan pembawanya gambut+talk. Adapun yang membedakan adanya perbedaan tingginya populasi adalah selain pengaruh konsentrasi Pf-20 juga karena bahan aditif yang digunakan untuk penyalutan, semakin tinggi konsentrasi Pf-20 yang digunakan saat penyalutan akan menunjukkan tingginya populasi Pf-20 yang teramati pada pil-benih. Dengan menggunakan bahan aditif CMC ditambah arginin menunjukkan populasi Pf-20 lebih tinggi dibandingkan bahan aditif CMC pada konsentrasi Pf-20 yang sama saat penyalutan dengan bahan pembawa gambut+talk.

Apabila ditinjau dari komponen bahan pembawa, maka bahan pembawa yang baik untuk membuat pil-benih adalah gambut+talk. Hal tersebut terlihat bahwa dengan konsentrasi dan bahan aditif yang sama tetapi bila bahan pembawa yang digunakan gambut+talk maka populasi Pf-20 akan jauh lebih tinggi dibandingkan bahan pembawa kaolin+talk. Hal itu disebabkan karena gambut yang digunakan merupakan bahan koloid organik yang mengandung bahan organik yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme dibandingkan bahan koloid anorganik kaolin. Menurut Sunarminto (1980) kesuburan gambut Rawa Pening termasuk mesotropik yang memiliki kadar N-total 1,4%–2,3%, dan kadar P total 0,125%–2,3%. Perbandingan kandungan karbon dan nitrogen (nisbah C/N) tanah-tanah gambut relatif tinggi, umumnya dalam kisaran 20–45 (Radjagukguk, 1993; Vijarnsonn, 1996). Dengan keadaan bahan organik yang baik pada gambut tersebut, akan ikut berperan dalam mendukung kehidupan mikroorganisme.

Pengaruh bahan koloid organik gambut terhadap pertumbuhan mikroorganisme terlihat nyata pada hasil uji viabilitas Pf-20 dalam pil-benih. Populasi Pf-20 pada pil-benih dengan bahan pembawa gambut+talk selain lebih tinggi

Label I. Viabilitas *P. putida* strain Pf-20 dalam pil-benih

No.	Populasi <i>P. putida</i> strain Pf-20 dalam pil-benih (du/pil-benih)																
	Pedangri gajale																
For	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	4.20x10 ⁵ b	2.38x10 ⁵ b	5.40x10 ⁵ b	2.40x10 ⁵ b	2.33x10 ⁵ ab	1.62x10 ⁵ b	1.71x10 ⁵ ab	1.66x10 ⁵ ab	1.13x10 ⁵ b	1.19x10 ⁵ a	6.33x10 ⁵ a	6.08x10 ⁵ a	4.12x10 ⁵ a	1.99x10 ⁵	1.24x10 ⁵	5.73x10 ⁵	3.53x10 ⁵
2	6.53x10 ⁵ c	9.12x10 ⁵ c	2.42x10 ⁵ c	0e	0e												
3	4.03x10 ⁵ b	9.52x10 ⁵ b	6.34x10 ⁵ b	2.52x10 ⁵ b	3.27x10 ⁵ c	1.48x10 ⁵ d	5.47x10 ⁵ c	4.18x10 ⁵ cd	1.47x10 ⁵ c	6.13x10 ⁵ b	1.13x10 ⁵ c						
4	2.46x10 ⁵ cd	1.10x10 ⁵ d	0e														
5	3.12x10 ⁵ cd	1.48x10 ⁵ cd	2.60x10 ⁵ d	1.88x10 ⁵ d	1.65x10 ⁵ d	9.30x10 ⁵ e	8.20x10 ⁵ c	7.30x10 ⁵ d	1.80x10 ⁵ d	0e							
6	2.55x10 ⁵ d	0e															
7	7.00x10 ⁵ a	5.20x10 ⁵ a	4.86x10 ⁵ a	6.54x10 ⁵ a	5.67x10 ⁵ a	1.05x10 ⁵ a	3.60x10 ⁵ a	1.45x10 ⁵ a	5.93x10 ⁵ a	1.63x10 ⁵ a	3.07x10 ⁵ b	0.7x10 ⁵ b	0.8x10 ⁵ b				
8	1.63x10 ⁵ ab	0e															
9	2.72x10 ⁵ ab	1.04x10 ⁵ ab	2.78x10 ⁵ b	6.04x10 ⁵ b	8.60x10 ⁵ bc	4.13x10 ⁵ bc	3.35x10 ⁵ bc	6.23x10 ⁵ bc	5.30x10 ⁵ cd	1.53x10 ⁵ b	0.69x10 ⁵ c						
10	6.52x10 ⁵ fg	0e															
11	2.65x10 ⁵ a	9.65x10 ⁵ ab	1.00x10 ⁵ b	6.14x10 ⁵ c	3.93x10 ⁵ c	1.03x10 ⁵ cd	4.07x10 ⁵ c	2.13x10 ⁵ cd	2.67x10 ⁵ c	0e							
12	2.52x10 ⁵ g	0e															

