

TANGGAP FISILOGIS TANAMAN PISANG
YANG DIINTRODUKSI DENGAN FORMULA
PSEUDOMONAD FLUORESEN TERHADAP
BLOOD DISEASE BACTERIA (BDB)

Oleh:

LINDA ADVINDA
01301007



PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2009

ABSTRAK

Linda Advinda, 2009. Tanggapan Fisiologis Tanaman Pisang yang Diintroduksi dengan Formula *Pseudomonas* Fluoresen Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB), dengan promotor Prof. Dr. sc. agr. Ir. Trimurti Habazar, Prof. Dr. Ir. Auzar Syarif, MS, Prof. Dr. Mansyurdin, MS dan Dr. Deddi Prima Putra, Apt.

Penyakit layu bakteri pada tanaman pisang yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacteria* (BDB) adalah penyakit yang amat penting di belahan bumi ini, karena sulit dikendalikan. Salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri pada tanaman pisang yang ramah lingkungan adalah memanfaatkan agens hayati *Pseudomonas* fluoresen (Pf). Tujuan dari penelitian adalah untuk: 1. mendapatkan isolat Pf yang mampu menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB, dan mengkarakterisasi aktivitas enzim pertahanan bibit pisang setelah diintroduksi dengan Pf, 2. mendapatkan bahan pembawa Pf yang dapat disimpan lama dan mempunyai kemampuan yang stabil dalam menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB, 3. mengetahui kestabilan kemampuan isolat Pf dalam menginduksi ketahanan bibit pisang di rumah kaca dan lapangan. Penelitian terdiri dari tiga tahap: I. Seleksi kemampuan isolat Pf dalam menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB dan karakterisasi aktivitas enzim pertahanan bibit pisang setelah diintroduksi dengan Pf. II. Formulasi Pf dengan berbagai bahan pembawa dan pengujian kestabilannya secara *in planta*. III. Respon tanaman pisang yang diintroduksi dengan Pf terhadap penyakit BDB di daerah endemik.

Pengujian kemampuan isolat Pf dalam menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 19 perlakuan dan 3 ulangan. Isolat Pf yang digunakan adalah Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, Pb₂, Pb₃, Pm₁ (berasal dari rizosfir pisang), Kp₁, Bd₁, Cb₅, Bio Pf, Kd₇, Tm₂, Pf₅, Sw₂, Bd₃, Pe₂ (dari berbagai rizosfir tanaman), dan dibandingkan dengan kontrol Pf- (tanpa Pf) serta Pf-BDB- (tanpa Pf, tanpa BDB). Bibit pisang yang digunakan adalah kultivar Barangan. Parameter yang diamati adalah masa inkubasi penyakit BDB, intensitas penyakit, lama kematian, dan pertumbuhan bibit. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut DNMR pada taraf nyata 5%. Pelacakan aktivitas enzim pertahanan bibit pisang kultivar Barangan dilakukan secara deskriptif. Isolat Pf yang digunakan adalah Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁ (hasil terbaik pada Tahap 1) dan dibandingkan dengan kontrol (K). Parameter yang diamati adalah aktivitas Fenilalanin Amonia Liase (FAL), Peroksidase (PO), dan Polifenol Oksidase (PFO).

Rancangan yang digunakan untuk mendapatkan bahan pembawa Pf yang dapat disimpan lama dan mempunyai kemampuan yang stabil dalam menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB adalah Faktorial dalam Acak Lengkap dengan 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor A adalah lama penyimpanan formula Pf (0, 2, 4, 6, dan 8 minggu) dan faktor B adalah formulasi Pf dengan berbagai jenis bahan pembawa (agar, Na-alginate, molase, tepung tapioka, dan air kelapa). Peubah yang diamati adalah viabilitas Pf. Pengujian kestabilan formula Pf dalam menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah formula tapioka dengan berbagai kepadatan populasi bakteri (0, $2,2 \times 10^2$, $7,7 \times 10^3$, dan $9,1 \times 10^5$ cfu/ml). Peubah yang

diamati adalah masa inkubasi, intensitas penyakit, lama hidup bibit pisang, kolonisasi Pf pada perakaran dan pertumbuhan bibit. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan DNMRT pada taraf nyata 5 %.

