

Sinergisme *Lumbricus rubellus* dengan *Pseudomonas putida* Pf-20 dalam Menginduksi Ketahanan Mentimun terhadap *Cucumber Mosaic Virus*

Synergism of Lumbricus rubellus and Pseudomonas putida Pf-20 in Inducing Resistance to Cucumber Mosaic Virus

WIWIEK SRI WAHYUNI^{*}, HARDIAN SUSILO ADDY¹, BUDI ARMAN¹, TRI CANDRA SETYOWATI²

¹Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, ²Jurusan Tanah, Faperta, Universitas Jember
Jalan Kalimantan III/23, Jember 68121

Diterima 25 Februari 2005/Disetujui 12 Juni 2006

Both *Lumbricus rubellus* and *Pseudomonas putida* decompose soil organic matters. The population of *P. putida* Pf-20 increased if *L. rubellus* was introduced to the cucumber growth medium. The process of organic decomposition was much better if the medium was introduced with both *L. rubellus* and *P. putida* Pf-20, compared to the medium contained only either one of those organisms. The activity of *L. rubellus* may serve to provide nutrients for both the cucumber and *P. putida*. The role of *P. putida* to reduce disease severity was increased if *L. rubellus* was introduced to the growth medium. The synergism of these two organisms, reduced either the level of disease severity to CMV-48 and C/N ratio of medium, but increased the content of available phosphor and potassium.

Key words: *Lumbricus rubellus*, *Pseudomonas putida* Pf-20, disease severity of CMV

PENDAHULUAN

Penggunaan bakteri golongan pseudomonad pendar-fluor yang termasuk *Plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR), misalnya *Pseudomonas cepacia*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, dan *P. aureofaciens* terus dikembangkan sebagai agens hayati pengendali penyakit tumbuhan yang aman bagi lingkungan (Chancey *et al.* 2002; Haas & Defago 2005). Pada media tumbuh dengan kandungan Fe²⁺ rendah, bakteri pendar-fluor dapat membentuk antara lain siderofor berupa asam salisilat, pioverdin atau piokelin, yang berperan sebagai sinyal transduksi *induced systemic resistance* [ISR] (De Meyer & Hofte 1997; Press *et al.* 2001). Senyawa ini meningkatkan aktivitas gen-gen *pathogenesis related* (PR)-protein penghasil enzim peroksidase, β -1,3-glukanase, atau β -D-glukuronidase dalam tumbuhan (Leeman *et al.* 1996; Park & Kloepper 2002). Ketika tumbuhan berinteraksi dengan patogen, aktivitas enzim tersebut terus meningkat. Zhang *et al.* (1998) membuktikan aktivitas enzim β -1,3-glukanase meningkat dari 1.95 menjadi 3.70%, dan β -D-glukorodinase dari 32.5 menjadi 53.1%. Maurhofer *et al.* (1998) menemukan siderofor dari *P. fluorescens* galur P3 yang mengekspresikan gen pengendali biosintesis asam salisilat. Siderofor ini dapat memperbaiki mekanisme induksi ketahanan sistemik tembakau dan tomat terhadap *tobacco necrosis virus* (TNV). Wahyuni *et al.* (2003) membuktikan *P. putida* Pf-20

mampu menginduksi ketahanan tembakau terhadap *cucumber mosaic virus* (CMV).

Lumbricus rubellus hidup pada habitat yang mengandung banyak bahan organik dan memiliki peran yang penting antara lain (i) dekomposisi bahan organik, (ii) translokasikan hasil dekomposisi bahan organik yang mengandung mikroba ke lapisan tanah atas, serta (iii) berpotensi menyebarkan dan meningkatkan sejumlah bakteri dan mikroba lain di dalam tanah (Gange 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (i) pengaruh introduksi *L. rubellus* pada aktivitas *P. putida* Pf-20 untuk menginduksi ketahanan mentimun terhadap CMV; (ii) komposisi media tumbuh yang paling sesuai untuk pertumbuhan mentimun, *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20; (iii) dinamika populasi *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 dalam media tumbuh setelah perlakuan; dan (iv) perubahan sifat kimia tanah media tumbuh mentimun pada sebelum dan sesudah diintroduksi dengan *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20.

