

**TEKNIK INOKULASI *Ralstonia solanacearum* UNTUK PENGUJIAN KETAHANAN NILAM
TERHADAP PENYAKIT LAYU**
*Inoculation techniques of Ralstonia solanacearum for patchouli resistance
screening against wilt disease*

Sri Yuni Hartati dan Nuri Karyani

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010
balittro@litbang.pertanian.go.id

(diterima 02 April 2014, direvisi 16 Mei 2014, disetujui 31 Juli 2014)

ABSTRAK

Salah satu kendala dalam melakukan uji ketahanan tanaman nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *Ralstonia solanacearum* adalah inokulasi *R. solanacearum* secara buatan pada tanaman nilam yang dilakukan di rumah kaca, seringkali tidak menunjukkan gejala layu yang khas seperti yang terjadi di lapangan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan suatu metode inokulasi *R. solanacearum* yang tepat untuk pengujian ketahanan tanaman nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum*. Penelitian dilaksanakan di rumah kaca, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, tahun 2010. Tiga varietas nilam (Sidikalang, Lohkseumawe, dan Tapaktuan), tiga isolat *R. solanacearum* (T1083, T1085, dan T1086), dan empat konsentrasi inokulum (10^6 , 10^7 , 10^8 , dan 10^9 cfu ml⁻¹), telah diuji pengaruhnya terhadap efektivitas dari tiga metode inokulasi *R. solanacearum* (penyiraman, penyiraman dengan pelukaan akar, dan pelukaan batang dengan tusuk jarum). Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode inokulasi penyiraman dengan pelukaan akar paling tepat untuk digunakan dalam pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum*. Metode tersebut bersifat semi alami, efektif dalam menimbulkan gejala layu pada nilam, dan stabil, tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan. Varietas Sidikalang paling tahan dibanding Lohkseumawe dan Tapaktuan serta dapat membedakan tingkat patogenisitas isolat *R. solanacearum* yang diuji. Oleh karena itu, dapat digunakan untuk uji patogenisitas isolat *R. solanacearum*. Isolat (T1083) lebih patogenik dibanding (T1085) dan (T1086), sehingga dapat digunakan untuk pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu.

Kata kunci: *Ralstonia solanacearum*, teknik inokulasi, ketahanan nilam, penyakit layu

ABSTRACT

One of the constrains in patchouli resistance screening and pathogenicity testings of R. solanacearum isolates, are patchouli plants inoculated with R. solanacearum under a glass house condition often do not produce specific wilt symptom as is shown in the fields. The aim of this research was to obtain a suitable inoculation method of R. solanacearum for patchouli resistance screening and pathogenicity testings of R. solanacearum isolates. Experiment was conducted under a glass house condition at Indonesian Spice and Medicinal Crops Research Institute, Bogor in 2010. Three patchouli varieties (Sidikalang, Lohkseumawe, and Tapaktuan), three isolates of R. solanacearum (T1083, T1085, and T1086), and four inoculum concentrations (10^6 , 10^7 , 10^8 , dan 10^9 cfu ml⁻¹) were evaluated their effects on the effectiveness of three inoculation methods (drenching, drenching with root wounding, and stem wounding with needle puncture). The result showed that the drenching with root wounding inoculation method, was the most appropriate for patchouli resistance screening and pathogenicity testing of R. solanacearum isolates. This method was semi natural, effective in producing wilt symptom on patchouli, stable (do not affected by inoculums concentration). Sidikalang was the most resistant than Lohkseumawe and Tapaktuan varieties. This variety could differ the pathogenicity of R. solanacearum isolates, therefore, it is suitable for pathogenicity testing of R. solanacearum isolates. The isolate of T1083 was more virulent than T 1085 and T1086, therefore it is appropriate for patchouli resistance screening against wilt disease.

Key words: *Ralstonia solanacearum*, inoculation technique, patchouli resistance, wilt disease

PENDAHULUAN

Layu bakteri merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman nilam yang seringkali menjadi penyebab hilangnya produksi. Penyakit tersebut disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* (Asman *et al.*, 1998; Mathew *et al.*, 1994; Peng *et al.*, 2012;) yang dapat menyerang nilam secara massal, mulai dari bibit sampai tanaman dewasa (Nasrun *et al.*, 2009).

