

PERANAN EKSTRASELULER POLISAKARIDA PADA BAKTERI *Ralstonia solanacearum* PENYEBAB PENYAKIT LAYU

Rustum

ABSTRACT

The Role of Extracellular Polysaccharide of *Ralstonia solanacearum* for Causing Wilt Disease. Rustam. *Ralstonia solanacearum* is main bacteria caused of wilt disease on many plants. Bacteria infect the plant through wound or root tissues then penetrate to vascular tissue, invasion, multiplication and attack cell wall with releasing large extracellular polysaccharide (EPS) molecules. The EPS compound is acidic polysaccharide, rich nitrogen compounds and particularly important in virulence. The production of EPS is genetic and influenced by environment factors. The EPS is not essential for root invasion. It is important for rapid wilting and killing of the host plant and enhances rapid systemic colonization on plant tissues. The EPS produced in xylem vessel can occlude vessels, prevent water flow and finally wilt the plant.

Key words : extracellular polysaccharide, penyakit layu, *Ralstonia solanacearum*

PENDAHULUAN

Ralstonia solanacearum merupakan bakteri penyebab utama penyakit layu pada beberapa tanaman pangan, hortikultura, tanaman perkebunan. Bakteri tersebut mempunyai virulensi yang tinggi, bersifat polipag dan mampu bertahan di dalam tanah untuk waktu yang relatif lama sehingga usaha untuk pengendalian penyakit tersebut sering mengalami kesulitan (Hayward, 1991).

Patogen biasanya menginfeksi melalui luka pada jaringan akar. Kemudian masuk ke dalam jaringan pembuluh dan menyebar serta memperbarui diri dalam jaringan tersebut. Selanjutnya patogen merusak dinding sel dengan memproduksi enzim pektinesterase, selulase, protease dan senyawa ekstraseluler polisakarida (EPS) (Goto 1992; Hayward 1995).

Untuk terjadinya penyakit pada tanaman, patogen biasanya mensekresikan beberapa substansi utama, diantaranya: enzim, toksin, zat pengatur tumbuh, dan polisakarida. Dalam patogenisitas, peran masing-masing substansi tersebut bervariasi antar jenis penyakit. Sebagai contoh, polisakarida lebih berperan penting terjadinya penyakit layu.

Substansi polisakarida bakteri dapat berada dalam bentuk kapsul-kapsul yang kaku, dalam bentuk yang mudah mengalami perubahan, sebagai polimer yang larut atau tidak larut dalam air. Kedua bentuk tersebut dapat berada secara bersama-sama (Billing, 1985).

Senyawa EPS berperan dalam kelangsungan hidup (survival) bakteri di luar tanah dan di dalam jaringan tanaman, untuk melengketkan (chelating) logam-logam, penyerapan hara dan retensi air (Billing 1987). Menurut Denby dalam Denby et al. (1997) senyawa EPS tidak diperlukan untuk invasi akar, tapi penting untuk mempercepat kelayakan dan memasiktan tanaman inang yang rentan, serta mempercepat kolonisasi sistemik batang tanaman. Selain itu, senyawa EPS juga dapat menyumbat atau memacetkan (occlude) pembuluh dan mencegah aliran air.

20

Menurut Huang et al. 1995 dalam McGarvey et al. (1997), biosintesis dan perlengkapan "eksport" (export machinery) dari EPS dikode oleh operon eps 18 kb, yang diatur oleh suatu jaringan pengatur yang kompleks. PhcA merupakan pusat jaringan yang mengatur transkripsi bertipe LyR yang mempunyai pengaruh global. Inaktivasi PhcA berpengaruh besar terhadap pengurangan pembentukan EPS dan beberapa protein ekstraseluler, seperti beberapa enzim yang mendegradasi dinding sel.

Daur Penyakit

Bakteri *R. solanacearum* dapat bertahan dalam tanah dengan mempertahankan virulensnya selama paling sedikit satu tahun atau bertahan pada akar-akar yang basah dalam waktu yang lebih lama. Bakteri juga dapat terbawa bersama tanah yang dihantarkan air. Dari dalam tanah bakteri terutama menginfeksi melalui luka pada akar. Selain itu bakteri juga dapat masuk melalui stoma. Pada tanaman padi, bakteri dapat ditularkan oleh serangga melalui kepala putik saat pembuahan sehingga mencapai buah melalui saluran tangkai putik.

