

## **Pengaruh Waktu Inokulasi dan Jumlah Inokulum Terhadap Patogenisitas *Phytophthora nicotianae* pada Bibit Tembakau**

**Nurul Hidayah dan Titiek Yulianti**

Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat  
Jl. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang 65152  
E-mail: balittas@litbang.deptan.go.id

Diterima: 3 Agustus 2010

disetujui: 4 September 2010

### **ABSTRAK**

Waktu inokulasi yang tepat serta jumlah inokulum yang digunakan merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan inokulasi buatan yang lazim dilakukan dalam pengujian ketahanan suatu varietas terhadap patogen tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu inokulasi dan jumlah inokulum *Phytophthora nicotianae* yang paling efektif untuk dapat menimbulkan gejala penyakit lanas pada bibit tembakau. Penelitian dilaksanakan di laboratorium dan rumah kaca Fitopatologi Balittas, Malang pada bulan Juli– Oktober 2006. Metode penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor, yaitu umur bibit saat inokulasi (faktor I), terdiri dari tiga tingkat yaitu: 1) bibit berumur 5 minggu setelah se-mai (mss), 2) bibit berumur 6 mss dan 3) bibit berumur 7 mss dan jumlah inokulum (faktor II), terdiri dari 4 tingkat yaitu: 1) tanpa inokulum (kontrol), 2) 1.350–2.400 zoospora/bibit, 2) 2.700–4.800 zoospora/bibit, dan 4) 5.400–9.600 zoospora/bibit. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang 3 kali. Pengamatan dilakukan pada masa inkubasi dan kejadian penyakit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa masa inkubasi penyakit dipengaruhi oleh umur bibit saat inokulasi. Bibit yang lebih muda mempunyai masa inkubasi lebih cepat yakni 4,5 hari dibandingkan dengan bibit yang lebih tua. Kejadian penyakit tertinggi yaitu sebesar 56,9% terjadi pada saat bibit diinokulasi berumur 5 mss dengan jumlah inokulum 1.350–2.400 zoospora/bibit.

Kata kunci: Tembakau, *Nicotiana tabacum*, lanas, *Phytophthora nicotianae*

## **Effect of Time of Inoculation and Inoculum Density on Pathogenicity of *Phytophthora nicotianae* on Tobacco Seedling**

### **ABSTRACT**

Suitable time of inoculation and inoculum density are factors to determine the success of artificial inoculation to evaluate of resistant level of plant variety to pathogen. The aim of this research was to study the appropriate time of inoculation and inoculum density of *Phytophthora nicotianae*, the causal agent of black shank and damping off on tobacco seedling. The research was conducted in Phytopathology laboratory and screen house of IToFCRI Malang from July-October 2006. This research was arranged in complete randomized design which consisted two factors and three replicates. The first factor was comprised of three times of inoculation, and the second was the density of *P. nicotianae* inoculum. The parameters observed were incubation period and disease incidence. The result showed that the incubation period was affected by the age of seedling when it was inoculated. The younger seedling was more susceptible than the older one. The high disease incidence (56.9%) was reached when the seedling five weeks old and inoculated by inoculum contained of 1,350–2,400 zoospores/seedling.

Keywords: Tobacco, *Nicotiana tabacum*, black shank, *Phytophthora nicotianae*

## PENDAHULUAN

**P**ENYAKIT lanas yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora nicotianae* vBdH var *nicotianae* Waterhouse merupakan salah satu penyakit utama hampir di seluruh sentra pengembangan tembakau di Indonesia. Infeksi jamur pada tanaman terutama yang terjadi saat tanaman masih muda (bibit), akan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman tersebut. Gejala penyakit lanas yang terjadi di pembibitan adalah daun berwarna kuning, layu, kemudian menjadi busuk cokelat yang akhirnya pembibitan tampak seperti disiram air panas. Penyakit lanas di pembibitan akan cepat meluas sehingga mengakibatkan kerusakan pada bibit (Semangun, 1996).

*P. nicotianae* menyerang tembakau pada semua umur dan semua bagian tanaman, bahkan dapat mengakibatkan tanaman tidak dapat berproduksi. Kerugian karena penyakit lanas bukan hanya menyebabkan berkurangnya produksi, namun juga dapat menurunkan kualitas hasil (Erwin, 2000). Tingkat kerusakan akibat infeksi suatu patogen pada tanaman ditentukan oleh banyak faktor, di antaranya adalah umur tanaman serta banyaknya inokulum yang menginfeksi. Inokulum adalah bagian patogen yang dapat memulai infeksi. Pada jamur, inokulum dapat berupa spora, sklerotium, atau bagian-bagian miselium. Makin banyak jumlah inokulum, makin berat pula penyakit dan kerusakan yang ditimbulkannya (Agrios, 1997).