Keterangan : Dalam kolom yang sama angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT 5%

Number followed by the same letter in each column are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test 5%

Keterangan

- F1 : OVC, Gantul+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC, peat+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F2 : OVC, Keadin+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC, keadin+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F3 : OVC, Gantul+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC, peat+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F4 : OVC, Keadin+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC, keadin+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F5 : OVC, Gantul+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC, peat+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F6 : OVC, Keadin+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC, keadin+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)

- F7:OVC-Agriin Gantul+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC-Agriin,peat+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F8:OVC-Agriin Keadin+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC-Agriin, keadin+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F9:OVC-Agriin Gantul+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC-Agriin, peat+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F10:OVC-Agriin Keadin+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC-Agriin, keadin+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F11:OVC-Agriin Gantul+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC-Agriin,peat+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)
- F12:OVC-Agriin Keadin+tak Pf-20 10⁸ du/ml (OVC-Agriin,keadin+tak, Pf-20 10⁸ du/ml)

juga bisa bertahan lebih lama dalam pil-benih daripada bahan pembawa kaolin+talk. Hasil tersebut di atas seperti hasil penelitian Vidyasekaran dan Muthamilan (1995) bahwa formula dengan bahan pembawa gambut menunjukkan hasil paling baik sampai 8 bulan penyimpanan, dibandingkan bahan pembawa lain termasuk kaolin untuk viabilitas bakteri Pf-20. Keadaan tersebut karena adanya bahan organik yang sangat tinggi pada gambut yang sangat mendukung pertumbuhan Pf-20. Bahan organik berupa partikel yang sangat tinggi pada gambut dan bahan organik mudah larut, misalnya karbohidrat, protein dan asam organik merupakan factor yang sangat mendukung kehidupan mikroorganisme. Senyawa tersebut merupakan sumber karbon dan sumber energi utama bagi aktivitas mikroorganisme dalam tanah (Stotzky, 1983).

Hasil uji viabilitas Pf-20 dalam pil-benih berkecambah menunjukkan bahwa populasi Pf-20 dalam pil-benih mengalami peningkatan pada setiap tahap pengamatan. Peningkatan populasi Pf-20 dari saat belum dikecambahkan yaitu waktu ke-0 sampai munculnya radikel (hari ke-5) menunjukkan peningkatan yang sangat tinggi yaitu mencapai peningkatan rata-rata dua tingkat atau dua orde. Adapun peningkatan populasi Pf-20 dari hari ke-5 yaitu saat muncul radikel sampai hari ke-12 atau satu minggu berikutnya, menunjukkan peningkatan yang lebih rendah meskipun masih ada yang tetap naik dua orde yaitu formula 7.