R. solanacearum merupakan patogen tular tanah mampu bertahan hidup dalam jangka waktu yang cukup lama pada kondisi tanpa adanya tanaman inang. Bakteri tersebut juga mempunyai lebih dari 200 jenis tanaman inang dari 54 famili, yang dapat memperpanjang kemampuan bertahan hidupnya (Allen *et al.*, 2005; Chandrashekar *et al.*, 2012; Elphinstone, 2005; Hayward, 1991; Hussain *et al.*, 2005; Siri *et al.*, 2011). Oleh karena itu, penyakit layu bersifat endemik dan cepat berkembang serta menyebar dari tanaman yang terinfeksi ke tanaman lainnya dan dari suatu daerah ke daerah disekitarnya.

Pada saat ini penyakit layu telah tersebar luas di hampir seluruh pertanaman nilam di Indonesia, seperti di Daerah Istimawa Aceh, Sumatera Barat, Sumatera Utara, Bengkulu, Jawa Timur, Jawa Tengah, Jawa Barat, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan (Wahyuno *et al.*, 2011).

Penyakit layu pada nilam sampai saat ini belum dapat dikendalikan secara tuntas. Hal ini karena sifat ekobiologi patogennya yang sangat kompleks (Akiew, 1986; Chandrashekar *et al.*, 2012; French, 1986; Hayward, 1991). Padahal, penggunaan varietas tahan merupakan cara yang diharapkan dapat mengendalikan penyakit tersebut (Nasrun dan Nuryani, 2007; Nasrun *et al.*, 2009). Pengembangan varietas tahan memerlukan waktu yang cukup lama dan pengujiannya seringkali menghadapi beberapa kendala.

Pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum* yang dilakukan di rumah kaca, seringkali memberikan hasil yang kurang memuaskan. Tanaman yang diinokulasi *R. solanacearum* kadang-kadang hanya mengalami khlorosis dan tidak menunjukkan gejala layu yang khas seperti yang terjadi di lapangan. Hal tersebut sering menyebabkan keraguan dan menjadi kendala. Oleh karena itu, dalam melakukan uji ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum* diperlukan suatu metode inokulasi yang tepat, stabil, efektif dan dapat menghasilkan gejala layu. Selain itu, untuk pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu diperlukan suatu isolat *R. solanacearum* yang patogenik dan konsentrasi inokulum yang cukup untuk menimbulkan infeksi pada tanaman. Sedang untuk uji patogenisitas isolat *R. solanacearum* diperlukan suatu varietas nilam yang dapat membedakan tingkat patogenisitas dari isolat-isolatnya.

Ada beberapa metode inokulasi buatan yang sering digunakan dalam pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum*. Metode inokulasi tersebut diantaranya adalah penyiraman (P), penyiraman dengan pelukaan akar (PLA), dan pelukaan batang dengan tusuk jarum (LBTJ). Ketiga metode inokulasi tersebut mempunyai efektivitas yang bervariasi tergantung atas kondisi lingkungan, serta faktor-faktor dari tanaman dan patogennya. Menurut Agrios (2005), Akiew (1986), Krausz dan Thurston (1975), proses infeksi suatu patogen dan perkembangan suatu penyakit sangat dipengaruhi oleh banyak faktor seperti suhu, kelembapan udara, intensitas cahaya, konsentrasi inokulum dan isolat patogennya, individu, umur, dan varietas tanaman, serta faktor-faktor genetik lainnya. Faktor-faktor tersebut juga akan mempengaruhi efektivitas metode inokulasi *R. solanacearum* yang digunakan dalam penelitian.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh varietas tanaman, asal isolat, dan konsentrasi inokulum terhadap efektivitas metode inokulasi *R. solanacearum* pada tanaman nilam. Dengan demikian akan diperoleh suatu metode inokulasi yang tepat, stabil, dan efektif yang dapat direkomendasikan untuk digunakan dalam uji ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum* di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor, Jawa Barat, tahun 2010. Bahan tanaman yang digunakan adalah benih/setek nilam varietas Sidikalang, Lohseumawe, dan Tapaktuan. Tiga isolat *R. solanacearum* yang digunakan diisolasi dari nilam sakit, yaitu dua isolat (T1083 dan 1085) dari Bogor dan satu isolat (T1086) dari Garut, Jawa Barat. Ketiga isolat tersebut merupakan koleksi dari Laboratorium Penyakit Tanaman, Balitro. Media sukrose pepton agar (SPA) digunakan dalam penelitian untuk pemurnian dan perbanyakkan *R. solanacearum*.

