

*Research Article*

**Respons Ketahanan Tembakau terhadap *Tobamovirus*  
dengan Agens Hayati sebagai Induser**

***Resistance Response of Tobacco to Tobamovirus  
with Biological Agents as Inducer***

**Riska Awalia Putri<sup>1)</sup>, Sri Sulandari<sup>1)\*</sup>, Christanti Sumardiyono<sup>1)</sup>, & Triwidodo Arwiyanto<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada  
Jln. Flora No. 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

\*Penulis untuk korespondensi. E-mail: sulandari77@ugm.ac.id

Diterima 14 Desember 2017; diterima untuk diterbitkan 21 Mei 2018

**ABSTRACT**

*Tobamovirus is one of the important pathogen that decrease the quantity and quality of cigar tobacco cultivation. One of the alternative control of this disease is by using rhizosphere biological agents such as Bacillus spp., Streptomyces spp., and mycorrhiza. This study aims to determine the effectiveness and mechanism of the biological agents singly and in combination to induce cigar tobacco plant resistance of the F1 (TV38xG) variety in the greenhouse. The biological agents were applied on the root of tobacco during nursery and transplanting. The virus inoculation was performed 10 days after transplanting. The results showed that the treatment with Bacillus spp., Streptomyces spp., and mycorrhizal were capable to decrease disease incidence by delaying mosaic symptoms for 6-day in a single treatment and 3 days in combination treatment. The treatment of Bacillus spp., Streptomyces spp., and mycorrhiza both in single and in combination were capable to decrease the disease intensity for 26%, 23%, 15%, and 10%, respectively. Induced resistance was performed by increased peroxidase activity in the treatment of mycorrhiza as much as 29.27%, Bacillus spp. 20.65%, and Streptomyces spp. 11.10%. Protein analysis with SDS-PAGE of tobacco plants showed the difference in profile and size of protein bands. Protein bands measuring 17 kDa and 30 kDa were found in tobacco infected Tobamovirus but was not found in healthy tobacco. The single application of Bacillus spp., Streptomyces spp., and mycorrhiza on tobacco infected Tobamovirus increase plant growth including plant height as much as 53.71%, number of leaves 57%, stem diameter 29.40%, root length 60.77%, fresh weight of leaves 196.90%, and dry weight of leaf of 265.31%.*

*Keywords: biological agent, induced resistance, SDS-PAGE, tobacco, Tobamovirus*

**INTISARI**

*Tobamovirus* merupakan salah satu patogen penting yang menyebabkan penurunan kuantitas dan kualitas pada budidaya tembakau cerutu. Salah satu alternatif pengendalian penyakit ini menggunakan agens hayati pengkoloni akar yaitu *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza. Penelitian bertujuan untuk mengetahui efektivitas dan mekanisme agens hayati secara tunggal dan kombinasi dalam menginduksi ketahanan tanaman tembakau cerutu varietas F1 (TV38xG) di rumah kaca. Agens hayati diaplikasikan pada perakaran tembakau pada saat pembibitan dan pindah tanam. Inokulasi virus dilakukan 10 hari setelah pindah tanam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza dapat menurunkan insidensi penyakit dengan muncunya gejala mosaik 6 hari pada perlakuan tunggal dan 3 hari pada perlakuan kombinasi. Perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara tunggal, dan kombinasi dapat menurunkan intensitas penyakit mosaik berturut-turut 26%, 23%, 15%, dan 10%. Induksi ketahanan terbentuk melalui peningkatan aktivitas peroksidase pada perlakuan Mikoriza 29,27%, *Bacillus* spp. 20,65%, *Streptomyces* spp. 11,10%. Analisis protein dengan SDS-PAGE diperoleh adanya perbedaan profil dan ukuran pita protein. Ditemukan pita protein berukuran 17 kDa dan 30 kDa pada tembakau yang terinfeksi *Tobamovirus* tetapi tidak ditemukan pada tembakau sehat. Aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara tunggal pada tanaman tembakau yang terinfeksi *Tobamovirus* berpengaruh baik terhadap pertumbuhan tanaman. Tinggi tanaman meningkat 53,71%, jumlah daun 57%, diameter batang 29,40%, panjang akar 60,77%, berat segar daun 196,90%, dan berat kering daun 265,31%.

Kata kunci: agens hayati, induksi ketahanan, SDS-PAGE, tembakau, *Tobamovirus*

## PENDAHULUAN

Tembakau merupakan salah satu komoditas yang banyak dibudidayakan petani di Indonesia. Khususnya untuk tembakau cerutu, elastisitas, warna, dan ukuran daun sangat penting untuk memenuhi standar ekspor. Berbagai kendala teknis banyak dihadapi petani tembakau di Indonesia, salah satunya disebabkan oleh peningkatan gangguan organisme pengganggu tanaman dari kelompok *Tobamovirus* yang dapat menyebabkan penyakit mosaik. Penyakit ini dapat dengan mudah ditularkan secara mekanik dan juga memiliki kisaran inang yang luas sehingga sulit untuk dikendalikan. Semangun (2006) menjelaskan penyakit mosaik tembakau disebabkan oleh beberapa galur (*strain*) virus yang menyebabkan timbulnya gejala agak berbeda. Seperti di daerah tembakau Vorstenlanden disebut penyakit mosaik “biasa” menyebabkan terjadinya klorosis di antara tulang daun, mosaik “bentol” menyebabkan bagian yang berwarna hijau tua menjadi melengkung, sehingga permukaan daun tidak rata, dan mosaik “keras” menyebabkan daun menjadi sangat keriting.