Setelah berada dalam tanaman, *R. solanacearum* bergerak dalam berkas pembuluh dan pergerakannya tersebut dipic平 oleh adanya salin tinggi. Kecepatan pergerakan bakteri dalam berkas pembuluh juga dipengaruhi oleh bagian tanaman yang dikoloniasi. Sebagai contoh, pada tanaman tembakau bakteri lebih cepat bergerak pada bagian batang/tungku dibandingkan pada bagian akar. Setelah masuk ke dalam jaringan pembuluh, bakteri menyebar dan memperbanyak diri atau berkoloniasi dalam jaringan tersebut, melekat pada dinding pembuluh dan merusak dinding sel atau lumen dengan memproduksi enzim pektinesterase, selulase, protease dan senyawa EPS (Goto, 1992; Hayward, 1995).

Ekstraseluler Polisakarida (EPS)

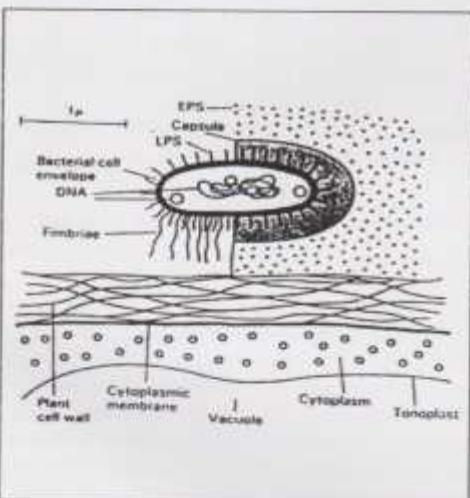
Menurut Goodman et al. (1986), pembentukan EPS adalah suatu sifat yang ditunjukkan dan pada strain-strain tertentu mungkin EPS tidak terbentuk namun kemudian EPS tersebut dapat terbentuk kembali. Hal ini dikarenakan pembentukan EPS juga sangat dipengaruhi oleh lingkungan tempat bakteri tumbuh. Sebagai contoh, peningkatan atau variasi sumber karbon dapat menyebabkan peningkatan yang signifikan dari pembentukan polisakarida.

Substansi polisakarida dapat berada dalam bentuk kapsul-kapsul yang kaku maupun yang dapat mengalami perubahan bentuk pada bakteri, atau sebagai polimer yang larut atau tidak larut dalam air. Kedua bentuk tersebut dapat berada secara bersama-sama.

Deskripsi kapsul suatu bakteri menurut Billing (1987), diantaranya suatu gel yang non-toksit, tebal, berkesinambungan (continuous), sangat teratur, dan terhidrasi, merupakan suatu jaringan dengan pori-pori dan saluran-saluran (channels), merupakan suatu saringan (sieve) molekul, dan merupakan suatu resin pertukaran ion (ion-exchange resin). Polisakarida ini memberikan bakteri berpermukaan yang hidrofilik, memberi suatu kemampuan untuk menuruh

lingkungan mikro dengan berbagai cara. Kapsul dengan sifat yang demikian ini dapat memperluas permukaan bakteri untuk aktivasi sel bakteri, tetapi difusi yang cepat tercegah terjadinya (karena merupakan suatu lapisan yang tidak diaduk), menurik dan mengkonsentrasiikan hara-hara serta memegang enzim-enzim ekstraseluler. Kapsul ini juga akan mengabsorbu dan mengikat air, sehingga dengan demikian menciptakan suatu buffer bagi sel bakteri terhadap hidrasi dan dehidrasi yang cepat, serta meningkatkan kemampuan hidup (survival) dari bakteri.