Penyiapan benih nilam

Benih nilam yang digunakan merupakan hasil perbanyakkan setek pucuk satu ruas yang ditanam pada campuran media tanah dan pupuk kandang steril dengan perbandingan (2:1) di dalam polibag. Setek nilam yang baru ditanam disungkup dengan gelas plastik tembus cahaya selama 1-2 minggu. Setelah benih nilam tumbuh sehat dan cukup kuat, sungkupnya dibuka. Benih yang digunakan dalam penelitian adalah yang seragam dan sehat.

Penyiapan inokulum *R. solanacearum*

Isolat *R. solanacearum* ditumbuhkan, dimurnikan, dan diperbanyak pada media SPA. Isolat umur dua hari yang telah murni disuspensikan dengan air steril dan diukur kepadatan populasinya dengan spektrofotometer

berdasarkan nilai *Optical Density* (OD). Kepadatan populasi diatur sehingga mempunyai nilai OD sebesar (0,001; 0,01; 0,1; dan 1,0), yang berturut-turut konsentrasinya setara dengan (10^6 , 10^7 , 10^8 , dan 10^9 cfu (*colony form unit*) ml⁻¹). Inokulum *R. solanacearum* disiapkan langsung sebelum inokulasi dengan konsentrasi yang diatur sesuai keperluan.

Uji efektivitas metode inokulasi

Benih nilam varietas Sidikalang umur dua bulan yang ditanam di polibag diinokulasi isolat *R. solanacearum* (T1083) dengan berbagai konsentrasi inokulum (10^6 , 10^7 , 10^8 , dan 10^9 cfu ml⁻¹). Inokulasi dilakukan dengan menggunakan metode penyiraman (P), penyiraman dengan pelukaan akar (PLA), dan pelukaan batang dengan tusuk jarum (LBTJ).

Metode P dilakukan dengan menyiramkan inokulum *R. solanacearum* pada tanah di sekitar perakaran nilam (Dianese *et al.*, 1990) sebanyak 100 ml tanaman⁻¹. Metode PLA dilakukan seperti metode P, namun sebagian akar nilam pada kedua sisi batang dipotong dengan pisau sebelum tanaman diinokulasi *R. solanacearum* (Dianese *et al.*, 1990; Ozaki and Kimura, 1989 dalam Ozaki and Watabe, 2009). Metode inokulasi LBTJ dilakukan dengan meletakkan 1-2 tetes inokulum *R. solanacearum* pada pangkal batang nilam yang sebelumnya diolesi vaselin untuk menahan inokulum agar tidak mengalir pada waktu ditetaskan. Selanjutnya pada tetesan inokulum tersebut, batang nilam ditusuk dengan jarum steril agar inokulum masuk ke dalam jaringan tanaman (Hunt *et al.*, 1987; Li *et al.*, 2005; Winstead and Kelman, 1952). Benih nilam yang telah diinokulasi, dipelihara di rumah kaca.

Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap secara faktorial dengan dua faktor (cara inokulasi dan konsentrasi inokulum *R. solanacearum*). Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali dengan 10 tanaman ulangan⁻¹.

Uji ketahanan varietas nilam dan virulensi isolat *R. solanacearum*

Tiga varietas nilam (Sidikalang, Lokhseumawe, dan Tapaktuan) umur dua bulan yang ditanam di polibag diuji ketahanannya terhadap tiga isolat *R. solanacearum* (T1083, T1085, dan T1086). Inokulasi dilakukan dengan metode penyiraman dengan pelukaan akar (PLA) sebanyak 100 ml tanaman⁻¹. Konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan adalah (10⁸ cfu ml⁻¹). Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap secara faktorial dengan dua faktor (isolat *R. solanacearum* dan varietas nilam). Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali dengan 10 tanaman ulangan⁻¹. Tanaman yang telah diinokulasi dipelihara di rumah kaca.