BAHENDAN METODE

Media Tumbuh dan Introduksi *L. rubellus*. Percobaan dilakukan di rumah kaca bebas serangga dengan rancangan acak kelompok (RAK), terdiri atas lima macam media tumbuh dengan atau tanpa introduksi *L. rubellus* (C) dan *P. putida* Pf-20 (B). Media V adalah campuran tanah sawah dan humus (1:2). Media W adalah tanah sawah yang dicampur dengan pupuk kandang (1:1). Media X adalah campuran tanah sawah, humus dan pupuk kandang (1:3:2). Media Y adalah campuran

^{*}Penulis untuk korespondensi, Tel. +62-331-336202, Fax. +62-331-334054, E-mail: wahyuni@mega-plasma.net

tanah sawah, humus dan pupuk kandang (1:2:2), dan media Z adalah tanah sawah. Masing-masing kantong plastik (*polybag*) diisi dengan 3 kg media. Rataan antar perlakuan dibedakan dengan uji Duncan pada taraf 5%. Mentimun (*Cucumis sativus*) sebagai salah satu inang dari CMV dan CMV-48 digunakan sebagai model untuk penelitian ini.

Lumbricus rubellus diperoleh dari peternak cacing di Jember dan dipuasakan dulu selama 24 jam dalam media kompos steril sebelum diintroduksi. Dua puluh *L. rubellus* diintroduksi pada tiap media dan bibit mentimun umur tujuh hari ditanam pada lima hari setelah introduksi (hsi) *L. rubellus* ke media tumbuh.

Inokulasi *P. putida* Pf-20 dan CMV. *Pseudomonas putida* Pf-20 koleksi T. Arwiyanto dari Universitas Gadjah Mada dan CMV-48 (subgrup II-CMV, Wahyuni *et al.* 2003) digunakan sebagai bahan kajian pada penelitian ini. Bakteri diperbanyak dalam media air pepton yang mengandung 100 ppm rifampisin. CMV-48 diperbanyak pada mentimun dan digunakan sebagai inokulum pada konsentrasi 5 mg daun ml⁻¹ bufer PO₄⁻³ 5 mM, pH 7.

Setelah satu minggu introduksi dengan *L. rubellus*, *P. putida* Pf-20 diinokulasikan dengan menyiramkan 20 ml suspensi bakteri pada kerapatan 2 x 10⁸ cfu/ml tiap media tumbuh. CMV diinokulasikan secara mekanis pada daun primer, pada 7 hsi bakteri. Pengamatan ada atau tidak adanya infeksi CMV pada mentimun dilakukan setiap hari. Keparahan penyakit diukur berdasarkan pada perkembangan gejala mosaik yang tampak.

$$\text{Keparahan penyakit} = \frac{\sum(k.Nk)}{ZN} \times 100\%$$

Nk = jumlah daun dengan skala keparahan penyakit pada k (k = 0, 1, 2, 3, 4) tiap tanaman, N = jumlah semua daun yang diamati tiap tanaman, Z = skala keparahan tertinggi. Keparahan penyakit dihitung pada 14, 21, dan 28 hsi bakteri. Menurut Raupach *et al.* (1996) dan Ongena *et al.* (2000) tingkat keparahan penyakit tanaman yang menjadi rendah merupakan indikator bahwa bakteri mampu menginduksi ketahanan sistemik tanaman.

Populasi *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 dalam Media Tumbuh. Jumlah cacing sebelum dan sesudah perlakuan dibandingkan dan dihitung dengan cara penyinaran untuk mengetahui komposisi media tumbuh yang cocok bagi perkembangan dan pertumbuhan *L. rubellus*. Bobot populasi cacing dilakukan pada sebelum dan sesudah perlakuan dan perubahan bobot yang terjadi dihitung dengan cara mengurangkannya. Populasi bakteri diamati menurut Wahyuni *et al.* (2003), untuk mengetahui pengaruh *L. rubellus* pada peningkatan populasi bakteri dalam rizosfer, pada permukaan akar, dan dalam jaringan akar. Contoh diambil pada 14, 21, dan 28 hsi bakteri.