Salah satu alternatif pengendalian dalam mengurangi infeksi *Tobamovirus* adalah dengan menginduksi ketahanan sistemik tanaman. Ketahanan sistemik terinduksi yang salah satunya dicirikan oleh *Pathogenesis Related Protein* (PR-Protein) sebagai molekul gen ketahanan, misalnya peroksidase (Agrios, 2005). Peroksidase merupakan enzim oksido-reduktif yang berpartisipasi dalam proses lignifikasi dinding sel tanaman inang selama reaksi pertahanan terhadap patogen (Chittoor *et al.*, 1997).

Induksi ketahanan sistemik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan agens hayati. Agens hayati yang umumnya digunakan termasuk ke dalam kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dan *Plant Growth Promoting Fungi* (PGPF), hidup bebas dan berasosiasi dengan akar di dalam rizosfer pada banyak spesies tanaman yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan menurunkan penyakit tanaman (Ryu *et al.*, 2007; Walters *et al.*, 2013). Dalam penelitian ini digunakan tiga jenis agens hayati yaitu *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp. dan Mikoriza. Agens hayati telah banyak menunjukkan keberhasilannya dalam mengendalikan patogen. Berbagai penelitian telah melaporkan efektivitas PGPR dilaporkan efektif menekan *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), dan *Tomato mottle virus*

(ToMoV) (Maurhofer *et al.*, 1994; Raupach & Kloepper, 1998; Zehnder *et al.*, 2000; Murphy *et al.*, 2000). Mikoriza mampu mengakumulasi asam salisilat di dalam tanaman cabai merah yang berperan sebagai sinyal penginduksi yang akan mengekspresikan gen pertahanan pertanaman berupa *pathogenesis related protein* (PR-Protein) antara lain peroksidase. Peroksidase berpengaruh dalam lignifikasi dinding sel tanaman Marlina *et al.* (2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas dan mekanisme agens hayati tersebut secara tunggal dan kombinasi ketiganya dalam menginduksi ketahanan tanaman tembakau cerutu varietas F1 (TV38xG) di rumah kaca.

## BAHAN DAN METODE

### *Koleksi dan Perbanyakan Isolat Virus dan Agens Hayati*

Sumber inokulum Tobamovirus merupakan koleksi Sub Laboratorium Virologi Tumbuhan Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, UGM (Gambar 1). Sumber inokulum tersebut termasuk ke dalam spesies *Rehmannia mosaic virus* (ReMV) (Endarsih *et al.*, 2017). Isolat *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. dan Mikoriza dalam bentuk produk siap pakai berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Pertanian Dasar, Departemen Mikrobiologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada.



Gambar 1. Daun tembakau cerutu terinfeksi *Tobamovirus* yang dijadikan sebagai sumber inokulum

### *Perlakuan Agens Hayati dan Penyemaian Benih*

Benih tembakau ditanam pada nampan plastik yang sebelumnya telah diisi dengan media tanam (tanah + kompos + arang sekam) dengan perbandingan 3:2:1. Aplikasi PGPR mengikuti metode Taufik *et al.* (2005) yang dimodifikasi. Sebelum benih ditutupi dengan selapis media semai, benih ditetesi dengan

suspensi PGPR ( $10^8$  CFU/ml) sebanyak 50  $\mu$ l/lubang tanam saat penyemaian, 1 ml/lubang tanam saat pembibitan, dan 7,5 ml/lubang tanam saat pindah tanam. Untuk PGPF diaplikasi dengan cara dicampur dengan media tanam sebanyak 2 g/lubang tanam saat penyemaian, 5 g/lubang tanam pada saat pembibitan dan 10 g/lubang tanam saat pindah tanam. Penyemaian tanaman dilakukan di rumah kaca hingga berumur 14 hari, kemudian bibit dipindahkan ke dalam gelas plastik ukuran 200 ml. Setelah berumur 45 hari, bibit dipindah tanam pada *polybag* berukuran 30 $\times$ 30 cm.