Pengujian kestabilan kemampuan isolat Pf dalam menginduksi ketahanan bibit pisang di rumah kaca dan lapangan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 8 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah bibit pisang yang diintroduksi dengan isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, Pb₂, Pb₃, Pm₁, dan kontrol. Bibit tersebut ditanam di daerah endemik penyakit BDB. Peubah yang diamati adalah: perkembangan penyakit BDB (masa inkubasi, intensitas serangan, lama tanaman mati) dan pertumbuhan tanaman (tinggi tanaman, diameter batang, dan hasil pisang).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat yang berasal dari rizosfir pisang (Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, Pb₂, Pb₃, Pm₁) mampu menekan serangan BDB pada bibit pisang Barangan. Isolat Pf yang berasal dari rizosfir pisang jantan (Pj₂ dan Pj₃) terbaik meningkatkan pertumbuhan bibit pisang Barangan, diikuti isolat dari pisang Kepok (Pb₁ dan Pb₃), dan pisang manis (Pm₁). Isolat Pf yang berasal dari rizosfir pisang jantan lebih baik meningkatkan ketahanan bibit pisang Barangan terhadap BDB melalui enzim FAL dan PO. Isolat Pf yang diformulasi dengan bahan pembawa tepung tapioka menunjukkan viabilitas yang tinggi dan dapat disimpan lama hingga 8 minggu. Sedangkan introduksi bibit pisang dengan Pf formula tapioka belum mampu menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB. Penanaman bibit yang diintroduksi dengan Pf di daerah endemik BDB memperlihatkan bahwa isolat Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, Pb₂, Pb₃, dan Pm₁ yang mampu meningkatkan pertumbuhan di rumah kawat, juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman di daerah endemik BDB.

BAB I

PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Pisang (*Musa sp*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara yang kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Hingga saat ini hampir setiap orang gemar mengonsumsi pisang karena rasanya lezat, gizinya tinggi, dan harganya relatif murah. Pisang dapat dimakan dalam bentuk segar dan dapat diolah dalam berbagai bentuk produk seperti pisang sale, keripik, tepung pisang dan lain-lain. Produksi pisang tahun 2000 adalah 3.584.694 ton dan menempati urutan pertama diantara produksi buah-buahan di Indonesia (Daryanto, 2002).

Total produksi pisang di Indonesia tahun 2002 mencapai 4.384.384 ton. Sedangkan 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). Namun 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 tersebut karena adanya serangan hama dan penyakit, antara lain penyakit darah yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacteria* (BDB) dan layu *Fusarium*. Berdasarkan tingkat kerugian dan luasnya serangan, penyakit layu bakteri ditempatkan pada urutan ke enam dari 68 organisme pengganggu tanaman (OPT) yang ada di Indonesia (Geddes, 1992, *cit* Supriadi, 2000).

Inang utama dari BDB adalah semua jenis pisang (*Musa*), terutama pisang olahan (ABB). Semua bagian dari tanaman pisang dapat diserangnya, seperti daun, akar, batang, bunga dan buah. Sampai saat ini belum ada satu jenis pisangpun yang tahan terhadap BDB (Mackie *et al.*, 2007). Penyakit ini dilaporkan mulai berkembang di Propinsi Sumatera Barat tahun 1996. Dari hasil pemantauan di lapangan sepanjang tahun 2002, diketahui penyakit BDB sedikitnya menyerang satu juta rumpun pisang (Djoni, 2003). Nurhadi *et al.*, (1994) mengemukakan bahwa kehilangan hasil akibat penyakit BDB 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.

Patogen ini sulit dikendalikan karena bersifat tular tanah, dan dapat disebarkan oleh serangga pengunjung bunga. Disamping itu BDB menyerang tanaman pisang 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 belum ditemukan metoda yang efektif untuk pengendalian penyakit BDB pada tanaman pisang. 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.*, diakses April 2004); dan 4) Rekayasa genetik (Brimecombe *et al.*, 2001; Migheli, 2001). Metoda lain dalam usaha pengendalian penyakit BDB ini dapat berupa: 1) Mencegah penularan penyakit dengan cara pembungkusan buah sehingga terlindungi dari serangga pengunjung bunga jantan, dan sterilisasi alat-alat pertanian yang akan digunakan dengan larutan desinfektan (Sahlan *et al.*, 1996); 2) Pembenaman tanaman yang sakit ke dalam lubang (Sunarjono, 2002); 3) Penggunaan bibit pisang yang sehat dan bebas penyakit seperti bibit hasil kultur jaringan (Balai Penelitian Tanaman Buah, 1996); dan 4) Penggunaan agens hayati (Rivai dan Habazar, 2002).