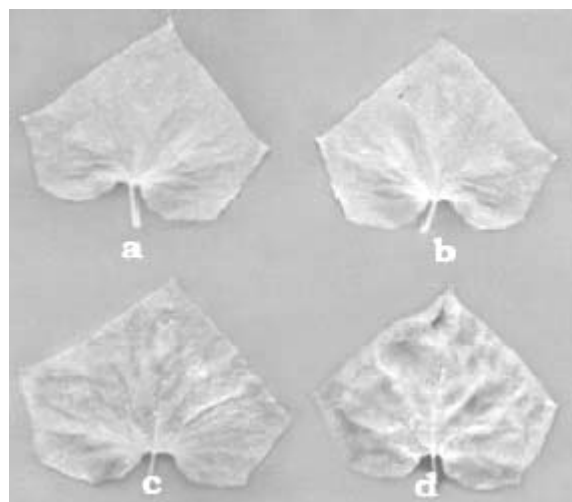
Perakaran Tanaman Mentimun. Untuk mengetahui pengaruh introduksi *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 terhadap perakaran tanaman, dibandingkan total panjang akar dan kerapatan akar tanaman pada tiap macam media. Pengukuran total panjang akar dan kerapatan akar dilakukan seperti pada Wahyuni *et al.* (2003).

Analisis Perubahan Kandungan N, C, P, K, dan pH Media Tumbuh. *Lumbricus rubellus* dapat mempengaruhi sifat kimia tanah. Analisis kandungan N, P, dan K dalam tanah dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan untuk mengetahui perubahan tersebut. Analisis kandungan N total dilakukan dengan metode Kjeldhal, kandungan C-organik dilakukan dengan metode Curmis, P tersedia dilakukan dengan metode Bray-1 dan K tersedia diukur berdasarkan kandungan K yang terekstrak oleh amonium asetat 1N pada pH 7.0.

HASIL

Penurunan Keparahan Penyakit CMV-48 pada Mentimun Akibat Introduksi *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20. Variasi gejala mosaik pada daun dengan nilai skala k yang berbeda dan digunakan untuk menghitung tingkat keparahan penyakit tanaman (Gambar 1). Keparahan penyakit CMV pada tanaman yang tumbuh pada media V, W, X, Y, dan Z yang diintroduksi dengan *P. putida* dan/tanpa *L. rubellus* lebih rendah dari pada media yang sama tanpa bakteri ($P \leq 0.05$). Pada media X yang diintroduksi dengan *L. rubellus*, *P. putida* mampu menurunkan keparahan penyakit hingga 11.58% (Tabel 1). Pada media dengan bakteri, tingkat keparahan penyakit sangat rendah pada 14 hsi bakteri dan pada 28 hsi nilainya sedikit meningkat daripada 21 hsi bakteri.

Introduksi *L. rubellus* pada media V, W, X, Y, dan Z meningkatkan populasi *P. putida* Pf-20 di rizosfer mentimun, dibandingkan dengan pada media yang sama tanpa cacing merah (Tabel 1). Introduksi *L. rubellus* pada 3 kg media X meningkatkan populasi *P. putida* 6.43 kali (42.87 x 10⁶ cfu/g tanah kering), pada media Y meningkatkan 5.63 kali, pada media V meningkatkan 4.11 kali, dan pada media W meningkatkan 3.93 kali. Berdasarkan uji t_{0.05}, *L. rubellus* lebih berperan untuk meningkatkan populasi *P. putida* di rizosfer dibandingkan dengan pengaruh komposisi media tumbuh (Tabel 2). *P. putida* lebih berperan untuk menurunkan keparahan penyakit hingga



Gambar 1. Gejala CMV pada daun mentimun dengan variasi skala k menurut Raupach *et al.* (1996). a. daun dengan skala 1: gejala ringan, 1-10% mosaik dan terlihat samar-samar, b. skala 2: gejala sedang dengan mosaik sistemik 11-30%, c. skala 3: gejala jelas dengan mosaik sistemik 31-60%, d. skala 4: gejala mosaik sistemik > 60%.

8.55% dibandingkan oleh peran *L. rubellus* (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa *L. rubellus* dapat meningkatkan aktivitas *P. putida* untuk mendominasi rizosfer dan perakaran. Akibatnya, aktivitas *P. putida* dapat meningkatkan penginduksian ketahanan sistemik mentimun terhadap CMV-48.