### **Inokulasi Virus secara Mekanik**

Daun tembakau sumber inokulum *Tobamovirus* ditimbang sebanyak 1 g. Kemudian daun digerus dalam mortar steril dengan menambahkan 10 ml larutan penyangga fosfat 0,01 M (pH 7) (w : v = 1 : 10). Sebelum diinokulasi, serbuk karborundum ditaburkan pada bagian permukaan atas daun ketiga atau keempat tembakau, kemudian sap segera dioleskan dengan kapas steril pada permukaan daun. Setelah sap mengering, pembilasan dilakukan terhadap sisa-sisa sap yang masih melekat pada permukaan daun tanaman uji dengan menyemprotkan air steril. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali selama 30 hari.

### **Rancangan Percobaan**

Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan sepuluh perlakuan, setiap perlakuan 15 ulangan. Perlakuan tersebut adalah tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, tanpa diinokulasi dengan *Tobamovirus* (K1); tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, diinokulasi dengan *Tobamovirus* (K2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., tanpa diinokulasi dengan *Tobamovirus* (B1); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., diinokulasi dengan *Tobamovirus* (B2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., tanpa diinokulasi dengan *Tobamovirus* (S1); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., diinokulasi dengan *Tobamovirus* (S2); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi dengan *Tobamovirus* (M1); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi dengan *Tobamovirus* (M2); tanaman tembakau, diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi dengan *Tobamovirus* (BSM1); tanaman tembakau yang diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi dengan *Tobamovirus*

(BSM2). Lima karakter pertumbuhan tanaman yang dievaluasi meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, dan panjang akar. Pengamatan dilakukan 1–9 minggu setelah pindah tanam (MSPT). Penghitungan berat segar dan berat kering daun dilakukan pada akhir pengamatan (10 MSPT). Analisis sidik ragam dilakukan dengan uji F dan jika di antara perlakuan terdapat perbedaan dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada  $\alpha = 0,05$  dengan bantuan SAS 6.12 (SAS Institute, 1990).

### **Pengamatan Perkembangan Penyakit**

Pengamatan terhadap perkembangan penyakit dilakukan dengan menghitung insidensi dan intensitas penyakit. Pengamatan perkembangan penyakit dilakukan 3–30 hari setelah inokulasi. Perhitungan insidensi penyakit mengikuti rumus:

$$KP = \frac{\text{Jumlah tanaman sakit}}{\text{Jumlah seluruh tanaman}} \times 100\%$$

Pengamatan intensitas penyakit dilakukan dengan mengukur skor keparahan penyakit. Kategori skor keparahan penyakit yang digunakan ialah : 0, tidak ada gejala; 1, *vein clearing* dan klorotik; 2, mosaik ringan; 3, mosaik sedang dan malformasi ringan; 4, mosaik berat dan malformasi sedang; 5, mosaik sangat berat, malformasi daun parah, dan kerdil. Intensitas penyakit dihitung dengan rumus:

$$IP = \frac{\sum(n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

dengan, n, jumlah tanaman terserang dengan kategori tertentu; v, nilai skala setiap kategori serangan; Z, nilai skala tertinggi; N, jumlah tanaman yang diamati.

### **Aktivitas Enzim Peroksidase**

Aktivitas enzim peroksidase mengikuti metode Zen *et al.* (2002) *cit.* Faizah *et al.* (2012). Ekstraksi enzim peroksidase satu hari sebelum inokulasi *Tobamovirus* dan 10 hari setelah inokulasi, pada daun tembakau termuda. Daun tembakau sebanyak 10 ulangan kemudian dikompositkan. Sebanyak 5 g daun digerus dalam mortar dalam 50 ml akuades pada suhu 4°C sampai homogen, kemudian gerusan disaring. Filtrat disentrifugasi selama 15 menit pada 4500 rpm. Supernatan digunakan sebagai ekstrak enzim. Aktivitas enzim peroksidase dilakukan dengan menggunakan dua tabung. Tabung pertama sebagai blanko berisi campuran yang terdiri atas 2,5 ml ekstrak enzim dan 2,5 ml larutan *pyrogallol* 0,05 M. Tabung kedua berisi campuran yang terdiri atas 2,5

ml ekstrak enzim, 2,5 ml larutan *pyrogallol* 0,05 M dan 2,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan konsentrasi 1%. Aktivitas enzim peroksidase ditentukan berdasarkan pada absorbansi dari larutan yang diuji menggunakan spektrofotometer *Uv-vis*. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas enzim peroksidase dihitung dengan mengikuti rumus:

$$V = \frac{A}{(t \times c)}$$

dengan V, aktivitas enzim dinyatakan sebagai unit aktivitas enzim gram sampel daun; A, selisih absorbansi sesudah dan sebelum penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; t, waktu yang diperlukan untuk perubahan absorbansi; c, konsentrasi enzim (menit<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup>).