Selain dapat memfasilitasi perbanyakkan bakteri secara cepat, kapsul-kapsul EPS dapat memperteksi bakteri terhadap faktor-faktor penghambat, termasuk peptida berkation banyak, faktor-faktor yang mempunyai aktivitas pemukauan, ion-ion logam berat, antibiotika, bakteriofag dan bakteriosida (kasus penyakit malaria). Keberadaan dari faktor penghambat seperti itu kadang-kadang bisa menyebabkan mutaran pada suatu populasi bakteri yang akan mempunyai kapsul yang lebih kuat, sehingga akan lebih mampu mempertahankan hidupnya. Pada permukaan sel bakteri, EPS kemungkinan bisa membantu mengatasi gaya elektrostatis, sehingga akan membantu terjadinya initial binding (pengikatan awal), dan akhirnya juga akan membantu memperkuat pelengketan (adhesi) (Gambar 1).



Gambar 1. Posisi EPS pada komponen sel bakteri (Billing 1985)

Menurut McGarvey *et al.* (1997) bahwa EPS merupakan polisakarida bersifat asam yang kaya nitrogen, dapat dihasilkan oleh bakteri-patogen, misalkan *R. solanacearum* dalam jumlah berlebihan pada media biakan artifisial dan pada tanaman, EPS merupakan faktor virulensi yang paling utama disamping faktor virulensi lainnya, seperti enzim ekstraseluler endoglukturikase (EG) dan endopoligalakturonase yang bekerja pada dinding sel tanaman (Denny *et al.*, 1997).

Menurut Orgambide *et al.* dalam McGarvey *et al.* (1997), bahwa EPS terdiri dari unit yang berulang dari N-acetyl-galaktosamin, 2-n-acetyl-2-deoxy-L-galakturonat acid, dan 2-n-acetyl-4-N-(3-hidroxybutanoyl)-2,4,6-trideoxy D-glukosa.

Peranan EPS dalam Invasi dan Kolonisasi Tanaman

Menurut Billing (1987), bahwa *R. solanacearum* penyebab penyakit layu pembuluh dapat mengkoloniasi pembuluh silem dan memproduksi EPS, terutama patogen yang mengkoloniasi jaringan kortex (cortical tissue), kelayuan yang ditimbulkan berasosiasi dengan kerusakan-kerusakan nekrotik (necrotic lesion). Pada patogen layu pembuluh, kelayuan yang ditimbulkan bersifat eksstensif karena menjalar hingga diuar lokasi-lokasi koloniasi, dan tidak berasosiasi dengan nekrosis.

Menurut Husain dan Kelman dalam Goodman *et al.* (1986), bahwa perbedaan tingkat kelayuan yang disebabkan oleh *R. solanacearum* sangat diukur oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan EPS. Pada bakteri yang avirulen dihasilkan sedikit atau tidak ada sama sekali pembentukan EPS, sehingga tidak menyebabkan kelayuan. Dari tiga strain *R. solanacearum* dengan indeks pembentukan polisakarida (didasarkan pada viskositas relatifnya) yang berbeda memberikan indeks kelayuan yang sangat berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Viskositas relatif dan efek penyebab kelayuan filtrate biakan 3 strain *R. solanacearum*

Filtrat bakteri	Viskositas relatif ^{a)}	Indeks kelayuan ^{b)}
B-1 sangat virulen	80,0	5
B-1 patogen lemah	50,4	0
B-2 avirulen	51,5	0

Keterangan : a) pengukuran Penske-ostenal viscometer,
b) indeks 0 = tidak layu, 5 = layu kuat