Perubahan atau peningkatan populasi Pf-20 pada setiap tahap pengamatan terjadi pada setiap formula. Populasi Pf-20 pada formula 7 baik pada saat awal sebelum berkecambah maupun pada hari ke-12 atau satu minggu setelah muncul radikel tetap menunjukkan populasi tertinggi kemudian diikuti formula nomor 9, 11, 1, 3, 5, 2, 4, 8, 6, 10 dan 12. Hal tersebut menunjukkan bahwa perkembangan populasi Pf-20 dalam pil-benih saat berkecambah pada setiap formula tidak dipengaruhi atau tidak dihambat oleh bahan-

bahan yang digunakan untuk membuat pil-benih. Adapun tingginya populasi Pf-20 setelah berkecambah tergantung atau ditentukan oleh populasi awal dari Pf-20 pada masing-masing formula.

Adanya peningkatan populasi Pf-20 pada saat awal sebelum radikel muncul, mungkin karena pada saat pil-benih dikecambahkan dibawah kondisi ada air terjadi imbibisi yang menyebabkan aktifnya enzim-enzim yang selanjutnya akan merombak cadangan makanan menjadi senyawa sederhana atau senyawa terlarut yang bisa digunakan oleh Pf-20. Menurut Hartman *et al* (1990), bahwa tahap-tahap perkecambahan meliputi imbibisi air yakni air terserap benih menyebabkan hidrasi protoplasma akibatnya benih membengkak dan kulit benih pecah. Setelah benih menyerap air mulai terjadi aktivitas enzim. Proses imbibisi atau masuknya air terjadi dalam waktu 24 jam pertama (Sadhu, 1989). Benih mengisap air dengan laju yang tinggi tetapi baru antara 24 dan 48 jam setelah imbibisi air terjadi perubahan komposisi kimia karena aktivitas metabolismenya yang tinggi (Prawiranata *et al.*, 1992). Sumber makanan dalam jaringan cadangan adalah nutrisi kompleks yang dihidrolisis oleh enzim dalam bentuk yang sederhana (Sadhu, 1989).

Populasi Pf-20 dari semua formula masih menunjukkan peningkatan yang tinggi meskipun tidak setinggi pada saat pengamatan pertama (sebelum radikel muncul). Hal tersebut mungkin karena meskipun persediaan bahan makan yang dirombak menjadi senyawa sederhana lebih banyak tetapi karena pada fase ini banyak pula nutrisi atau metabolit yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan kecambah, maka akibatnya lebih sedikit nutrisi yang bisa digunakan oleh Pf-20.

Menurut Prawiranata *et al.* (1992), perubahan dalam persediaan bahan makanan utama terjadi setelah keluarnya radikel. Setelah radikel muncul terjadi redistribusi metabolit yang cepat. Perubahan-perubahan ini ditandai

Tabel 2. Viabilitas Pf-20 dalam pil-benih yang berkecambah pada berbagai formula (CFU/pil benih)

Formula (formulas)	Populasi Pf-20 dalam pil-benih yang berkecambah pada hari ke- (Population of Pf-20 in the germinated seed, at....day)		
	0	5	12
F1	4,20 x 10 ⁵ b	2,93 x 10 ⁶ cd	2,03 x 10 ⁷ c
E2	6,56 x 10 ⁴ c	3,37 x 10 ⁶ d	8,13 x 10 ⁶ cd
F3	2,46 x 10 ⁵ b	1,51 x 10 ⁷ c	3,43 x 10 ⁷ c
F4	2,46 x 10 ⁴ cd	3,79 x 10 ⁶ c	1,47 x 10 ⁷ c
F5	3,12 x 10 ⁴ cd	1,60 x 10 ⁶ d	4,00 x 10 ⁶ de
F6	2,56 x 10 ³ ef	2,83 x 10 ⁴ e	3,00 x 10 ⁴ h
F7	7,00 x 10 ⁶ a	2,19 x 10 ⁸ ab	2,50 x 10 ¹⁰ a
F8	1,68 x 10 ⁴ de	2,93 x 10 ⁴ e	2,63 x 10 ⁵ ef
F9	2,72 x 10 ⁶ ab	2,20 x 10 ⁸ a	2,67 x 10 ⁹ b
F10	6,52 x 10 ² fg	3,40 x 10 ⁴ e	4,33 x 10 ⁴ fg
F11	2,66 x 10 ⁶ a	2,40 x 10 ⁷ bc	2,73 x 10 ⁷ c
F12	2,52 x 10 ² g	1,89 x 10 ⁴ e	4,67 x 10 ⁴ gh

