

DINAMIKA POPULASI *PSEUDOMONAS SOLANACEARUM*
PADA RIZOSFER TANAMAN BUKAN INANG

(POPULATION DYNAMIC OF *PSEUDOMONAS SOLANACEARUM*
ON THE RHIZOSPHERE OF NON-HOST PLANTS)

Triwidodo Arwiyanto, Elizabeth Handini dan Toekidjo Martoredjo
Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum is a main limiting factor in the production of tobacco. The objective of this study is to investigate the survival of P. solanacearum in the rhizosphere of presumed nonhost plants. The results indicated that in the sugarcane rhizosphere, the pathogen population decreased along with the time course. The bacteria could not infect the root of sugarcane. On the other hand, the pathogen could infect the root of Mimosa invisa, although the population also decreased along with the time course.

Key words: Pseudomonas solanacearum, rhizosphere, tobacco

INTISARI

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Pseudomonas solanacearum* merupakan kendala utama dalam budidaya tembakau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelangsungan hidup *P. solanacearum* dan kemampuan infeksi bakteri tersebut pada akar tanaman. Isolat *P. solanacearum* strain 47 yang dibiakkan pada medium CPG digunakan sebagai inokulum. *P. solanacearum* pada rizosfer tebu hidup secara epifit, dan populasinya menurun sejalan dengan waktu, sedangkan pada *Mimosa invisa*, meskipun populasi bakteri tersebut menurun tetapi telah terjadi infeksi bakteri pada akarnya meski tidak menampakkan gejala penyakit.

Kata kunci : *Pseudomonas solanacearum*, rizosfer, tembakau

PENDAHULUAN

Tembakau cerutu yang diusahakan di Sumatera Utara merupakan tembakau pembungkus terbaik dunia. Salah satu kendala biologi dari budidaya tembakau tersebut adalah penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith. Rotasi dengan tebu dan *Mimosa invisa* (Mart. ex Colla) di beberapa kebun menyebabkan penurunan intensitas serangan. Penurunan intensitas serangan ini mungkin disebabkan ketidakcocokan antara patogen dengan tanaman rotasi. Ketidakcocokan ini dapat berupa adanya mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap *P. solanacearum* di

rizosfer, terutama rizosfer *M. invisa* (Arwiyanto, 1997).

Kelangsungan hidup bakteri merupakan suatu persoalan yang fundamental dalam pemahaman tentang biologi *P. solanacearum* untuk menyusun cara pengendalian yang rasional. Rotasi dengan tumbuhan yang diperkirakan bukan inang sering gagal karena tumbuhan tersebut berperan sebagai pembawa (*carrier*) atau menjadi tempat berkembang biak dan pemelihara inokulum dalam tanah (Sequeira, 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelangsungan hidup *P. solanacearum* pada rizosfer tebu dan *M.*

invisa. Kemampuan patogen dalam menimbulkan infeksi akar kedua tanaman tersebut juga diteliti. Sebagai pembandingan digunakan tanaman tembakau yang merupakan tanaman inang darimana patogen diisolasi (Arwiyanto dkk, 1995). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan populasi patogen pada kedua tanaman tersebut di atas.

BAHAN DAN METODE

Bakteri dan kondisi kultur. *P. solanacearum* strain 47 dibiakkan pada medium Casein Peptone Glucosa (CPG) cair selama 48 jam pada suhu kamar kemudian dipisahkan dari mediumnya dengan sentrifugasi pada 6000 g selama 30 menit. Biomasa yang diperoleh disuspensikan ke dalam air steril hingga mencapai kerapatan 10^7 cfu/ml. Setiap satu liter suspensi bakteri dicampur dengan 60 kg tanah.

Tanaman. Bibit tembakau var. Deli-4 umur 40 hari ditanam pada tanah yang sudah terinfestasi patogen. Biji Mimosa direndam dalam air panas (80°C) selama 4 jam kemudian ditanam pada tanah terinfestasi. Bibit tebu varietas lokal dengan dua tunas ditanam pada tanah terinfestasi patogen.

Penghitungan populasi *P. solanacearum*. Sampel tanah rizosfer diambil sebanyak 20 g untuk tiap-tiap tanaman. Penentuan berat kering tanah rizosfer dilakukan dengan mengeringkan 10 g tanah sampel dalam oven pengering pada suhu 100°C selama 2 hari. Sisa sampel tanah sebanyak 10 g dimasukkan dalam labu erlenmeyer berisi 90 ml 0,1 M bufer fosfat pH 7,0 + 0,1 % pepton. Sampel digojog selama 30 menit kemudian didiamkan selama 5 menit. Supernatan diencerkan per sepuluh kali dengan air steril. Dari pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} diambil 50 mikroliter dan dituangkan pada permukaan medium selektif. Setelah inkubasi selama 4-5 hari pada suhu kamar, koloni yang tumbuh dihitung.