#### **Analisis Pita Protein Tanaman dengan SDS-PAGE**

Analisis pita protein tanaman dengan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfat- Polyacrilamide Gel Electrophoresis*) mengikuti metode Leammli (Gall *et al.*, 1980) yang dimodifikasi. Sampel daun tembakau ditimbang 0,1 g kemudian digerus dengan menggunakan bufer fosfat. Sap tersebut kemudian dimasukkan ke dalam 1,5 ml tabung mikro sentrifus, kemudian ditambah 300 µl buffer ekstraksi (Tris HCl 0,5 M pH 6,8; gliserol; SDS 10%; *Dionized water*) dan mercaptoetanol 2%, dicampur menggunakan vorteks hingga homogen. Selanjutnya ekstrak diinkubasi selama 5 menit pada 95°C dan disentrifus pada 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung mikro yang baru dan ditambahkan *bromophenol blue* 0,5% dengan perbandingan 1:5 dari volume sampel. Elektroforesis protein dibuat larutan SDS-PAGE dengan konsentrasi 12,5%. Elektroforesis dijalankan pada tegangan konstan 20 mA, dan 5 watt selama 2,5 jam. Setelah elektroforesis selesai, *gel* dipindahkan dan berkas protein dilihat dengan merendam *gel* dalam asam asetat glasial 12,5% selama 5 menit kemudian direndam dalam larutan *commasie blue* 0,25% sambil dishaker selama kurang lebih 12 jam. *Gel* dicuci dengan *destaining solution*. Hal ini dilakukan untuk mempertahankan berkas protein yang terlihat pada *gel* untuk kemudian pita-pita protein yang terlihat dibandingkan dengan penanda berat molekul pada *gel* tersebut.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Perkembangan Penyakit Mosaik Tembakau**

Secara umum aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza pada tanaman tembakau mampu

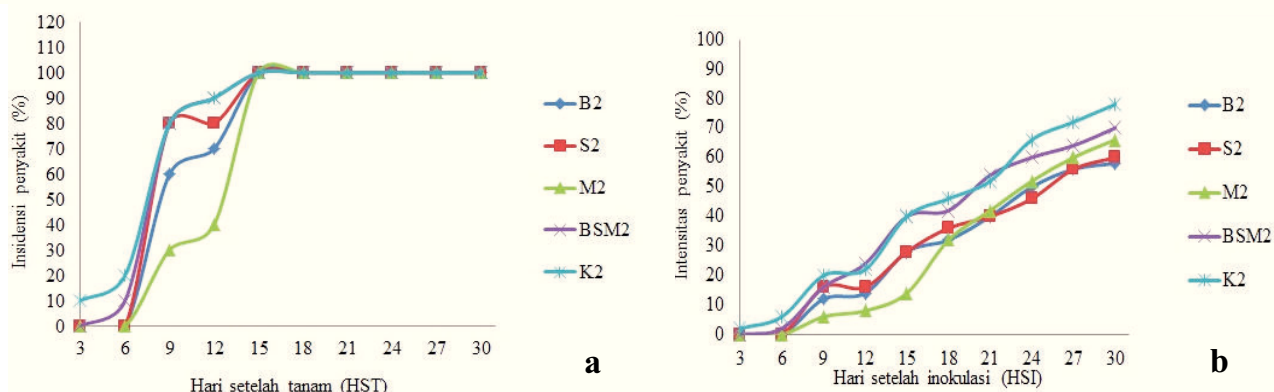
menekan insidensi dan intensitas penyakit mosaik secara nyata dibandingkan dengan kontrol. Dari hasil pengamatan insidensi penyakit mosaik, aplikasi agens hayati pada tanaman tembakau dapat menunda gejala penyakit mosaik lebih lambat 6 hari pada tanaman tembakau yang diaplikasi secara tunggal, dan 3 hari pada perlakuan kombinasi ketiganya dibandingkan dengan kontrol (Gambar 2a). Hasil pengamatan intensitas penyakit pada 30 hari setelah inokulasi virus diperoleh persentase tertinggi hingga terendah ialah perlakuan K2, BSM2, M2, S2, dan B2. (Gambar 2b). Persentase penghambatan antar-perlakuan dibandingkan dengan kontrol pada perlakuan B2 sebesar 26%, S2 sebesar 23%, M2 sebesar 15% dan BSM2 sebesar 10%. Hasil pengamatan intensitas penyakit ini dapat dilihat pada Gambar 3 dimana terlihat variasi gejala yang dihasilkan tanaman tembakau yang diamati pada 12 HSI.

Penurunan insidensi dan intensitas penyakit mosaik tembakau yang diaplikasi dengan agens hayati tunggal maupun kombinasi disebabkan oleh kemampuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza memicu peningkatan aktivitas enzim peroksidase yang berperan dalam sistem pertahanan tanaman. Menurut Ross (1961), agens hayati telah banyak digunakan sebagai bahan penginduksi ketahanan tanaman salah satunya dari kelompok *Bacillus* yang pertama kali diteliti pada tahun 1961 dengan pra-inokulasi tanaman tembakau dengan TNV (*Tobacco necrosis virus*). Putri *et al.* (2015) melaporkan bahwa aplikasi *Streptomyces* spp. pada tanaman cabai dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan secara nyata dan menekan perkembangan penyakit daun keriting kuning cabai yang disebabkan oleh *Begomovirus*. Imron *et al.* (2015) dalam penelitiannya melaporkan bahwa inokulasi jamur mikoriza arbuskular (JMA) pada tanaman cabai dapat menunda munculnya gejala penyakit daun keriting kuning cabai.