Pengamatan kejadian penyakit

Parameter yang diamati adalah awal munculnya gejala layu, jumlah tanaman yang mati akibat infeksi *R. solanacearum*. Perkembangan penyakit layu diamati setiap hari, berturut-turut selama 14 hari. Pengamatan dilanjutkan seminggu sekali. Tingkat kelayuan tanaman diberi nilai skor atau skala seperti yang digunakan oleh Winstead dan Kelman (1952), sebagai berikut:

Skala 0 = Tanaman sehat (tidak ada gejala layu)

Skala 1 = Satu daun layu

Skala 2 = Dua daun atau lebih layu

Skala 3 = Semua daun layu kecuali daun pucuk

Skala 4 = Tanaman layu

Skala 5 = Tanaman mati

Intensitas penyakit ditentukan berdasarkan persentase tanaman yang mati akibat infeksi *R. solanacearum* dalam masing-masing perlakuan. Selanjutnya dihitung dengan rumus yang digunakan oleh Ayana *et al.* (2011).

$$I = \frac{\text{Jumlah tanaman yang mati}}{\text{Jumlah tanaman yang diamati dalam perlakuan}} \times 100\%$$

Keterangan/Note:

I = Intensitas penyakit(%) / Disease intensity (%)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektivitas metode inokulasi *R. solanacearum*

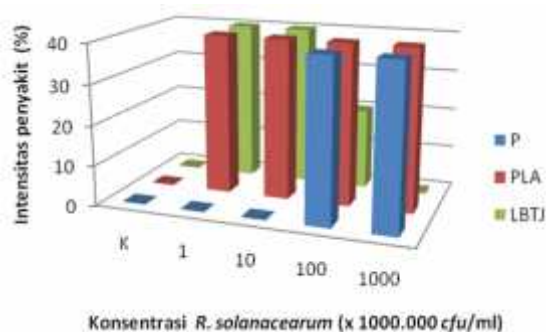
Tanaman nilam varietas Sidikalang yang diinokulasi isolat *R. solanacearum* (T1083) dengan konsentrasi inokulum (10⁶, 10⁷, 10⁸, dan 10⁹ cfu ml⁻¹) menggunakan metode P, PLA, dan LBTJ, beberapa diantaranya menjadi layu dan mati. Kematian tanaman mulai terjadi pada hari kelima setelah tanaman diinokulasi dengan isolat *R. solanacearum*. Hasil reisolasi bakteri pada media SPA dari beberapa sampel tanaman yang bergejala layu telah diperoleh koloni bakteri yang mempunyai ciri-ciri morfologi yang serupa *R. solanacearum*. Hal ini mengindikasikan bahwa gejala layu dan kematian nilam yang terjadi merupakan akibat dari infeksi *R. solanacearum*.

Masa inkubasi penyakit layu pada nilam yang diinokulasi *R. solanacearum* bervariasi, tergantung pada metode inokulasi yang digunakan. Nilam yang diinokulasi dengan metode LBTJ menggunakan konsentrasi inokulum *R. solanacearum* rendah sampai tinggi pada umumnya menjadi layu dan mati lebih awal (kurang dari satu minggu setelah inokulasi) dibandingkan dengan yang diinokulasi dengan metode PLA (1-2 minggu) dan P (lebih dari dua minggu). Sementara tanaman nilam muda di lapang yang terinfeksi pada umur 1-3 bulan pada umumnya akan mati dalam waktu 1-2 minggu. Sedang yang terinfeksi pada umur 4-5 bulan, akan mati dalam waktu 4-8 minggu.

Masa inkubasi penyakit layu selain dipengaruhi oleh metode inokulasi juga dipengaruhi oleh banyak faktor, yang salah satunya adalah tingkat ketahanan dari tanamannya. Hasil penelitian Hussain *et al.* (2005) menunjukkan bahwa periode inkubasi penyakit layu pada tanaman terung lebih panjang pada tanaman yang lebih tahan dibandingkan pada tanaman yang rentan.

Secara umum terindikasi bahwa metode inokulasi LBTJ dan PLA yang dilakukan di rumah kaca pada nilam umur dua bulan dapat mengakibatkan kematian tanaman dalam waktu kurang lebih sama dengan waktu yang diperlukan untuk infeksi *R. solanacearum* secara alami di lapangan. Sedang metode inokulasi P mengakibatkan kematian tanaman yang lebih lama dibandingkan dengan yang terjadi di lapangan.