Informasi yang tepat mengenai waktu inokulasi dan jumlah inokulum yang diperlukan untuk menimbulkan gejala penyakit pada tanaman sangat diperlukan dalam kegiatan pengujian ketahanan suatu varietas terhadap patogen. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pada umur berapa bibit tembakau rentan terhadap infeksi *P. nicotianae* dan dengan jumlah inokulum berapakah *P. nicotianae* mampu menginfeksi tembakau. Dengan demikian diharapkan dapat memberikan informasi tentang waktu inokulasi yang tepat dan jumlah inokulum yang diperlukan untuk dapat menimbulkan gejala penyakit pada tanaman

yang nantinya bermanfaat dalam kegiatan pengujian ketahanan varietas tanaman terhadap patogen.

## BAHAN DAN METODE

### Penyediaan Isolat Jamur *P. nicotianae*

Untuk mendapatkan biakan jamur *P. nicotianae*, tanaman tembakau yang menunjukkan gejala lanas diambil dari pertanaman tembakau di daerah Jember pada musim tanam tahun 2006. Pangkal batang yang sakit dipotong  $\pm$  5 mm pada bagian yang sakit dan sehat. Setelah itu potongan tersebut disterilisasi dalam larutan kloroks 1,25% selama satu menit, lalu dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali selama satu menit, kemudian ditiriskan di atas kertas saring steril. Setelah kering, potongan batang tembakau tersebut ditanam pada cawan petri yang telah berisi media *Corn Meal Agar* (CMA) dan diinkubasi selama 4–5 hari pada suhu 18–21°C sampai muncul koloni jamur. Koloni jamur yang tumbuh diamati secara mikroskopis dan diidentifikasi berdasarkan kunci determinasi Barnett dan Hunter (1995) untuk memastikan bahwa koloni jamur tersebut adalah *P. nicotianae*. Selanjutnya koloni jamur *P. nicotianae* dimurnikan dan diperbanyak untuk dipergunakan dalam penelitian ini.

### Persiapan Media Tanam dan Pembibitan

Media tanam yang digunakan adalah tanah dan kompos dengan perbandingan (1:1). Tanah dan kompos dimasukkan kantong plastik kemudian diletakkan dalam drum yang telah diisi air dan dipanaskan sehingga uap air panasnya memanasi tanah tersebut selama dua jam. Proses sterilisasi ini dilakukan selama tiga hari berturut-turut. Selanjutnya media tanam yang sudah steril dimasukkan pada *tray* dan diletakkan dalam rumah kaca.

Sebelum disemai, benih direndam terlebih dahulu selama 5 hari sampai berkecambah. Selanjutnya benih disemai pada *tray* berkapasitas 80 lubang tanam yang telah diisi me-

dia tanam steril. Bibit dipelihara sampai dengan tiga minggu setelah semai dan disisakan satu bibit per lubang *tray*.

### **Pembuatan Suspensi Jamur *P. nicotianae***

Inokulum *P. nicotianae* yang diperbanyak pada media CMA diinkubasikan pada suhu  $\pm 23^{\circ}\text{C}$  selama 14 hari. Suspensi *P. nicotianae* dibuat dengan menambahkan 10 ml akuades steril pada tiap petri biakan *P. nicotianae* kemudian dihaluskan menggunakan blender dan dikocok sampai homogen. Selanjutnya dihitung jumlah zoosporanya di bawah mikroskop dengan menggunakan haemasitometer.

### **Inokulasi Jamur *P. nicotianae***

Varietas tembakau yang digunakan dalam penelitian ini adalah H382. Varietas ini termasuk varietas yang rentan terhadap *P. nicotianae*. Bibit yang diperlakukan dengan inokulum *P. nicotianae* adalah bibit yang sudah dipelihara dan disisakan satu tanaman per lubang *tray*. Bibit tembakau yang sudah disiapkan, dilukai dengan menggunakan *cutter* pada pangkal batangnya, kemudian diinokulasi dengan suspensi jamur *P. nicotianae*. Inokulasi dilakukan sesuai dengan perlakuan masing-masing. Perlakuan terdiri atas dua faktor, yakni faktor pertama adalah waktu inokulasi (I) yang terdiri atas tiga level, yaitu

- I1: waktu inokulasi pada bibit berumur 5 minggu setelah semai (mss)
- I2: waktu inokulasi pada bibit berumur 6 minggu setelah semai (mss)
- I3: waktu inokulasi pada bibit berumur 7 minggu setelah semai (mss)

dan faktor kedua adalah jumlah inokulum (J) yang terdiri atas empat level, yaitu

- Jo: tanpa diberi inokulum sebagai kontrol
- J1: jumlah inokulum 1.350–2.400 zoospora/bibit
- J2: jumlah inokulum 2.700–4.800 zoospora/bibit
- J3: jumlah inokulum 5.400–9.600 zoospora/bibit

Tiap perlakuan terdiri atas 40 bibit/ulangan. Penelitian disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dan diulang sebanyak tiga kali.