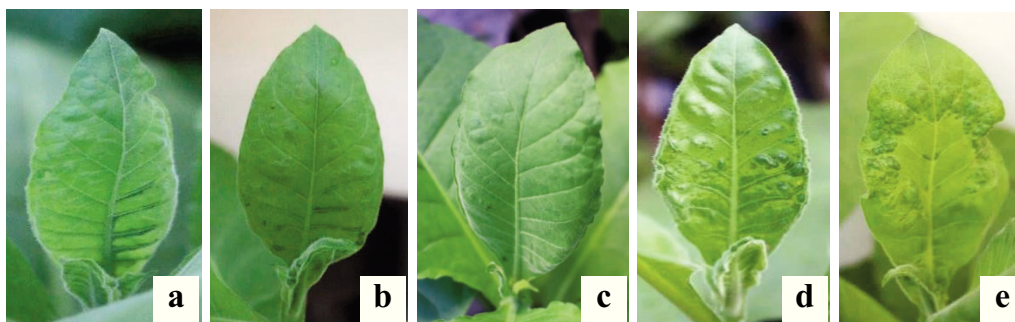
### **Aktivitas Enzim Peroksidase**

Aktivitas enzim peroksidase pada tanaman tembakau sebelum dan setelah inokulasi dengan Tobamovirus pada berbagai perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap tanaman tembakau yang diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara tunggal dibandingkan dengan perlakuan kombinasi ketiganya dan juga kontrol. Persentase peningkatan enzim peroksidase tertinggi terjadi pada tanaman tembakau yang diberi perlakuan





Gambar 2. Perkembangan penyakit mosaik tembakau (a. Insidensi penyakit; b. Intensitas penyakit) pada berbagai perlakuan [keterangan: tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, diinokulasi *Tobamovirus* (K2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (B2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (S2); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi *Tobamovirus* (M2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (BSM2)]



Gambar 3. Variasi gejala mosaik daun tembakau pada 12 hari setelah inokulasi (HSI) pada berbagai perlakuan; (a) perlakuan *Bacillus* spp.; (b) perlakuan *Streptomyces* spp.; (c) perlakuan Mikoriza; (d) perlakuan kombinasi ketiganya; (e). kontrol

Mikoriza sebesar 39,27 %, *Bacillus* spp. 20,65 %, *Streptomyces* spp. 11,10 %. Sedangkan pada tanaman tembakau yang diberi perlakuan kombinasi dan kontrol, terjadi penurunan aktivitas enzim peroksidase (Tabel 1).

Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Taufik *et al.* (2005) dilaporkan tanaman cabai yang diberi perlakuan PGPR dan diinokulasi virus menyebabkan peningkatan konsentrasi asam salisilat dan peroksidase bila dibandingkan dengan tanaman cabai tanpa PGPR dan tanpa inokulasi virus. Demikian pula tanaman cabai yang diinokulasi dengan CMV atau ChiVMV setelah diberi perlakuan PGPR mengalami peningkatan konsentrasi asam salisilat dan peroksidase bila dibandingkan dengan tanaman cabai yang diberi perlakuan PGPR dan tetapi tidak diinokulasi virus.

#### Analisis Pita Protein Tanaman dengan SDS-PAGE

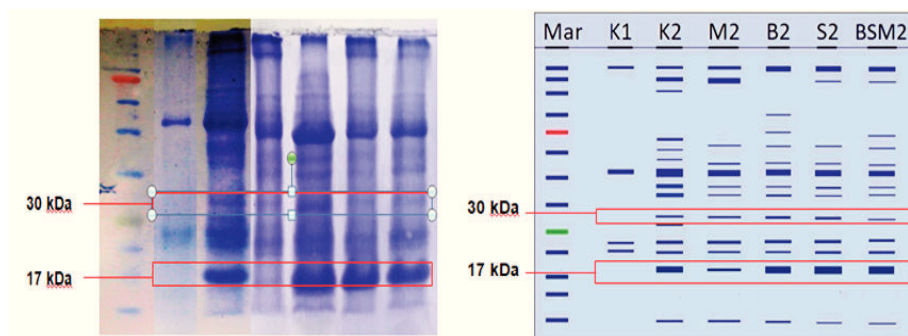
Hasil elektroforesis dengan pewarnaan *comsie blue* pada deteksi ini berhasil memvisualisasikan adanya berbagai ukuran dan jumlah pita protein (*band*) pada tanaman tembakau pada berbagai perlakuan (Gambar 4). Dari hasil tersebut terlihat adanya perbedaan yang jelas jumlah dan ukuran pita protein antara tembakau sehat dan tembakau terinfeksi *Tobamovirus* pada berbagai perlakuan. Hal ini diduga sebagai tanggapan tanaman tembakau pada saat terjadi infeksi patogen berupa protein-protein asing yang berperan dalam respons ketahanan tanaman.