Efektivitas metode inokulasi LBTJ dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan. Metode inokulasi LBTJ yang menggunakan inokulum *R. solanacearum* konsentrasi rendah (10^6 dan 10^7 cfu ml⁻¹) lebih efektif dalam menimbulkan gejala layu dibanding yang konsentrasi tinggi (10^8 dan 10^9 cfu ml⁻¹) (Gambar 1) Hal tersebut kemungkinan karena konsentrasi inokulum yang tinggi akan lebih cepat menguap dan menjadi kering. Akibatnya sel-sel bakteri lebih cepat lisis dan mati sebelum menginfeksi jaringan tanaman.



Keterangan/Note:

K : Kontrol/Control.

P : Penyiraman inokulum/Drenching.

PLA : Penyiraman dengan perlakuan akar/Drenching with root wounding.

LBTJ : Pelukaan batang dengan ditusuk jarum/Stem wounding with needle puncture.

Gambar 1. Intensitas penyakit layu pada varietas nilam Sidikalang, tiga bulan setelah diinokulasi *R. solanacearum* (isolat T1083) dengan tiga metode inokulasi P, PLA, dan LBTJ.

Figure 1. Wilt disease intensity on Sidikalang patchouli variety, three months after inoculation of *R. solanacearum* (T1083 isolate) by using three different inoculation techniques (P, PLA, and LBTJ).

Hasil penelitian ini juga mengindikasikan bahwa efektivitas metode inokulasi P juga

dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan. Metode inokulasi P yang menggunakan inokulum konsentrasi tinggi (10^8 dan 10^9 cfu ml⁻¹) efektif menimbulkan gejala layu, namun yang konsentrasi inokulumnya rendah (10^6 dan 10^7 cfu ml⁻¹) tidak efektif dan seringkali hanya menyebabkan gejala klorosis pada nilam yang diinokulasi.

Sebaliknya efektivitas metode inokulasi PLA tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan. Metode inokulasi PLA baik yang menggunakan konsentrasi inokulum rendah (10^6 dan 10^7 cfu ml⁻¹) maupun tinggi (10^8 dan 10^9 cfu ml⁻¹) efektif menimbulkan gejala layu. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode PLA lebih stabil dibandingkan dengan metode LBTJ dan P.

R. solanacearum yang diinokulasikan dengan metode LBTJ dapat secara langsung menginfeksi, berkembang, dan menyumbat jaringan pembuluh batang dan akar nilam yang mengakibatkan tanaman menjadi lebih cepat layu dan mati. Metode tersebut bersifat tidak alami dan gejala layu yang ditimbulkan seringkali lebih parah, karena luka buatan dengan tusukan jarum yang sering mengakibatkan batang menjadi rusak dan patah. *R. solanacearum* yang diinokulasikan dengan metode PLA juga dapat secara langsung menginfeksi tanaman melalui luka buatan pada akar yang dipotong sebelum inokulasi. Metode PLA selain efektif juga stabil (tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan). Pada metode PLA yang bersifat semi alami, proses infeksi bakterinya hampir mirip dengan yang terjadi di alam. Sedangkan *R. solanacearum* yang diinokulasikan dengan metode P akan menginfeksi tanaman hanya melalui bulu-bulu akar dengan melalui dinding sel dan melalui lubang alami seperti stomata. Selain itu juga melalui luka mekanik, karena serangan nematoda dan serangga, atau luka karena penyebab lainnya (Chandrashekara et al., 2012; Siri et al., 2011). Walaupun metode inokulasi P bersifat paling alami dibandingkan dengan metode LBTJ dan PLA,

namun metode P kurang efektif dan tidak stabil.

Menurut Mehan *et al.* (1986), adanya perbedaan respon tanaman terhadap penyakit disebabkan oleh adanya variasi virulensi diantara isolat-isolat patogennya, tekanan inokulum, dan metode inokulasi yang digunakan. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa konsentrasi inokulum merupakan salah satu komponen yang dapat berpengaruh terhadap keberhasilan infeksi *R. solanacearum* dan efektivitas metode inokulasi yang digunakan. Efektivitas metode inokulasi PLA tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum*. Sebaliknya efektivitas metode inokulasi LBTJ dan P dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang digunakan. Dengan demikian metode PLA paling stabil dibandingkan dengan metode LBTJ dan P.