Sebagai salah satu alternatif untuk pengendalian BDB 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. 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 agen penginduksi dapat mengimunisasi tanaman terhadap berbagai jenis patogen. Sumardiyono *et al.*, (2000) melaporkan bahwa *Pseudomonad fluoresen* (Pf) dari daerah perakaran *Mimosa invisa* secara *in planta* mampu menginduksi ketahanan tanaman pisang terhadap penyakit BDB dan layu Fusarium oleh *Fusarium oxysporum* f.sp *cubence*. Yusriadi *et al.*, (1997) melaporkan bahwa aplikasi Pf BSK 8 dan CMK12 pada kacang tanah di rumah

bentuk senyawa fenol (asam salisilat dan asam vanilat) pada tanaman pisang yang diinduksi ketahanannya dengan menggunakan *P. fluorescens* dan *P. cepacia*. Chen *et al.*, (1999) mengemukakan bahwa *P. aureofaciens* 63-28 menghasilkan asam salisilat yang dapat menginduksi ketahanan sistemik pada tanaman ketimun terhadap *Pythium aphanidermatum*.

Aplikasi *Pseudomonas* spp sebagai agens hayati dapat menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik, sebagai akibat perubahan biokimia dan perubahan ultrastruktur dari tanaman (Paulitz *et al.*, diakses April 2004). 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 (Paulitz *et al.*, 2000 *cit* Paulitz *et al.*, diakses April 2004). Hal ini terjadi karena induksi aktivitas enzim kitinase dari tanaman oleh bakteri (Paulitz *et al.*, diakses April 2004).

Ketahanan tanaman terhadap suatu patogen dikendalikan oleh satu atau beberapa enzim. Perubahan dalam aktivitas enzim dapat mempengaruhi tingkat ketahanan tanaman. *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.*, diakses April 2004). 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). Hasil penelitian Erlinda (2005) dilaporkan bahwa aktivitas enzim FAL pada tanaman pisang kultivar manis dan Cavendish yang diinokulasi dengan BDB meningkat pada hari pertama, namun terjadi penurunan aktivitas pada hari ke tiga.

Enzim peroksidase berperan penting dalam pembentukan lignin, dan aktivitasnya mempengaruhi ketahanan tanaman terhadap penyakit (Ward, 1986). Saikia *et al.*, (2006) menambahkan enzim peroksidase berperan dalam oksidasi fenol, oksidasi IAA dan pengaturan pemanjangan sel tanaman. Menurut Butt (1980) kerusakan sel-sel oleh serangan patogen dapat mengaktifkan enzim polifenoloksidase. Agrios (2005) menambahkan enzim ini sangat tinggi pada saat jaringan tanaman yang tahan terinfeksi patogen daripada tanaman yang rentan. Informasi tentang kemampuan Pf menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB dan karakterisasi aktivitas enzim pertahanan masih terbatas. Sehingga pada Bab III dilakukan seleksi kemampuan isolat Pf menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB dan karakterisasi aktivitas enzim pertahanan.

Pemanfaatan Pf sebagai agens hayati umumnya dalam bentuk suspensi. Perbanyakan massal dari Pf hingga saat ini masih menggunakan media agar padat dalam cawan petri yang telah diformula sedemikian rupa oleh pabrik tertentu sehingga harganya cukup mahal. Aplikasi Pf ke lapangan membutuhkan suspensi yang banyak, sehingga harus menunggu diperbanyak terlebih dahulu di laboratorium. Pf yang masih berada dalam cawan petri tidak mempunyai masa simpan yang panjang. Agar mudah diaplikasi dan disimpan, Pf harus diformula dalam bahan pembawa tertentu. Nakkeeran (2005) mengemukakan bahwa

formulasi Pf dapat menggunakan bahan pembawa yang bersifat organik dan anorganik, dalam bentuk cair ataupun padat. Aplikasi formula agens hayati dapat dilakukan dengan cara menaburkan pada benih, pencelupan bibit, aplikasi pada tanah, penyemprotan daun dan buah. Formulasi agens hayati yang dihasilkan harus dapat meningkatkan umur simpan, tidak bersifat fitotoksik bagi tanaman, dapat larut dalam air dan membebaskan bakteri, toleran terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, hemat biaya dan efektif untuk pengendalian penyakit tanaman.