Pengaruh Komposisi Media Tumbuh dan *P. putida* Pf-20 terhadap Perubahan Populasi dan Bobot *L. rubellus*. Perubahan populasi dan bobot seluruh *L. rubellus* diakibatkan

oleh perbedaan komposisi media tumbuh dan introduksi *P. putida* Pf-20 (Tabel 4). Populasi *L. rubellus* lebih tinggi pada media yang diintroduksi dengan bakteri daripada media tanpa bakteri. Bobot seluruh *L. rubellus* meningkat pada semua media yang diberi humus jerami dan atau pupuk kandang (media V, W, X, dan Y). Populasi dan bobot seluruh *L. rubellus* lebih tinggi pada media dengan bakteri daripada media tanpa bakteri. Media X (tanah sawah, humus jerami, dan pupuk

Tabel 1. Populasi *P. putida* Pf-20 dan keparahan penyakit CMV-48 pada mentimun saat 28 hsi bakteri

Macam komposisi media tumbuh	Perlakuan*	Keparahan penyakit (%)	Populasi bakteri (x 10 ⁶ cfu/g akar segar) dalam jaringan akar	Populasi bakteri (x 10 ⁶ cfu/g akar segar) pada permukaan akar	Populasi bakteri (x 10 ⁶ cfu/g akar segar) pada permukaan akar
V	+B+C	18.60bc	1.29ab	4.30b	27.39d
Tanah sawah, humus jerami [1:2]	+B-C	21.26c	2.10b	1.70ab	9.31ab
	-B+C	23.85d	0a	0a	0a
	+B+C	18.18bc	1.84ab	7.50c	26.18d
Tanah sawah, pupuk kandang [1:1]	+B-C	20.48c	1.07ab	5.00b	20.22cd
	-B+C	22.90d	0a	0a	0a
	+B+C	11.58a	2.90c	27.85f	42.87f
Tanah sawah, humus jerami, pupuk kandang [1:3:2]	+B-C	16.85b	0.44a	20.20e	16.10c
	-B+C	20.12c	0a	0a	0a
	+B+C	11.79a	3.39c	14.75d	37.55e
Tanah sawah, humus jerami, pupuk kandang [1:2:2]	+B-C	15.35b	1.29ab	13.25d	15.61c
	-B+C	23.90d	0a	0a	0a
	+B+C	17.01bc	4.89d	4.25b	18.51c
Tanah sawah	+B-C	21.67c	4.06d	2.65ab	14.10b
	-B+C	22.57d	0a	0a	0a

*: +B+C diintroduksi *P. putida* Pf-20 dan *L. rubellus*, +B-C diintroduksi *P. putida* tanpa *L. rubellus*, -B+C diintroduksi *L. rubellus* tanpa *P. putida*. Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0.05$)

Tabel 2. Pengaruh *L. rubellus* dan komposisi media tumbuh terhadap perubahan populasi *P. putida* Pf-20 di rizosfer mentimun yang terinfeksi CMV-48 pada 28 hsi bakteri

Macam komposisi media tumbuh	Perubahan populasi <i>P. putida</i> Pf-20 akibat	
	Pengaruh <i>L. rubellus</i>	Pengaruh media tumbuh
V	59.63d	61.16a
W	180.87c	-48.01d
X	267.62b	19.98b
Y	301.39a	-84.98e
Z	41.47d	0c

V, W, X, Y, dan Z merujuk singkatan pada Tabel 1. Populasi awal bakteri 1.33 cfu/g tanah basah. Tanda negatif (-) menunjukkan tidak ada pengaruh macam media terhadap populasi *P. putida* Pf-20. Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0.05$)

Tabel 3. Pengaruh *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 terhadap penurunan keparahan penyakit CMV pada mentimun

Macam komposisi media tumbuh	Penurunan keparahan penyakit CMV (%)	
	Pengaruh bakteri	Pengaruh cacing
V	0.72a	-1.70b
W	5.24b	3.65c
X	5.27b	0.21bc
Y	8.55b	-3.56a
Z	0.90a	-4.60a

V, W, X, Y, dan Z merujuk singkatan pada Tabel 1. Tanda negatif (-) menunjukkan tidak ada pengaruh introduksi *L. rubellus* terhadap penurunan keparahan penyakit CMV. Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0.05$)

Tabel 4. Perubahan populasi dan bobot seluruh *L. rubellus* pada komposisi media tumbuh yang berbeda, dengan atau tanpa introduksi *P. putida* Pf-20