Penghitungan populasi pseudomonad fluoresen. Metode pengambilan sampel dan penghitungan populasi sama seperti di atas hanya suspensi pengenceran dituangkan pada permukaan medium King's B (Lelliot dan Stead, 1987) yang ditambah 100 ppm sikloheksimid untuk mencegah pertumbuhan jamur. Biakan diinkubasikan pada suhu kamar dan setiap hari sampai hari ke lima koloni bakteri yang tumbuh dihitung secara kumulatif.

Penghitungan populasi bakteri total. Bakteri total yang dimaksud di sini adalah semua bakteri yang tumbuh di rizosfer tanaman yang mungkin diisolasi dengan metode yang digunakan. Dari pengenceran yang diperoleh pada metode di atas, 50 l suspensi dituangkan pada 1/10 medium *Nutrient Agar* yang ditambah 100 ppm sikloheksimid untuk mencegah pertumbuhan jamur. Biakan diinkubasikan pada suhu kamar dan setiap hari sampai hari ke lima koloni bakteri yang tumbuh dihitung secara kumulatif.

Penghitungan populasi bakteri per g berat kering tanah dihitung dengan menggunakan rumus (Anon., 1992):

$$N = m \times \frac{\text{berat basah tanah}}{\text{berat kering tanah}}$$

$$m = a \times U$$

Keterangan: N = cfu / g kering tanah
m = cfu / g basah tanah
a = jumlah koloni
U = tingkat pengenceran

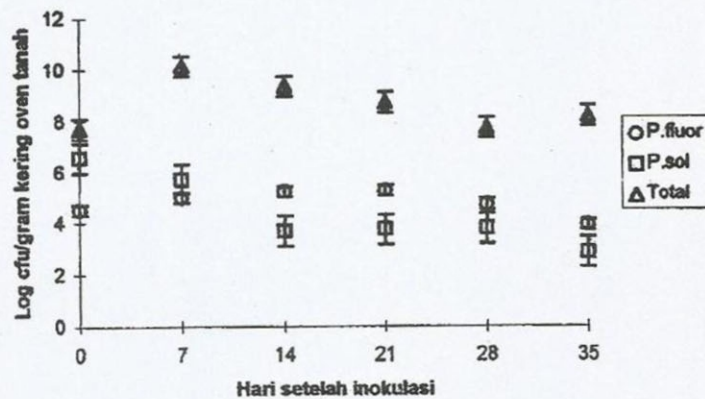
Deteksi infeksi *P. solanacearum* pada akar tanaman. Sampel akar diambil secara acak pada bagian akar tunggang dan akar serabut tanaman. Akar tersebut dicuci dengan air mengalir, selanjutnya didisinfeksi dengan alkohol 70% selama 30 detik. Setelah dibilas dengan air steril dipotong setiap 1 cm. Setiap potongan akar dimasukkan dalam tabung reaksi kecil yang berisi 1 ml air steril dan dilumatkan. Dari

suspensi tersebut diambil 1 ose larutan kemudian digoreskan pada medium CPG + 50 ppm 2,3,5-triphenyl-tetrazolium-chloride (TTC). Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu kamar. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya koloni *P. solanacearum* yang tumbuh pada medium tersebut. Jika terdapat koloni yang diduga sebagai *P. solanacearum* maka dilakukan uji Gram dan uji hipersensitif pada tanaman tembakau var. White Burley.