Berdasarkan hal di atas perlu dilakukan pengembangan formula Pf dengan mempertimbangkan beberapa aspek, antara lain: ketersediaan bahan pembawa yang banyak, mudah didapat, ekonomis, bersifat organik maupun anorganik. Formula Pf yang dihasilkan sangat membantu petani karena mudah diaplikasikan di lapangan dan dapat disimpan pada suhu ruang. Berdasarkan permasalahan di atas dilakukan formulasi Pf menggunakan bahan pembawa agar-agar, tepung tapioka, Na-alginate, molase dan air kelapa. Penelitian tentang bahan pembawa Pf dengan viabilitas tinggi, dan uji kestabilannya dalam menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap BDB dilaporkan pada Bab IV.

Keberhasilan Pf dalam mengendalikan penyakit tanaman masih terbatas pada skala laboratorium dan rumah kaca, sedangkan laporan mengenai keberhasilannya di lapangan masih terbatas. Pada Bab V dilaporkan tentang respon tanaman pisang kultivar Barangan yang diintroduksi dengan isolat Pf dari rizosfir pisang terhadap penyakit BDB di daerah endemik.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Isolat Pf yang berasal dari rizosfir pisang (Pj₁, Pj₂, Pj₃, Pb₁, Pb₂, Pb₃, dan Pm₁) efektif menginduksi ketahanan bibit pisang kultivar Barangan dan dapat menghambat perkembangan BDB 100 %, disamping itu isolat tersebut juga mampu meningkatkan pertumbuhan bibit pisang kultivar Barangan.
2. Aktivitas enzim fenilalanina amonia liase dan peroksidase tertinggi adalah pada bibit pisang kultivar Barangan yang diintroduksi dengan isolat Pf yang berasal dari rizosfir pisang Jantan.
3. Bahan pembawa terbaik untuk formulasi Pf adalah tepung tapioka dengan viabilitas bakteri tertinggi dan dapat disimpan lama hingga 8 minggu, tetapi introduksi formula Pf ini pada bibit pisang belum mampu menginduksi ketahanan bibit pisang kultivar Barangan terhadap BDB.
4. Semua tanaman pisang kultivar Barangan (termasuk kontrol) yang dipindahkan ke daerah endemik, tidak terserang BDB. Semua isolat yang berasal dari rizosfir pisang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang di daerah endemik BDB.

7.2 Saran

Penelitian lanjutan perlu dilakukan mengenai potensi Pf formula agar dan alginat dalam menginduksi ketahanan tanaman pisang terhadap BDB, dan mendeteksi respon fisiologis lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. Amsterdam
- Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat. 2002. Badan Pusat Statistik Propinsi Sumatera Barat. Sumatera Barat dalam Angka.
- Badan Pusat Statistik. 2002. Badan Pusat Statistik. Produksi Tanaman Sayuran dan Buah-buahan. Jakarta.
- Baharuddin. 1994. Pathological, Biochemical and Serological Characterization of the Blood Disease Bacterium Affecting Banana and Plantain (*Musa* spp.) in Indonesia. Cuvillier Verlag. Göttingen. Germany.
- Blanco, J.M., Jurado, D.R., Hervás, A., and Díaz, R.M.J. 2004. Suppression of *Verticillium* wilt in Olive Planting Sticks by Root-Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. Biological Control. www.elsevier.com
- Brimecombe, M.J., De Leij, F.A.A.M., and 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.
- Buddenhagen, I. 2007. How to Control BDB. Disampaikan pada Workshop Pengendalian Penyakit Darah Pada Pisang. Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Sulawesi Tengah. 26 Februari 2007.
- 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., Bélanger, R.R., Benhamou, N., and Paulitz, T.C. 1999. Role of Salicylic Acid in Systemic Resistance Induced by *Pseudomonas* spp. Against *Pythium aphanidermatum* in Cucumber Roots. European Journal of Plant Pathology 10:477-486.
- Cook, R.J., and 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.
- Direktorat Tanaman Buah Direktorat Jenderal Bina Produksi Hortikultura (diakses Januari 2009). Deskripsi Varietas Barangan. Jakarta.
- Djoni. 2003. Ditemukan, Penangkal Penyakit Layu Pohon Pisang. Kompas. 16 Januari 2003.
- Erlinda, R. 2005. Respon Pertahanan Tanaman Pisang Terhadap Penyakit Layu Bakteri oleh *Ralsotonia solanacearum* ras 2. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Andalas. Padang.
- Fegan, M. 2005. Bacterial Wilt Diseases of Banana: Evolution and Ecology. p: 379-386. In Allen, C., Prior, P., Hayward, A.C. Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. APS Press. St. Paul, Minnesota U.S.A.
- Goto, M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press, Inc. Sydney, Tokyo, Toronto.