Macam komposisi media tumbuh	Perlakuan	Perubahan populasi juvenil dan cacing dewasa (%)	Perubahan bobot seluruh <i>L. rubellus</i> (juvenil dan cacing dewasa) (%)	Produksi kokon
V	+B+C	-16.25	7.46	3
	-B+C	-21.25	2.03	2
W	+B+C	12.50	22.18	4
	-B+C	7.50	13.71	2
X	+B+C	86.25	64.00	8
	-B+C	62.50	20.80	6
Y	+B+C	70.00	42.56	6
	-B+C	12.50	12.75	2
Z	+B+C	-78.75	-34.77	0
	-B+C	-81.25	-56.11	0

V, W, X, Y, dan Z; +B+C, dan -B+C merujuk singkatan pada Tabel 1. Rataan populasi dan bobot seluruh *L. rubellus* (juvenil dan cacing dewasa) dihitung setiap kantong plastik dari 4 ulangan, diamati setelah 35 hari introduksi bakteri. Populasi awal *L. rubellus* dewasa 20 ekor setiap kantong plastik dengan rata-rata berat basah seluruh *L. rubellus* 1.875 g. Tanda negatif (-) menunjukkan terjadi penurunan populasi atau bobot *L. rubellus* dibandingkan dengan populasi dan bobot awal

kandang 1:3:2) yang mengandung bakteri adalah media terbaik untuk pertumbuhan cacing dengan populasi 86.25% dan bobot 64%, dan pada media tanpa bakteri, populasi cacing 62.50%.

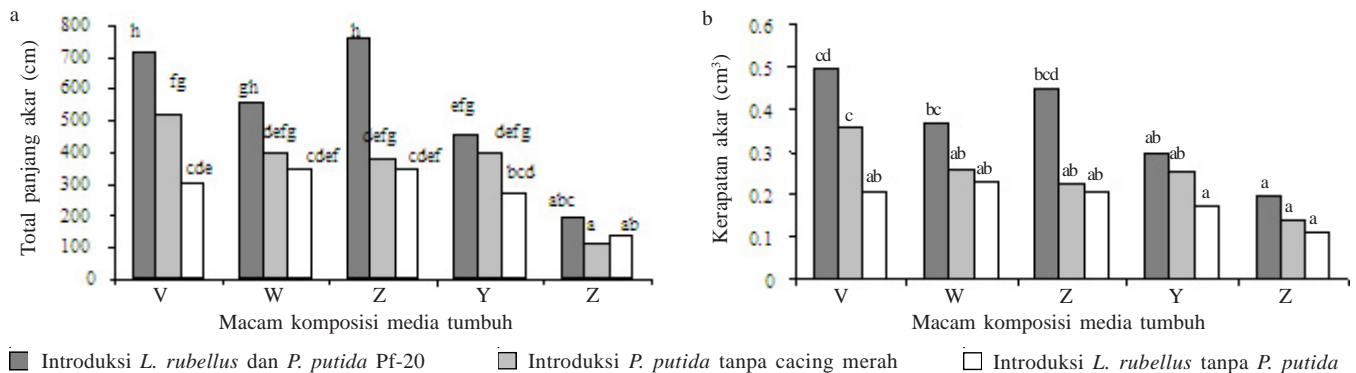
Pengaruh Macam Komposisi Media Tumbuh dan Interaksi *L. rubellus*, *P. putida* Pf-20, dan CMV-48 terhadap Total Panjang Akar dan Kerapatan Akar. Tanaman yang tumbuh pada media dengan komposisi yang berbeda mempunyai total panjang akar yang berbeda (Gambar 2). Total panjang akar tanaman pada media dengan *L. rubellus* dan bakteri lebih baik dibandingkan dengan pada media yang hanya diintroduksi dengan salah satu organisme.

Total panjang akar pada media X dengan *L. rubellus* dan bakteri tidak berbeda dengan pada media V ($P > 0.05$), tetapi kerapatan akar lebih baik pada media V. Kerapatan akar pada media dengan *L. rubellus* dan bakteri lebih baik dibandingkan dengan pada media yang hanya diintroduksi dengan salah satu organisme (Gambar 2). Arsitektur perakaran menjadi lebih baik dengan makin panjangnya total panjang akar dan kerapatan akar.