Untuk melakukan pengujian ketahanan tanaman terhadap suatu penyakit, sebaiknya menggunakan metode inokulasi yang bersifat lebih alami, agar infeksi patogen dan perkembangan penyakitnya terjadi seperti kondisi di lapang. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari ketiga metode inokulasi yang diuji, maka metode PLA paling tepat untuk digunakan dalam pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenesis isolat *R. solanacearum*. Metode tersebut juga telah terbukti cukup efektif untuk inokulasi *R. solanacearum* pada tanaman kentang (Thera, 2007) dan pada tanaman tomat serta tembakau (Winstead and Kelman, 1952).

Ketahanan varietas nilam dan virulensi isolat *R. solanacearum*

Jumlah tanaman yang layu dan mati pada nilam varietas Sidikalang yang diinokulasi *R. solanacearum* (T1083) lebih banyak dibanding yang diinokulasi isolat (T1085). Sedang tanaman yang diinokulasi isolat (T1086) semuanya sehat (Gambar 2). Hal ini menunjukkan adanya variasi virulensi diantara ketiga isolat *R. solanacearum* tersebut. Isolat (T1083) lebih virulen dibanding (T1085) dan (T1086), sehingga isolat (T1083) paling baik untuk membedakan tingkat ketahanan

varietas nilam.

Variasi virulensi diantara ketiga isolat *R. solanacearum* yang diuji terlihat lebih jelas pada varietas Sidikalang, namun varietas Sidikalang tidak dapat digunakan untuk membedakan tingkat virulensi dari ketiga isolat *R. solanacearum* yang diuji.

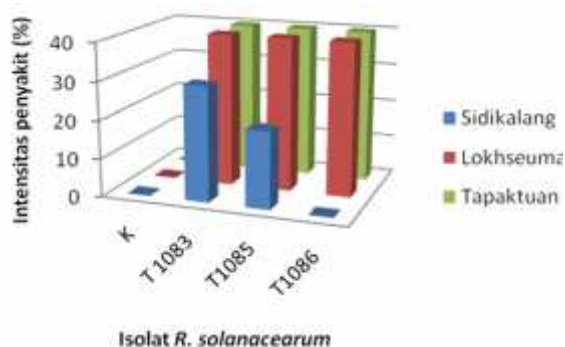
R. solanacearum mempunyai keragaman genetik yang sangat luas berdasarkan jenis tanaman inang, penyebaran geografis, hubungan epidemiologi, dan sifat-sifat fisiologinya. Oleh karena itu, di alam dikenal adanya beberapa strain atau ras, biovar, dan patovar (Agrios, 2005; Buddenhagen, 1986; French, 1986; Hayward, 1991; Rodrigues *et al.*, 2011; Siri *et al.*, 2011).

R. solanacearum juga mempunyai keragaman virulensi diantara isolatnya, seperti yang ditunjukkan oleh *R. solanacearum* pada tanaman kentang (Siri *et al.*, 2011), pada tanaman *Strelitzia reginae* (Rodrigues, 2011), dan *R. syzygii* pada cengkeh. Tingkat virulensi *R. solanacearum* tersebut berhubungan erat dengan kejadian penyakit layu dan tingkat keparahannya di lapangan. Menurut Chandrashekara *et al.* (2012), tingkat virulensi *R. solanacearum* lebih berperan dalam menimbulkan gejala layu dari pada kepadatan populasinya, sedangkan mekanisme virulensinya berhubungan erat dengan beberapa faktor, seperti kisaran inang, sebaran geografi, sifat fisiologi, dan daya adaptasinya terhadap suhu lingkungan (Cellier and Prior, 2010; Milling *et al.*, 2009).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketiga varietas nilam yang diuji (Sidikalang, Lohseumawe, dan Tapaktuan) mempunyai respon yang bervariasi terhadap ketiga isolat *R. solanacearum* (T1083 dan T1085) dari Bogor dan (T1086) dari Garut, Jawa Barat. Varietas Sidikalang menunjukkan lebih tahan dibandingkan dengan Lohseumawe dan Tapaktuan. Varietas Lohseumawe dan Tapaktuan mempunyai respon yang sama terhadap ketiga isolat *R. solanacearum* tersebut. Uji ketahanan varietas nilam yang dilakukan sebelumnya oleh Nasrun *et al.* (2004)

menunjukkan bahwa varietas Sidikalang juga mempunyai respon yang lebih toleran dibandingkan dengan varietas Cisaroni, Lokal Ciamis, Lohseumawe, dan Tapaktuan terhadap isolat *R. solanacearum* yang berasal dari daerah Sumatera Barat. Dengan demikian Sidikalang merupakan varietas nilam yang lebih toleran terhadap penyakit layu bakteri dibandingkan dengan varietas-varietas lainnya tersebut di atas