### **Pengamatan**

Pengamatan dilakukan pada masa inkubasi dan kejadian penyakit lanas. Masa inkubasi diamati setiap hari sejak hari pertama setelah inokulasi sampai timbulnya gejala. Penghitungan kejadian penyakit dilakukan dengan mencatat jumlah bibit yang bergejala lanas kemudian dihitung berdasarkan rumus Abadi (2000) sebagai berikut:

$$I = \frac{a}{b} \times 100\%$$

I = Kejadian penyakit

a = Jumlah bibit yang sakit

b = Jumlah bibit yang diinokulasi

### **Analisa Data**

Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji F taraf 5% dan apabila didapatkan data yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5%.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Masa Inkubasi**

Masa inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan oleh jamur *P. nicotianae* untuk menimbulkan gejala pertama pada tanaman sejak dilakukannya inokulasi. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa waktu inokulasi pada berbagai umur bibit berpengaruh nyata terhadap masa inkubasi penyakit lanas, tetapi jumlah inokulum tidak berpengaruh nyata (Tabel 1). Inokulasi saat bibit berumur 5 mss memiliki masa inkubasi paling cepat yaitu 4,5 hari dan ini berbeda nyata dengan inokulasi saat bibit berumur 6 dan 7 mss yakni masing-masing selama 8,7 dan 8,1 hari. Hal ini menunjukkan bahwa bibit yang masih muda lebih rentan terhadap infeksi patogen.

Hasil penelitian Elena (2000) menunjukkan bahwa timbulnya gejala awal pada tanaman tembakau dan tomat yang diinokulasi oleh

*P. nicotianae* yang ditandai dengan terjadinya nekrosis pada pangkal batang, dimulai pada hari ketiga sampai dengan keenam setelah inokulasi. Perbedaan masa inkubasi tersebut disebabkan karena perbedaan umur tanaman waktu diinokulasi. Fraser (1983) mengemukakan bahwa umur tanaman yang berbeda akan menyebabkan perbedaan kepekaan tanaman terhadap infeksi patogen. Abadi (2000) menyatakan bahwa ketahanan tanaman dipengaruhi oleh umur tanaman dan pada tanaman yang lebih tua akan lebih tahan terhadap infeksi penyakit dibandingkan dengan tanaman yang lebih muda. Hal ini dikarenakan, saat tanaman masih muda batangnya masih sukulen jadi lebih mudah diinfeksi oleh patogen.

Tabel 1. Rerata masa inkubasi (hari) pada berbagai umur bibit tembakau

Perlakuan	Rerata masa inkubasi (hari) <sup>1)</sup>
Umur bibit waktu inokulasi (mss)	
5	4,5 a
6	8,7 b
7	8,1 b
BNJ 5%	5,21
Jumlah inokulum (zoospora/bibit)	
0	0
1 350–2 400	9,9
2 700–4 800	9,8
5 400–9 600	8,7
	tn

1) Angka yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata pada uji BNJ 5%.

0= bibit tidak bergejala.

tn= tidak nyata

### Kejadian Penyakit Lanas

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa waktu inokulasi dan jumlah inokulum berpengaruh nyata terhadap kejadian penyakit lanas dan kejadian penyakit tertinggi (53,9–56,9%) terjadi pada bibit yang diinokulasi 1.350–2.400 zoospora/bibit pada umur 5 mss (Tabel 2).

Tabel 2. Kejadian penyakit lanas (%) pada perlakuan umur bibit saat diinokulasi dan jumlah inokulum

Perlakuan	Rerata kejadian penyakit (%)
I1J0	0,00 a
I1J1	56,90 d
I1J2	56,70 d
I1J3	53,90 d
I2J0	0,00 a
I2J1	15,10 ab
I2J2	30,00 c
I2J3	31,00 c
I3J0	0,00 a
I3J1	22,00 bc
I3J2	24,60 bc
I3J3	24,00 bc

1) Angka yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata pada uji BNJ 5%.