Perubahan Kandungan Hara Media Tumbuh setelah Introduksi *L. rubellus*, *P. putida* Pf-20, dan CMV-48.

Introduksi *L. rubellus* dan bakteri mempengaruhi perubahan kandungan hara dan pH media, besarnya pengaruh ini tergantung pada komposisi media tumbuh (Tabel 5). Kecuali pada media Z (tanah sawah), pH media tumbuh menurun setelah perlakuan *L. rubellus* dan bakteri. Setelah perlakuan, kandungan N-total dan C-organik menurun pada semua media tumbuh yang diintroduksi dengan *L. rubellus* dan bakteri, atau hanya diintroduksi dengan salah satu organisme. Kandungan P-tersedia meningkat pada media tumbuh yang mengandung humus jerami dan/atau pupuk kandang (media V, W, X, Y), tetapi kandungan K-tersedia menurun pada media W dan Y setelah diintroduksi dengan *L. rubellus* dan bakteri, atau hanya diintroduksi dengan salah satu organisme.

Perubahan kandungan hara dan pH berkaitan dengan perubahan nisbah C/N. Sebelum perlakuan, media X dan Y mempunyai nisbah C/N lebih rendah dibandingkan dengan media lainnya. Setelah diintroduksi dengan *L. rubellus* dan



Gambar 2. Pengaruh introduksi *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 terhadap (a) total panjang akar (cm) dan (b) kerapatan akar (cm/cm³) mentimun terinfeksi CMV-48 pada 35 hari diinokulasi bakteri. Macam komposisi media tumbuh merujuk singkatan pada Tabel 1. Huruf yang berbeda pada gambar menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0.05$)

Tabel 5. Perubahan kandungan hara dan pH media tumbuh akibat introduksi *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20

Macam komposisi media tumbuh	Perlakuan	Perubahan kandungan hara dan pH					
		C-organik (%)	N total (%)	P tersedia (me/100g)	K tersedia (me/100g)	pH	Nisbah C/N
V	+B+C	-1.33e	-0.14bc	51b	0.45a	-0.82k	2.67i
W		-2.18gh	-0.19cd	328l	-0.31j	-0.32i	1.75h
X		-3.32m	-0.13b	355m	0.44a	-0.34j	-3.25b
Y		-2.49i	-0.17c	297k	-1.60m	-0.05d	-0.15g
Z		-0.25c	-0.07a	-18a	-0.05g	0.27b	5.57n
V	+B-C	-1.35e	-0.07a	178h	0.21e	-0.13e	-0.95e
W		-1.30d	-0.17c	60e	-0.35k	-0.23f	4.04m
X		-2.63j	-0.16bc	291j	0.31d	-0.27g	-0.82f
Y		-2.77k	-0.08a	121f	-1.37l	-0.24f	-3.61a
Z		-0.22b	-0.08a	58c	-0.01f	0.29a	8.21o
V	-B+C	-1.60f	-0.16bc	89e	0.41b	0.04c	2.98j
W		-2.16g	-0.21d	277i	-0.43i	-0.29h	3.31k
X		-2.22h	-0.08a	367n	0.30c	-0.32i	-2.16d
Y		-3.29l	-0.17c	172g	-1.50m	-0.35j	-2.38c
Z		-0.11a	-0.05a	84d	-0.07h	-0.31i	3.87l

V, W, X, Y, dan Z; +B+C, +B-C, dan -B+C merujuk singkatan pada Tabel 1. Sebelum diintroduksi dengan kedua jenis organisme, kandungan C-organik (%), N total (%), nisbah C/N, P tersedia (me/100g), K tersedia (me/100 g), dan pH, berurut-urut pada media V: 6.01, 0.41, 14.66, 128, 0.34, dan 6.64, pada media W: 5.61, 0.42, 13.60, 310, 1.51, dan 7.43, pada media X: 8.28, 0.58, 14.28, 373, 0.70, dan 7.40, pada media Y: 7.59, 0.53, 14.32, 428, 2.51, dan 7.48, pada media Z: 1.49, 0.15, 9.93, 120, 0.33, dan 6.27. Nilai dalam tabel merupakan hasil pengurangan kandungan hara dan pH setelah 35 hari introduksi bakteri dengan sebelum diintroduksi dengan *L. rubellus* dan *P. putida*. Tanda (-) menunjukkan terjadi penurunan kandungan hara dan pH media tumbuh. Nilai dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0.05$)

bakteri, atau hanya diintroduksi dengan salah satu organisme, nisbah C/N-nya menurun (Tabel 5). Hal ini menunjukkan *L. rubellus* dan bakteri ikut berperan pada proses perombakan bahan organik dalam media dan peran kedua organisme dalam hal ini menjadi lebih berarti dibandingkan dengan bila hanya diintroduksi dengan salah satu organisme saja.