Keterangan: Dalam kolom yang sama, angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan berbeda nyata menurut DMRT 5%

(Notes : Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test at the 5% level)

Keterangan (Notes):

- F1 : CMC, Gambut+talk, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml (CMC, peat+talc, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml)
 F2 : CMC, Kaolin+talk, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml (CMC kaolin+talc, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml)
 F3 : CMC, Gambut+talk, Pf-20 10⁹ CFU/ml (CMC, peat+talc, Pf-20 10⁹ CFU/ml)
 F4 : CMC, Kaolin+talk, Pf-20 10⁹ CFU/ml (CMC, kaolin+talc, Pf-20 10⁹ CFU/ml)
 F5 : CMC, Gambut+talk, Pf-20 10⁸ CFU/ml (CMC, peat+talc, Pf-20 10⁸ CFU/ml)
 F6 : CMC, Kaolin+talk, Pf-20 10⁸ CFU/ml (CMC, kaolin+talc, Pf-20 10⁸ CFU/ml)
 F7 : CMC+arginin, Gambut+talk, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml (CMC+arginin, peat+talc, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml)
 F8 : CMC+arginin, Kaolin+talk, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml (CMC+arginin, Kaolin+talc, Pf-20 10¹⁰ CFU/ml)
 F9 : CMC+arginin, Gambut+talk, Pf-20 10⁹ CFU/ml (CMC+arginin, peat+talc, Pf-20 10⁹ CFU/ml)
 F10 : CMC+arginin, Kaolin+talk, Pf-20 10⁹ CFU/ml (CMC+arginin, Kaolin+talc, Pf-20 10⁹ CFU/ml)
 F11 : CMC+arginin, Gambut+talk, Pf-20 10⁸ CFU/ml (CMC+arginin, peat+talc, Pf-20 10⁸ CFU/ml)
 F12 : CMC+arginin, Kaolin+talk, Pf-20 10⁸ CFU/ml (CMC+arginin, Kaolin+talc, Pf-20 10⁸ CFU/ml)

dengan dirombaknya bahan nutrisi, seperti pati, protein, dan lemak menjadi senyawa-senyawa terlarut seperti gula, asam lemak, asam amino, dan ion-ion anorganik fosfat, kalsium, magnesium dan kalium. Metabolit-metabolit tersebut diangkut ke embrio untuk mendukung tumbuh kecambah.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. *P. putida* strain Pf-20 dalam formula dengan teknik penyalutan benih mampu hidup dalam waktu paling lama 4 bulan. Formula nomor 7 dengan kombinasi bahan pembawa gambut+talk, bahan aditif CMC + arginin dengan konsentrasi Pf-20 10^{10} CFU/ml menunjukkan populasi Pf-20 tertinggi dan dapat bertahan hidup sampai 3 bulan.
2. Populasi Pf-20 pada semua formula meningkat pada saat pil-benih berkecambah. Formula nomor 7 menunjukkan populasi Pf-20 tertinggi pula pada saat pil- benih berkecambah.

DAFTAR PUSTAKA

Arwiyanto, T. 1995. Strategi pengendalian penyakit layu bakteri tembakau cerutu di Sumatera Utara secara terpadu. *Ekspose hasil penelitian Tembakau Deli IV, Medan*. 34 p.

Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau: I. Isolasi bakteri antagonis. *J. Perlind. Tan. Indon.* 3: 44-60.

Arwiyanto, T. & Hartana I. 1999. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau : 2. Percobaan di rumah kaca. *J. Perlind. Tan. Indon.* 5 : 50-59.