Menurut Hanson *et al.* (1996) dan Hussain *et al.* (2005), tingkat ketahanan tanaman dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah suhu dan kelembapan udara. Oleh karena itu, respon tanaman terhadap isolat-isolat *R. solanacearum* seringkali berbeda pada lokasi yang berbeda.



Gambar 2. Intensitas penyakit layu pada tiga jenis varietas nilam, tiga bulan setelah diinokulasi *R. solanacearum* menggunakan metode penyiraman dengan pelukaan akar (PLA).

Figure 2. Wilt disease intensity on three different pachouli varieties, three months after *R. solanacearum* inoculation using a drenching following root wounding methode (PLA).

KESIMPULAN DAN SARAN

Metode inokulasi dengan penyiraman melalui pelukaan akar (PLA) efektif menimbulkan gejala layu dan stabil (tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum *R. solanacearum*) yang digunakan. Metode tersebut bersifat semi alami, sehingga dapat direkomen-dasikan untuk digunakan dalam pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum*. Varietas Sidikalang paling tahan

dibanding Lohseumawe dan Tapaktuan. Isolat *R. solanacearum* T 1083 lebih virulen dibandingkan dengan T 1085 dan T 1086.

Varietas nilam, asal isolat, dan konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang merupakan komponen perlakuan yang diuji, berperan terhadap keberhasilan infeksi *R. solanacearum* pada tanaman nilam. Komponen tersebut juga berpengaruh terhadap efektivitas metode inokulasi *R. solanacearum* yang digunakan. Oleh karena itu, dalam melakukan uji ketahanan nilam dan uji patogenisitas isolat *R. solanacearum*, komponen uji perlu diperhatikan, agar efektivitas metode inokulasi yang digunakan dapat dioptimalkan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Supriadi, atas masukan, saran, dan koreksinya terhadap naskah ini. Terimakasih juga diucapkan kepada Sugianto, Asep, dan semua pihak yang telah membantu dalam melaksanakan penelitian baik di laboratorium, rumah kaca, maupun di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

Agrios GN. 2005. Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. 922 p.

Akiew EB. 1986. Influence of soil moisture and temperature on the persistence of *Pseudomonas solanacearum*. In G.J. Persley (ed.). ACIAR Proceeding No. 13: 77-79.

Allen C, P Prior, and AC Hayward. 2005. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul USA. American Phytopathological Society. pp. 9-28.

Asman A, EM Adhi, dan D Sitepu. 1998. Penyakit layu, budok, dan penyakit lainnya serta strategi pengendaliannya. Monograf Nilam. Badan Litbang Pertanian. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. hlm. 84-88.

Ayana G, C Fininsa, S Ahmed, and K Wydra. 2011. Effects of soil amendment on bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and tomato yields in Ethiopia. *Journal of Plant Protection Research*. 51