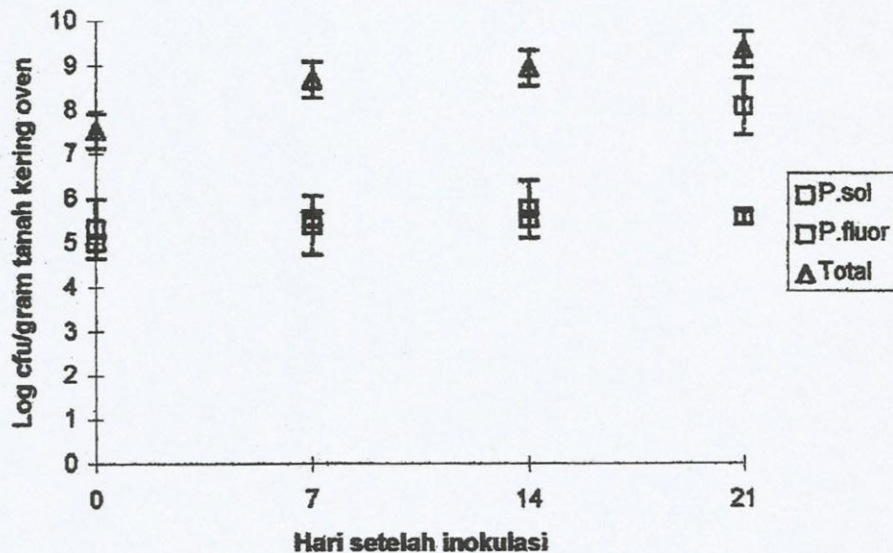
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada rizosfer Mimosa, 7 hari setelah inokulasi, belum terlihat adanya penurunan populasi *P. solanacearum*. Penurunan populasi yang nyata baru terlihat pada 14 hari setelah inokulasi, populasi bakteri turun sebanyak 1000 kali dari 4×10^6 sampai 5×10^3 cfu/g kering tanah. Populasi ini terus terpelihara sampai dengan 28 hari setelah inokulasi kemudian menurun sampai $7,1 \times 10^2$ cfu/g kering tanah (Gambar 1). Berbeda dengan lingkungan asalnya, pada rizosfer tembakau, *P. solanacearum* berkembang biak secara eksponensial (Gambar 2). Penurunan populasi *P. solanacearum* pada rizosfer Mimosa disebabkan oleh adanya

antagonisme antara mikroorganisme rizosfer dengan *P. solanacearum*. Pada kondisi alaminya, pada rizosfer Mimosa ditemukan banyak bakteri yang bersifat antagonis terhadap *P. solanacearum* (Arwiyanto, 1997). Meskipun demikian, populasi pseudomonad fluoresen (salah satu bakteri antagonis) pada kondisi percobaan ini dengan tanah yang semula steril dan hanya diinokulasi dengan patogen saja, populasinya menunjukkan jumlah yang relatif sedikit. Hal ini tidak menepis terjadinya antagonisme sebab mekanisme yang terjadi dapat berupa antibiosis seperti yang pernah dilaporkan sebelumnya (Arwiyanto, 1997; Diany dan Arwiyanto, 1996). Penekanan mikroorganisme lain dengan mekanisme antibiosis tidak selalu memerlukan populasi yang tinggi (Cook dan Baker, 1983; Campbell, 1983). Di samping itu bakteri lain di rizosfer Mimosa yang populasinya sangat tinggi (Gambar 1), sangat mungkin ikut berperan dalam menekan perkembangan *P. solanacearum*. Seperti pernah dilaporkan sebelumnya, di rizosfer Mimosa juga diketemukan *Bacillus* spp. dalam jumlah yang tinggi yang bersifat antagonis terhadap *P. solanacearum* (Risamena dan Arwiyanto, 1996; Arwiyanto, 1997).



Gambar 1. Dinamika populasi bakteri pada rizosfer *Mimosa invisa*

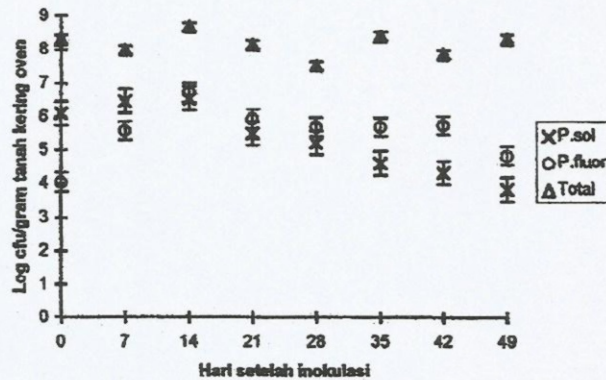


Gambar 2. Dinamika populasi bakteri pada rizosfer tembakau.