Dari berbagai ukuran pita protein tersebut, ditemukan adanya pita sekitar 17 kDa dan 30 kDa yang ditemukan pada sampel-sampel tanaman tembakau sakit (K2, M2, B2, S2, BSM2) dan tidak ditemukan pada sampel tembakau sehat (K1) dengan

Tabel 1. Konsentrasi enzim peroksidase pada berbagai perlakuan tanaman tembakau yang diukur 25 jam sebelum dan 120 jam setelah inokulasi *Tobamovirus*

Perlakuan	Rata-rata konsentrasi enzim peroksidase (menit <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> )		Peningkatan enzimperoksidase (%)
	Sebelum diinokulasi <i>Tobamovirus</i>	Setelah diinokulasi <i>Tobamovirus</i>	
<i>Bacillus</i> spp. (B)	1,066 b	1,286 b	20,65
<i>Streptomyces</i> spp. (S)	1,139 a	1,266 c	11,10
Mikoriza (M)	0,992 c	1,382 a	39,27
Kombinasi (BSM)	0,881 e	0,654 e	-25,79
Kontrol (K)	0,902 d	0,862 d	-4,44

Keterangan: Data yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT dengan taraf kepercayaan 95 %.



Gambar 4. Hasil visualisasi pita protein daun tembakau pada berbagai perlakuan dengan menggunakan SDS-PAGE; tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (K1); tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, diinokulasi *Tobamovirus* (K2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (B2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (S2); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi *Tobamovirus* (M2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (BSM2)]

ketebalan yang berbeda-beda. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Spitsin *et al.* (1999) dimana TMV yang termasuk kedalam kelompok Tobamovirus memiliki ukuran mantel protein (*coat protein*) sekitar 17,5 kDa, protein ini merupakan satu-satunya protein struktural TMV yang diperlukan untuk membungkus genom virus pada inang yang terinfeksi. Protein 30 kDa merupakan salah satu protein nonstruktural yang digunakan sebagai protein gerak (*movement protein*) yang diperlukan untuk mentransfer RNA virus dari sel ke sel (Meshi *et al.*, 1987). Dari hasil tersebut dapat dilihat perbedaan ketebalan pita protein yang diperoleh. Perbedaan ketebalan pita protein yang diperoleh, diduga disebabkan oleh perbedaan konsentrasi virus yang ada pada tanaman terinfeksi *Tobamovirus*. Terdapatnya perbedaan pola pita pada tanaman sakit dan tanaman sehat dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk mendeteksi keberadaan *Tobamovirus* pada tanaman.

#### **Pengaruh Agens Hayati terhadap Pertumbuhan Tanaman Tembakau**

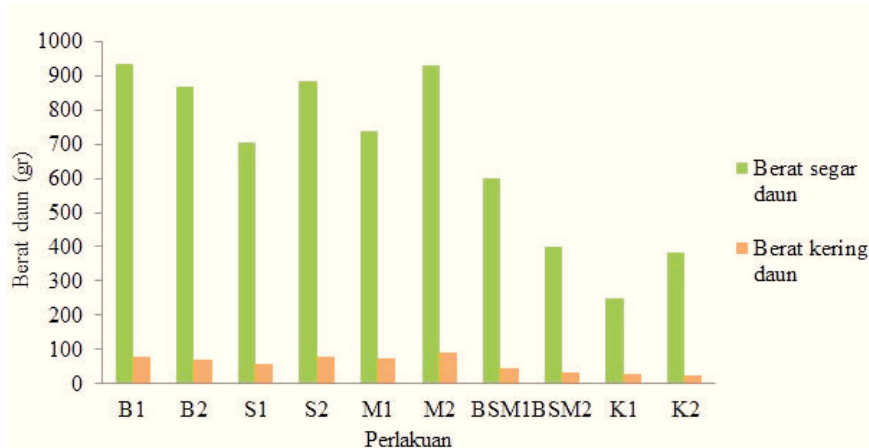
Aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara tunggal berpengaruh nyata dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman tembakau dibandingkan dengan kontrol pada berbagai parameter agronomi, meliputi tinggi tanaman 53,71%, jumlah daun 57%, diameter batang 29,40%, panjang akar 60,77% (Tabel 2), berat segar daun mencapai 196,90% dan berat kering daun mencapai 265,31% (Gambar 5). Adanya pengaruh pemberian agens hayati secara tunggal terhadap seluruh parameter agronomi tanaman tembakau disebabkan oleh kemampuannya secara langsung sebagai *biostimulant* dan *biofertilizer*. Sebagai *biostimulant* dengan memproduksi fitohormon. Menurut Dewi (2008), fitohormon di dalam tanaman berupa *Indole-3-acetic acid* (IAA), sitokinin, dan giberelin akan meningkatkan jumlah dan ukuran sel yang secara bersama-sama dengan hasil fotosintesis

Tabel 2. Pengaruh aplikasi agens hayati terhadap pertumbuhan tanaman tembakau pada berbagai perlakuan pada 9 minggu setelah tanam.