PEMBAHASAN

Peningkatan populasi bakteri dan penyebarannya di rizosfer dibantu oleh peran *Lumbricus* sp. sehingga bakteri cepat mendominasi dan mengkolonisasi akar. Makin banyak bahan organik tersedia dalam media (media X atau Y), makin baik perkembangan *L. rubellus*. Sebaliknya, pada media Z (tanah sawah), populasi dan bobot seluruh *L. rubellus* menurun, karena kandungan bahan organik dalam tanah sawah tergolong rendah, struktur tanah lebih padat, kandungan liat tinggi dan sulit dilalui oleh cacing merah, sehingga *L. rubellus* lebih cenderung keluar dari media.

Lumbricus rubellus mendekomposisi bahan organik dalam media. Bahan organik dalam pencernaannya dan kotoran (kascing) yang dihasilkan dapat menjadi media yang baik untuk perkembangan *P. putida* Pf-20. Meskipun pada penelitian ini tidak dihitung populasi bakteri yang terdapat dalam kotoran *L. rubellus*, Pedersen dan Hendriksen (1993) menemukan bahwa populasi *P. putida* MM11 meningkat menjadi 3.7×10^4 cfu/g kotoran *Lumbricus* spp. yang sudah satu hari dikeluarkan dan ini lebih rendah daripada populasi *P. putida* MM1 (9.9×10^6 cfu/g). Oleh karena itu, sinergisme *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 meningkatkan arti dan peran PGPR sebagai penginduksi ketahanan sistemik tanaman. Kemampuan *P. putida* Pf-20 di rizosfer untuk mengkolonisasi akar ditunjukkan dengan populasi bakteri yang tinggi pada permukaan akar dan dalam jaringan akar. Makin tinggi populasi *P. putida* Pf-20 yang mengkoloni akar, makin rendah keparahan penyakit CMV-48. Mekanisme penyebab rendahnya keparahan penyakit CMV oleh *P. putida* Pf-20 belum diteliti, tetapi menurut Ongena *et al.* (2000) *P. putida* BTP1 dapat membentuk siderofor pengkelat besi dan siderofor penghasil fitoaleksin untuk melindungi mentimun dari *Pythium aphanidermatum*. Hal ini ditunjukkan dengan terakumulasinya polifenol dalam daun dan akar tanaman yang terinfeksi.

Media tumbuh dengan komposisi yang berbeda, mempunyai pH antara 6.5 sampai dengan 7.5. Keadaan ini sesuai untuk pertumbuhan mentimun (Sutarya *et al.* 1995), *L. rubellus* (Paramita 2004), dan *P. putida* Pf-20 serta kelompok fluoresens pseudomonad lain asal rizosfer *Mimosa* sp. dari perkebunan tembakau di Deli (Arwiyanto 1997). Penurunan pH setelah perlakuan *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20 antara lain sebagai akibat aktivitas *L. rubellus* dan bakteri dalam mendekomposisi bahan organik. Penurunan pH ini menurut Meeting (1993) disebabkan oleh produksi asam organik yang cukup tinggi selama proses dekomposisi bahan organik oleh mikrobia tanah.

Introduksi *L. rubellus* dan bakteri menyebabkan penurunan C-organik dan N total. Penurunan kandungan C-organik dalam media berhubungan dengan nisbah C/N. Makin

tinggi nisbah C/N makin lambat laju dekomposisi bahan organik, sehingga ketersediaan N dalam tanah secara lambat makin berkurang. Selain N dalam tanah digunakan oleh tumbuhan, organisme dan mikroba tanah, NH₃ dan oksidanya yang menguap juga menjadi penyebab penurunan kandungan N dalam media (Gange 1993).