Infeksi yang teramati pada akar Mimosa 7 dan 14 hari setelah tanam menunjukkan bahwa patogen mampu mengatasi tekanan dari luar sebab populasinya menunjukkan penurunan yang besar. Dengan menginfeksi akar Mimosa maka patogen akan berada pada tempat yang terlindung dari gangguan mikroorganisme kompetitor dalam tanah terutama mikroorganisme antagonis. Fenomena seperti ini sudah banyak diamati oleh para ahli pada patogen tumbuhan yang lain sebagai salah satu cara patogen mempertahankan diri dari lingkungan yang tidak menguntungkan yang disebut sebagai pertahanan diri dengan infeksi laten (*survival by latent infection*) seperti halnya *Xanthomonas campestris* pv. *citri* pada jeruk (Goto, 1969), *Xyllella fastidiosa* serta *Agrobacterium tumefaciens* (Goto, 1992). Meskipun demikian nampak bahwa *M. invisa* bukan merupakan tempat yang baik bagi patogen karena tanaman tidak menunjukkan gejala layu dan pada pengamatan berikutnya tidak ditemukan lagi infeksi pada akar. Penurunan populasi seperti ini terjadi pula pada rizosfer

tanaman lain yang diduga bukan sebagai inang *P. solanacearum* (Granada dan Sequeira, 1983). Dengan demikian apakah *M. invisa* dapat dikategorikan sebagai inang alternatif yang baru bagi patogen ini, masih memerlukan penelitian lebih lanjut. Ada kemungkinan bahwa bakteri tidak menginfeksi tetapi hidup secara epifit pada permukaan akar Mimosa.

Pada rizosfer tebu, *P. solanacearum* mengalami penurunan populasi secara bertahap. Penurunan sebesar 1000 kali populasi awalnya baru terjadi 49 hari setelah inokulasi. Di samping itu tidak dijumpai adanya infeksi patogen pada akar tebu. Hal ini menunjukkan bahwa rizosfer tebu bukan merupakan tempat yang baik bagi patogen. Patogen terpaksa bertahan secara saprofitik dan bersaing dengan mikroorganisme lain di dalam tanah maupun di rizosfer dengan populasi mikroorganisme antagonis dan bakteri lain yang tinggi (Gambar 3). Cara bertahan saprofitik seperti ini merupakan kelemahan patogen biotrof sehingga mudah dikalahkan oleh mikroorganisme saprotrof (Goto, 1992).



Gambar 3. Dinamika populasi bakteri pada rizosfer tebu

Pada kondisi alami, tebu ditanam selama 3 tahun sehingga besar kemungkinan populasi bakteri menurun tajam sampai pada aras yang tidak dapat dideteksi lagi dengan metode konvensional seperti yang dilakukan dalam penelitian ini. Munculnya penyakit layu pada lahan tembakau setelah rotasi dengan tebu dan Mimosa menimbulkan dugaan bahwa populasi awal bakteri patogen sangat tinggi sehingga meskipun mengalami penurunan tajam, populasinya masih dalam batas kemampuan untuk mencapai populasi tertentu yang dapat menyerang tanaman. Kemungkinan terbawanya penyakit atau patogen pada bibit sangat kecil karena munculnya penyakit di lapangan sporadis dan penyebarannya tidak menunjukkan pola khas sebagaimana penyakit terbawa bibit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1992. *Experimental Methods of Soil Microbiology*. Showkendo. Tokyo. 411p.
- Arwiyanto, T., 1997. Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Tembakau: 1. Isolasi Bakteri Antagonis. *Indon. J. Plant Prot.* 3: 54-60.
- Arwiyanto, T., Sudarmadi dan I. Hartana. 1995. *Karakteristik Pseudomonas solanacearum isolat Medan*. Makalah Kongres XII dan Seminar Ilmiah PFI. Mataram, 1995. 5p.
- Campbell, R.C. 1983. *Microbial Control of Plant Pathogens*. Cambridge. London. 152p.
- Cook, R.J. and K. Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Disease*. Acad. Press. 539 p.
- Diany, V. dan T. Arwiyanto., 1996. *Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri pada Tembakau dengan Fluoresen Pseudomonad: Isolasi Bakteri Antagonis*. Seminar Regional PFI Komda DIY dan Jawa Tengah. Salatiga, Nop. 1996. 7p.
- Goto, M. 1969. Studies on Citrus Canker in Japan. *Proc. First Intl. Citrus Symposium*. 1251-1252.
- Goto, M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Acad. Press. Tokyo. 342p.
- Granada, G.A. and L. Sequeira, 1983. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in Soil, Rhizosphere, and Plant Roots. *Can. J. Microbiol.* 29:433-440.
- Risamena, J.J. dan T. Arwiyanto., 1996. *Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri pada Tembakau dengan Bacillus spp.: Isolasi Bakteri Antagonis*. Seminar Regional PFI Komda DIY dan Jawa Tengah. Salatiga, Nop. 1996. 7p.
- Sequeira, L., 1993. Bacterial Wilt: Past, Present, and Future. dalam G.L. Hartman and A.C. Hayward. (eds.) *Bacterial Wilt*. Aciar Proceedings. No. 45: 12-2.