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun	Diameter batang (cm)	Panjang akar (cm)
B1	109,2 ab	27,5 a	9,41 ab	31,47 a
B2	109,9 ab	27,5 a	9,02 abc	30,729 a
S1	92,5 cd	27,5 a	8,8 bcd	27,943 ab
S2	97,2 bc	27,7 a	9,24 abc	27,871 ab
M1	114,1 a	26,3 a	9,58 ab	24,571 abc
M2	107,1 ab	27,6 a	9,99 a	26,914 ab
BSM1	86,0 cde	22,9 b	8,11 cde	21,0 bcd
BSM2	81,0 def	22,9 b	7,65 e	14,829 d
K1	73,1 ef	22,9 b	7,57 e	19,057 cd
K2	71,5 f	22,6 b	7,72 de	19,114 cd

Keterangan: 1. Data yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT dengan taraf kepercayaan 95%.

2. Tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (K1); tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, diinokulasi *Tobamovirus* (K2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (B1); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (B2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (S1); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (S2); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi *Tobamovirus* (M1); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi *Tobamovirus* (M2); tanaman tembakau, diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (BSM1); tanaman tembakau yang diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (BSM2).



Gambar 5. Pengaruh aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara tunggal maupun kombinasi terhadap berat segar dan berat kering daun tembakau; tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (K1); tanaman tembakau tanpa PGPR/PGPF, diinokulasi *Tobamovirus* (K2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (B1); tanaman tembakau diberi perlakuan *Bacillus* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (B2); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (S1); tanaman tembakau diberi perlakuan *Streptomyces* spp., diinokulasi *Tobamovirus* (S2); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi *Tobamovirus* (M1); tanaman tembakau diberi perlakuan Mikoriza, diinokulasi *Tobamovirus* (M2); tanaman tembakau, diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (BSM1); tanaman tembakau yang diberi perlakuan *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., Mikoriza, tanpa diinokulasi *Tobamovirus* (BSM2)]

meningkatkan dan mempercepat proses pertumbuhan tanaman. Sebagai *biofertilizer*, meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman, salah satunya dengan melarutkan fosfat. Menurut Thakuria *et al.* (2004), kemampuan PGPR dan PGPF dalam melarutkan fosfat yang ada di sekitar perakaran dapat membantu meningkatkan persediaan fosfat yang akan digunakan untuk pertumbuhan tanaman.

Aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara kombinasi kurang memberikan hasil yang baik terhadap intensitas penyakit mosaik tembakau maupun terhadap pertumbuhan tanaman. Hal ini mengindikasikan bahwa ketiga agens hayati tersebut tidak kompatibel untuk digunakan secara bersamaan. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Kavatagi dan Lakshman (2014), yang melaporkan

bahwa aplikasi kombinasi JMA dengan PGPR akan berinteraksi sinergis untuk merangsang pertumbuhan tanaman dan secara signifikan dapat meningkatkan panjang akar, berat akar segar, berat kering akar, bobot segar tunas, berat kering tunas, jumlah daun, dan biomassa tunas dan akar tomat.