Boyetchko, S., Pedersen, E., Punja, Z., & Reddy, M. 1999. Formulation of Biopesticides. p. 487-508. In : Hall, F.R. and Menn, J.J. (eds.). *Biopesticides Use and Delivery*. Humana Press. New Jersey.

Callan, N. W., Mathre, D.E., & Miller, J.B. 1990. Bio-priming seed treatment for biological control of *Pythium ultimum* pre-emergence damping-off in Sh 2 Sweet Corn. *Plant Dis.* 74 : 368-372.

Fukui, R., Schroth, M.N., Hendson, M. & Hancock, J.G. 1994. Interaction between strain of *Pseudomonas* in sugar beet spermosphere and their relationship to pericarp colonization by *Pythium ultimum* in soil. *Phytopathology* 84 : 1330-1332.

Gamliel, A., & Katan, J. 1992. Influence of seed and root exudates on fluorescent pseudomonads and fungi in solarized soil. *Phytopathology* 82: 320-327.

Glass, D.J. 1993. Commercialization of Soil Microbial Technologies. p. 595-618. In : Metting Jr, F.B. (ed.). *Soil Microbial Ecology. Application in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, Inc. New York.

Hartman, H.T., Dale E. Kester, & Fred T. Davies. 1990. *Plant Propagation Principles and Practices* (5th ed.). Prentice-Hall. International.

Paulitz, T. 1992. Biological Control of Damping-off Diseases with Seed Treatments. p. 145-155. In : E.C. Tjamos, G.C. Papavizas, & R.J. Cook (ed.). *Biological Control of Plants Diseases*. Plenum Press. New York & London.

Prawiranatha, Harrun, S., & Tjondronegoro, P. 1992. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. IPB. Bogor.

Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., Van der Sluis, I., Schipper, B., & Bakker, P.A.H.M. 1995. Dose-response relationships in biological control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*. 85 : 1075-1081.

Radjagukguk, B. 1993. Peat resources of Indonesia: Its Extent, Characteristics and Development Possibilities. Paper presented at the 3th Seminar in Greening of Desert entitled Desert Greening with Peat held at Waseda University, Tokyo, March 17. 1993.

Sadhu, M.K. 1989. *Plant Propagation*. Wiley Eastern Limited. New Delhi. India.

- Schippers, B. 1992. Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborne pathogens. p.21-34. In : Tjamos, E.C., Papaviras, G.C. & Cook, R.L.(eds.). *Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future*. Plenum Press, New York & London.
- Stolp, H & Gadkari, D. 1981. Nonpathogenic Members of The Genus *Pseudomonas*. p. 723-729. In: Starr, M.P. (eds.). *The Prokaryotes A Handbook On Habitats, Isolation and Identification of Bacteria: Phytopathogenic Bacteria*. University of California, New York.
- Stotzky, G. 1983. Pengaruh Koloid Mineral Tanah Terhadap Proses Metabolisme, Pertumbuhan, Adhesi, dan Ekologi Mikroba dan Virus (terjemahan). p. 460-653. In: Huang P.M dan Schnitzen, M. (eds.). Goenadi, D.H. & Sudarsono (penerjemah). *Interaksi Mineral Tanah dengan Organik Alami dan Mikroba*. Gadjah Mada University Press.
- Sunarminto, B.H. 1980. Agihan Cacak Beberapa Sifat Gambut Rawa Pening. Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Vidhyasekaran, P., & Muthamilan, M. 1995. Development of formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant Dis.* 7 : 782-786.
- Vijarnsonn, Pisoot. 1996. Peatlands in Southeast Asia: a regional perspective. In: E. Maltby, C.P., Immirzi and R.J. Safford, (Eds.). *Tropical Lowland Peatlands of Southeast Asia*, IUCN, Gland, Switzerland, h. 75-92.
- Weller, D.M. 1983. Colonization of wheat roots by a fluoerescent pseudomonad suppressive to take-all. *Phytopathology* 73: 1548 – 1553.