2) I1= waktu inokulasi pada bibit berumur 5 mss, I2= waktu inokulasi pada bibit berumur 6 mss, I3= waktu inokulasi pada bibit berumur 7 mss; J0= tanpa inokulum (kontrol), J1= jumlah inokulum 1.350–2.400 zoospora/bibit, J2= jumlah inokulum 2.700–4.800 zoospora/bibit; J3= jumlah inokulum 5.400–9.600 zoospora/bibit.

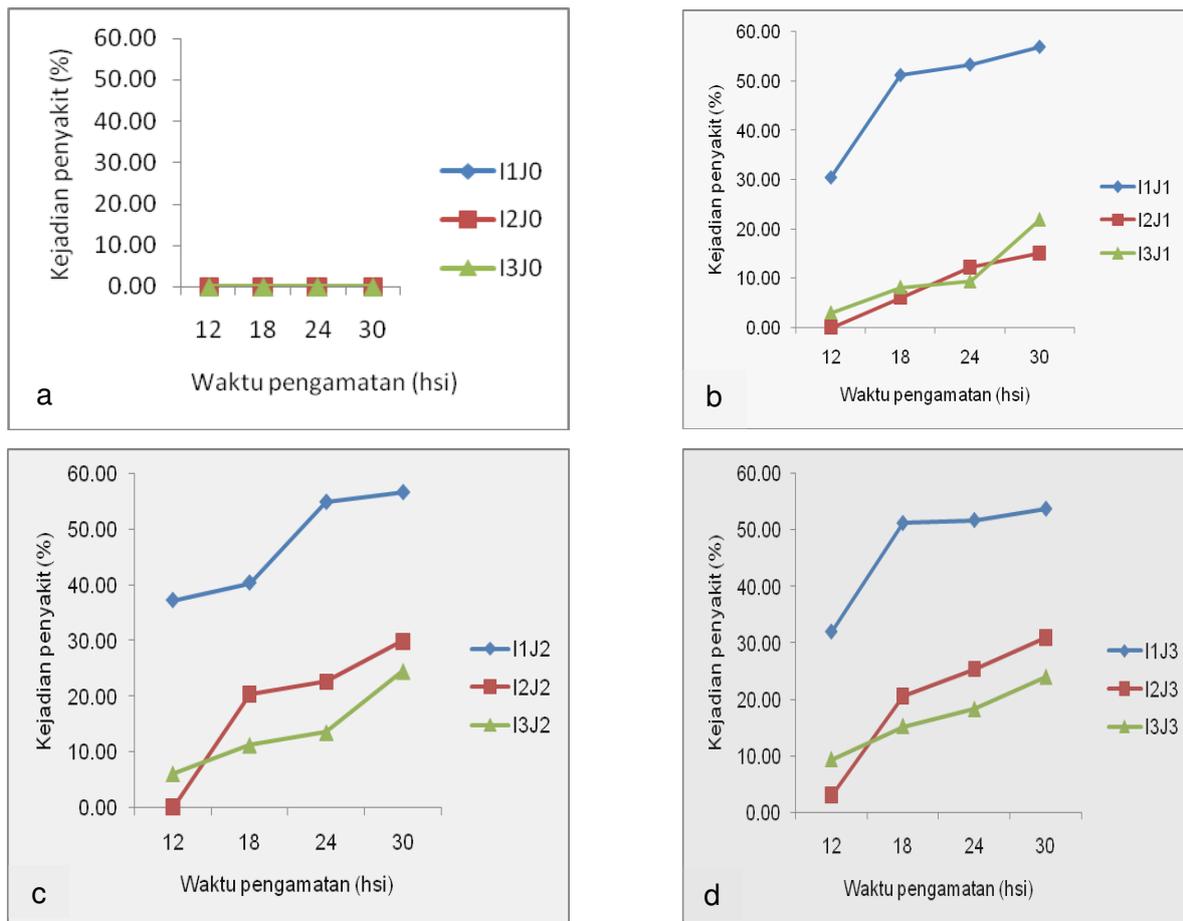
Kejadian penyakit lanas meningkat seiring dengan bertambahnya umur bibit. Namun kejadian penyakit tertinggi terjadi pada bibit yang saat diinokulasi berumur 5 mss dengan berbagai jumlah inokulum (Gambar 1). Elena (2000) mengemukakan bahwa bibit tembakau yang masih muda sangat rentan terhadap infeksi *P. nicotianae* yang mengakibatkan bibit menjadi layu dan rebah, sedangkan pada tanaman tembakau yang lebih dewasa serangan biasanya terjadi pada pangkal batang. Pada kultivar tanaman yang rentan, gejala penyakit pada tanaman dewasa adalah layu, daun-daunnya menjadi berwarna cokelat dan kering sehingga tidak laku dijual. Layu yang diakibatkan oleh *P. nicotianae* ini lebih cepat dan parah dibandingkan dengan kelayuan yang disebabkan oleh *Fusarium*. Sementara itu pada kultivar tanaman yang tahan, meskipun terjadi infeksi pada akar tetapi bagian daunnya