Introduksi *L. rubellus* dan bakteri secara sinergis menyebabkan kandungan PO₄⁻³ dalam media meningkat. Kotoran *L. rubellus* mengandung PO₄⁻³ yang tinggi, karena *L. rubellus* ikut mendegradasi fosfat dalam media menjadi tersedia dalam bentuk H₂PO₄⁻, HPO₄⁻² atau PO₄⁻³ (<http://www.agrolinkmoa.my/pqnet/kwln/cacing.html>). Pada media tumbuh dengan proporsi humus jerami lebih banyak, kandungan K meningkat setelah diintroduksi dengan *L. rubellus* dan *P. putida* Pf-20, karena 80% sumber kalium adalah humus jerami (Darmawijaya 1997). Sebaliknya, kandungan K menurun pada media tumbuh dengan proporsi pupuk kandang lebih banyak (W dan Y). Pada 45 hari setelah tanam (hst) kandungan K tersedia dalam media menurun, karena sebagian K digunakan oleh *L. rubellus* untuk membentuk kokon (<http://www.agrolinkmoa.my/pqnet/kwln/cacing.html>).

Lumbricus rubellus dalam media tumbuh yang banyak mengandung humus jerami dan pupuk kandang yaitu media X (tanah sawah, humus jerami, dan pupuk kandang, 1:3:2), diikuti dengan media Y (campuran tanah sawah, humus, dan pupuk kandang, 1:2:2), mempunyai peran yang nyata untuk meningkatkan aktivitas *P. putida* Pf-20 dalam menginduksi ketahanan mentimun terhadap CMV. Sinergisme kedua jenis organisme yang diintroduksikan ini memperbaiki kandungan hara media menjadi tersedia sehingga pertumbuhan akar tanaman menjadi lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto T. 1997. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau: 1. Isolasi bakteri antagonis. *J Perlin Tan Indones* 3:54-60.
- Chancey ST, Wood DW, Pierson EA, Pierson LS. 2002. Survival of GacS/GacA mutants of the biological control bacterium *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 in the wheat rhizosphere. *Appl Environ Microbiol* 68:3308-3314.
- Darmawijaya MI. 1997. *Klasifikasi Tanah: Dasar Teori Bagi Peneliti Tanah dan Pelaksana Pertanian di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada Univ Pr.
- De Meyer G, Hofte M. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology* 87:588-593.
- Gange AC. 1993. Translocation of mycorrhizae fungi by earthworms during early succession. *Soil Biol Biochem* 25:1021-1026.
- Haas D, Defago G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Rev Microbiol* 3:307-319.
- Leeman M *et al.* 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86:149-155.
- Maurhofer M, Reimann C, Schmidli-Sacherer P, Heep S, Defago G. 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against *Tobacco necrosis virus*. *Phytopathology* 88:678-684.
- Meeting FB. 1993. *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. New York: Marcel Dekker Inc.

- Ongena M *et al.* 2000. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathol* 49:23-30.
- Paramita DA. 2004. Pemanfaatan cacing merah (*Lumbricus rubellus*) untuk meningkatkan peran *Pseudomonas putida* strain Pf20 dan strain 27.4B dalam menginduksi ketahanan sistemik ketimun cv. Verona F-1 terhadap CMV [Skripsi]. Jember: Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
- Park KS, Kloepper JW. 2002. Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria that induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Biol Control* 18:2-9.
- Pedersen JC, Hendriksen NB. 1993. Effect of passage through the intestinal tract of detritivore earthworms (*Lumbricus* spp.) on the number of selected gram-negative and total bacteria. *Bio Fertil Soil* 16:227-232.
- Press CM, Loper JE, Kloepper JW. 2001. Role of iron in rhizobacteria-mediated induced systemic resistance of cucumber. *Phytopathology* 91:593-598.
- Raupach GS, Liu L, Murphy JF, Tuzun S, Kloepper JW. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against *Cucumber mosaic Cucumovirus* using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis* 80:892-894.
- Sutarya G, Grubben G, Sutarno H. 1995. *Pedoman Bertanam Sayuran Dataran Rendah*. Yogyakarta: Gadjah Mada Univ Pr.
- Wahyuni WS, Yuttriono R, Winarso S. 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.
- Zhang W, Han DY, Dick WA, Davis KR, Hoitink HAJ. 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and *Arabidopsis*. *Phytopathology* 88:450-455.