## KESIMPULAN

Aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza pada tanaman tembakau yang diinokulasi *Tobamovirus* dapat menekan insidensi dan intensitas penyakit mosaik. Induksi ketahanan tanaman tembakau terhadap *Tobamovirus* karena adanya peningkatan aktivitas enzim peroksidase. Analisis protein dengan SDS-PAGE, diperoleh perbedaan jumlah dan ukuran pita protein pada tanaman tembakau yang diinokulasi *Tobamovirus* dengan tanaman yang tidak diinokulasi *Tobamovirus* pada berbagai perlakuan. Aplikasi *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., dan Mikoriza secara tunggal berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman tembakau yang terinfeksi *Tobamovirus* pada parameter tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, panjang akar, berat segar dan berat kering daun tembakau.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Naskah ini disusun berdasarkan sebagian data dari tesis penulis pertama. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Erna Anastasia selaku Kepala Penelitian Tembakau PTPN X serta seluruh staf Pusat Penelitian Tembakau Klaten yang telah memberikan fasilitas dan benih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*, 5<sup>th</sup>ed, Elsevier. Academic Press, New York. 272 p.
- Chittoor, J.M., J.E. Leach, & White, F.F. 1997. Differential Induction of a Peroxidase Gene Family during Infection of Rice by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10: 861–871.
- Dewi, I.R. 2008. *Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman*. [http://repository.unpad.ac.id/2326/1/makalah\\_fitohormon.pdf](http://repository.unpad.ac.id/2326/1/makalah_fitohormon.pdf). diakses 20/11/2017. 43 hlm.
- Endarsih, W., S. Hartono, & S. Sulandari. 2017. Perbaikan Metode Ekstraksi dsRNA Virus secara Sederhana untuk RT-PCR Tiga Virus Tumbuhan. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 21: 106–113.
- Faizah, R., Sriani S, M. Syukur, & S.H. Hidayat. 2012. Ketahanan Biokimia Tanaman Cabai terhadap Begomovirus Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 8: 138–144.
- Gall, O., G.A. Medgyesi, & L. Vereskey. 1980. *Electrophoresis in the Separation of Biological Macromolecules*. John Wiley & Sons. New York. 422 p.
- Imron, M., Suryanti, & S. Sulandari. 2015. Peranan Mikoriza Arbuskular terhadap Perkembangan Penyakit Daun Keriting Kuning Cabai. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 19: 94–98.
- Kavatagi, P.K., & H.C Lakshman. 2014. Interaction between AMF and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Two Varieties of *Solanum lycopersicum* L.. *World Applied Sciences Journal* 32: 2054–2062.
- Marlina, Susanna, & C.M.F. Kausa. 2010. Kemampuan Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) dalam Menekan Perkembangan *Colletotrichum capsici* Penyebab Antraknosa pada Cabai Merah (*Capsicum annum* L.). *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains* 12: 37–42.
- Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J.P. Mettraux, & G. Defago. 1994. Induction of Systemic Resistance of Tobacco to *Tobacco necrosis virus* by the Root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* Strain CHA0: Influence of the *gacA* Gene and Pyoverdine Production. *Phytopathology* 84: 139–146.
- Meshi, T., Y. Watanabe, T. Saito, A. Sugimoto, T. Maede, & Y. Okada. 1987. Function of the 30 kd Protein of *Tobacco mosaic virus*: Involvement in Cell-to-cell Movement and Dispensability for Replication. *EMBO Journal* 6: 2557–2563.
- Murphy, J.F., G.W. Zehnder, D.J. Schuster, E.J. Sikora, J.E. Polston, & J.W. Kloepper. 2000. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Mediated Protection in Tomato against *Tomato mottle virus*. *Plant Disease* 84: 779–784.
- Putri, R.A., S. Sulandari, & T. Arwiyanto. 2015. *Pengaruh Aplikasi Streptomyces spp. terhadap Penyakit Kuning, Pertumbuhan, dan Produksi Tanaman Cabai Besar*. Skripsi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 55 hlm.
- Raupach, G.S. & J.W. Kloepper, 1998. Mixture of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Biological Control of Multiple Cucumber Pathogens. *Phytopathology* 88: 1158–1164.
- Ross, A.F. 1961. Localized Acquired Resistance to Plant Virus Infection in Hypersensitive Hosts. *Virology* 14: 340–358.



- Ryu, C.M., J.F. Murphy, M.S. Reddy, & J.W. Kloepper. 2007. A Two Strain Mixture of Rhizobacteria Elicits Induction of Systemic Resistance against *Pseudomonas syringae* and *Cucumber mosaic virus* Coupled to Promotion of Plant Growth on *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 17: 280–286.
- SAS Institute. 1990. SAS User's Guide, version 6.0. NC: SAS Institute, Cary.
- Semangun, H. 2006. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 754 hlm.
- Spitsin, S., K. Steplewski., N. Fleysh, H. Belanger, T. Mikheeva, S. Shivprasad, W. Dawson, H. Koprowski, & V. Yusibov. 1999. Expression of *Alfalfa mosaic virus* Coat Protein in *Tobacco mosaic virus* (TMV) Deficient in the Production of its Native Coat Protein Supports Long-Distance Movement of a Chimeric TMV. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 2549–2553.
- Taufik, M., S.H. Hidayat, G. Suastika, S.M. Sumaraw, & S. Sujiprihati. 2005. Kajian *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* sebagai Agens Proteksi *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* pada Cabai. *Hayati* 12: 139–144.
- Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswani, S. Hazarika, R.C. Boro, & M.R. Khan. 2004. Characterization and Screening of Bacteria from Rhizosphere of Rice Grown in Acidic Soils of Assam. *Current Science* 86: 978–985.
- Walters, D.R, J. Ratsep, & N.D. Havis. 2013. Controlling Crop Disease Using Induced Resistance: Challenges for the Future. *Journal of Experimental Botany* 64: 1263–1280.
- Zehnder, G.W., C. Yao, J.F. Murphy, E.R. Sikora, & J.W. Kloepper. 2000. Induction of Resistance in Tomato against *Cucumber mosaic cucumovirus* by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Bio Control* 45: 127–137.
- Zen, K., R. Setiamiharja, Murdaningsih, & T. Suganda. 2002. Aktivitas Enzim Peroksidase pada Lima Genotip Cabai yang Mempunyai Ketahanan Berbeda terhadap Penyakit Antraknosa. *Zuriat* 13: 97–105.