tetap hijau dan tidak terlihat adanya serangan patogen. Infeksi *P. nicotianae* ini akan menjadi lebih parah dengan keberadaan nematoda puru akar, bahkan kultivar yang resisten pun bisa berkurang ketahanannya apabila disertai dengan serangan nematoda puru akar (Shew, 1991).

Ini artinya, meskipun dengan jumlah inokulum yang sedikit *P. nicotianae* tetap mampu menginfeksi tanaman dan menyebabkan terjadinya penyakit. Sementara pada bibit yang diinokulasi saat umur 6 dan 7 mss kejadian penyakitnya lebih rendah dibandingkan dengan bibit yang diinokulasi pada umur 5 mss. Hal ini menunjukkan bahwa pada bibit yang masih muda lebih rentan terhadap infeksi patogen. Hal ini dikarenakan pada tanaman yang masih muda, struktur fisik tanaman lebih sukulen di-

bandingkan dengan tanaman yang sudah tua, begitu pula dengan aktivitas metabolisme dalam sel yang berguna untuk mengeliminir patogen yang masuk masih terbatas jumlah dan fungsinya sehingga memudahkan patogen untuk menginfeksi tanaman (Agrios, 1997). Hal inilah yang menyebabkan tanaman muda akan lebih cepat terinfeksi oleh patogen dibandingkan tanaman yang lebih tua.

Gallup *et al.* (2006) mengemukakan bahwa penyakit lanas berkembang dengan cepat terutama saat tanaman masih muda yakni berupa bibit karena batangnya yang masih lunak sehingga memudahkan patogen untuk menginfeksi. Selanjutnya penyakit akan berkembang di pembibitan sampai dengan bibit berumur 6–7 minggu (Anonim, 2010).



Gambar 1. Perkembangan kejadian penyakit *P. nicotianae* pada bibit tembakau yang diinokulasi pada umur I1= 5 mss, I2= 6 mss, dan I3= 7 mss dengan jumlah inokulum a) J0= 0 zoospora/bibit, b) J1= 1.350–2.400 zoospora/bibit, c) J2= 2.700–4.800 zoospora/bibit, d) J3= 5.400–9.600 zoospora/bibit

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan varietas H382 dapat disimpulkan bahwa bibit tanaman tembakau yang masih muda (umur 5 mss) lebih rentan terhadap infeksi *P. nicotianae* dengan masa inkubasi selama 4,5 hari. Inokulasi dengan menggunakan jumlah inokulum yang paling rendah (1.350–2.400 zoospora/bibit) sudah dapat menimbulkan penyakit lanas pada bibit tembakau berumur 5 mss dengan tingkat kejadian penyakit mencapai 56,92%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A.L. 2000. Epidemiologi dan strategi penyakit tumbuhan. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Agrios, G.N. 1997. Plant pathology. Ed.ke-4. Academic Press, New York.
- Anonim. 2010. Tobacco disease management. [www.ikisan.com/links/ap.tobaccoDisease%20management.shtml](http://www.ikisan.com/links/ap.tobaccoDisease%20management.shtml).
- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1995. Illustrated genera of imperfect fungi. Ed. Ke-4. Burgess Publishing Company, Minnesota
- Elena, K. 2000. Pathogenicity of *Phytophthora nicotianae* isolates to tobacco and tomato cultivars. *Phytopathol. Mediterr.* 39:245–250.
- Erwin. 2000. Hama dan penyakit tembakau deli. Balai Penelitian Tembakau Deli PTP Nusantara II (Persero), Medan.
- Fraser, R.S.S. 1983. Mechanism involved in genetically controlled resistance and virulence to plant disease. Martinus Nijhoof, Netherland.
- Gallup, C.A., M.J. Sullivan, and H.D. Shew. 2006. Black shank of tobacco. [www.Blackshank.aspx.htm](http://www.Blackshank.aspx.htm).
- Semangun, H. 1996. Penyakit-penyakit tanaman perkebunan di Indonesia. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Shew, H.D. 1991. Black shank. p. 17–20. *In* Compendium of tobacco diseases. Shew, H.D. and Lucas E.D., editor. APS Press, St. Paul Minnesota, USA.