- (1): 72-76.
- Buddenhagen IW. 1986. Bacterial wilt revisited. In G. J. Persley (Ed.). Bacterial wilt disease in Asia and The South Pasific. ACIAR Proceeding. 13: 126-143.
- Cellier G and P Prior. 2010. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *Phytopathology*. 11: 1250-1261.
- Chandrashekara KN, MKP Kumar, and S Saroja. 2012. Aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* isolates on tomato. *Journal of Experimental Science*. 3(9): 05-09.
- Dianese JC, MC Dristig, and AP Cruz. 1990. Susceptibility to wilt associated with *Pseudomonas solanacearum* among six species of *Eucalyptus* growing in equatorial Brazil. *Australian Plant Pathology*. 19: 71-76.
- Elphinstone JG. 2005. The current bacterial wilt situation: a global overview. In Allen, C., P. Prior, A.C. Hayward (Eds.). Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul USA. American Phytopathological Society. pp. 9-28.
- French ER. 1986. Interaction between strains of *Pseudomonas solanacearum* its hosts and the environment. In G. J. Persley (ed.). ACIAR Proceeding. 13: 99-104.
- Hanson PM, JF Wang, O Licardo, Hanudin, SY Mah, GL Hartman, YC Lin, and JT Chen. 1996. Variable reaction of tomato lines to bacterial wilt evaluated at several locations in south East Asia. *Hort. Sci*. 31: 143-146.
- Hayward AC. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Review of Phytopathology*. 29: 65-87.
- Hunt P, CPA Bennett, H Syamsu, and E Nurwenda. 1987. Sumatra disease in cloves induced by a xylem-limited bacterium following mechanical inoculation. *Plant Pathology*. 36: 154-163.
- Hussain MZ, MA Rahman, and MA Bashar. 2005. Screening of brinjal accessions for bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Bangladesh J. Bot*. 34(1): 55-58.
- Krausz J and HD Thurston. 1975. Breakdown of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in tomato. *Phytopathology*. 65: 1272-1274.
- Li QQ, JX Feng, JL Tang, W Lin, CJ Duan, YF Ye, and K Luo. 2005. *Siraita grosvenorii* (Luo Han Guo, Cucurbitaceae) is a new host of *Ralstonia solanacearum* in China. *New Disease Report. Plant Pathology*. 54: 811.
- Mathew J, SK Mathew, VV Radhakrishnan, and S Beena. 1994. Bacterial wilt of patchouli (*Pogostemon patchouli* L.) caused by *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith. *Bacterial Wilts Newsletter*. No. 11. 10 p.
- Mehan VK, D McDonald, and P Subrahmanyam. 1986. Bacterial wilt of groundnut: control with emphasis on host plant resistance. In. Persley, G.J. (Ed.). Bacterial wilt disease in Asia and South Pasific. ACIAR Proceedings. 13: 112-119.
- Milling A, F Meng, TP Denny, and C Allen. 2009. Interactions with hosts at cool temperatures, not cold tolerance, explain the unique epidemiology of *Ralstonia solanacearum* Race 3, Biovar 2. *Phytopathology*. 99: 1127-1134.
- Nasrun, Y Nuryani, Hobir, dan Refiany. 2004. Seleksi ketahanan varian nilam terhadap penyakit layu bakteri. *Prosiding Seminar Ekspose Teknologi Gambir, Kayumanis, dan Atsiri. Puslitbangbun*. hlm. 115-120.
- Nasrun, Nurmansyah, dan H Idris. 2009. Evaluasi ketahanan hibrida somatik nilam terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*). *Jurnal Litri*. 15(3): 110-115.
- Nasrun dan Y Nuryani. 2007. Penyakit layu bakteri pada nilam dan strategi pengendaliannya. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 26(1): 9-15.
- Ozaki K and H Watabe. 2009. Bacterial wilt of *Geranium* and *Portulaca* caused by *Ralstonia solanacearum* in Japan. *Bul. Minamikyushu Univ*. 39 A: 67-71.
- Peng L, ZH Cang, WX Xing, WZ Yuan, HH Ho, WY Xin, MZ Chao, and HY Qiu. 2012. First record and description of *Ralstonia solanacearum* wilt in patchouli from Yunnan Province, China. *Indian Fitopathology*. 65(2): 208-2010.
- Rodrigues LMR, AL Suzete, D Fano, MCT Diniz, R Comparoni, and JLR Neto. 2011. Pathogenicity of Brazilian strain of *Ralstonia solanacearum* in *Strelitzia reginase* seedlings. *Tropical Plant Pathol.*

36(6): 409-413.

Siri MI, A Sannabria, and MJ Pianzola. 2011. Genetic diversity and aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* strains causing bacterial wilt of potato in Uruguay. The American Phytopathological Society. *Plant Disease*. 95(10): 1292-1301.

Thera AT. 2007. Bacterial wilt management : A prerequisite for a potato seed certification in Mali. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science in Plant Pathology. Montana State University, Bozeman, Montana. 61 pp.

Wahyuno D, SY Hartati, SR Djiwanti, R Noveriza, dan Sukamto. 2011. Penyakit penting pada tanaman nilam dan usaha pengendaliannya. *Di dalam: Supriadi, M. Rizal, D. Wahyuno, editor Bunga Rampai Nilam*. Badan Litbang Pertanian, Puslitbangbun, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. hlm. 66-110.

Winstead NN and A Kelman. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*. 42 (11): 628-634.