Untuk dapat mengakibatkan pembatasan aliran air secara ekstensif, EPS harus bisa merembes ke luar dari saluran-saluran yang sudah dikoloniasi (yang sudah tidak berfungsi lagi) dan menuju ke saluran-saluran yang masih berfungsi. EPS itu juga dapat terakumulasi pada pt membranes dan pada petiole junction dimana ukuran dari pori-poriannya terlalu kecil sehingga EPS tidak dapat merembes lebih jauh. Meskipun pada tingkatan tertentu dan spesifikitas inang kemungkinan juga ditentukan oleh EPS yang diproduksi oleh suatu patogen yang khasus. Namun beberapa polisakarida lainnya sering kali juga sama efektifnya dalam menghasilkan gejala-gejala kelayuan dalam sistem-sistem percolasi seperti misalnya dalam "cat showers" (iji pucuk batang yang terpotong). EPS mungkin masih mempunyai fungsi lain di dalam saluran-saluran yang terinvazi oleh patogen, yakni ikut berperan dalam "a build up of pressure" (suatu usaha untuk membangun tekanan untuk mengurangi reaksi ketahanan dari inang) yang bisa membantu gerakan dari bakteri ditentap dimana terjadi invasi tersebut. Bila sudah tidak ada lagi cara lain bagi inang untuk mengatasi patogen yang menginviasinya, maka tekanan terkombinasi dari pertumbuhan bakteri dengan matriks polisakarida yang mengelilinginya, kadang-kadang bisa membuat saluran-saluran yang lebih lunak. Pada tanaman-tanaman yang berkayu keadaan seperti ini dapat menghasilkan lepuh-lepuh (blisters) di bawah kulit kayu, yang akan pecah bila kulit ini menjadi basah (Billing 1985).

KESIMPULAN

Bakteri *Ralstonia solanacearum* merupakan bakteri penyebab penyakit layu, bersifat polipag dan mampu bertahan di dalam tanah siswa tanaman untuk waktu yang relatif lama. Patogen biasanya menginfeksi melalui luka pada jaringan akar, kemudian masuk dalam jaringan pembuluh, menyebar dan memperbanyak diri dan merusak dinding sel secara enzimatik dan menghasilkan senyawa ekstraseluler polisakarida (EPS).

Pembentukan EPS merupakan sifat yang diturunkan dan sangat dipengaruhi oleh lingkungan tempat bakteri tumbuh. Polisakarida dapat berbentuk kapsul dan bentuk bebas yang larut dalam air benapa polimer tidak larut dalam air. EPS adalah polisakarida bersifat asam yang kaya nitrogen dan merupakan faktor virulensi yang paling utama dari *Ralstonia solanacearum*. EPS terdiri dari unit yang berulang dari N-acetyl-galaktosamin, 2-n-acetyl-2-deoxy L-galakuronat acid, dan 2-n-acetyl-4-N-(3-hydroxy butanoyl)-2,4,6-trideoxy D-glukosa.

EPS yang dihasilkan *R. solanacearum* tidak penting dalam invasi dan infeksi awal jaringan akar, tetapi dapat mempermudah dan mempercepat koloniasi sistemik pada batang. EPS yang dihasilkan dalam pembuluh xilem dapat menyumbat atau memacetkan pembuluh secara fisik, mencegah aliran air dalam pembuluh dan akhirnya tanaman menjadi layu. Kelayuan yang ditimbulkan bersifat ekstensif tetapi tidak berkoneksi dengan gejala nekrosis. Kelayuan barangkali dipercepat oleh adanya degradasi dinding sel oleh enzim, hormon, dan mungkin massa bakteri itu sendiri. Jumlah EPS yang dapat dihasilkan suatu strain *R. solanacearum* sangat menentukan virulensi dan tingkat kelayuan tanaman yang diserang.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1997. Plant pathology. Fourth Edition. Academic Press. p. 635
- Billing E. 1987. Bacteria as plant pathogens. Aspects of Microbiology 14. Van Nonstran Reinhold (UK) Co.Ltd. 77 pp
- Denny TP, AB Flavier, SJ Clough, E Saile, LM Ganova-Raeva. 1997. Regulation of virulence by endogenous signal molecules and the importance of extracellular polysaccharide during infection and colonization. In Bacterial Wilt disease molecular and ecological aspects. PH Prior, C Allen, J Elphinstone (Eds). Guadeloupe. France. 164-169.
- Goodman RN, Kiraly A, Wood KR. 1986. The biochemistry and physiology of plant disease. University of Missouri Press. Columbia.
- Goto, M. 1990. Fundamental of bacterial plant pathology. Academic Press, Inc. San Diego, New York. 342 pp.
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annu. Rev. Phytopathol. 29:65-87.
- Hayward, A. C. 1985. Bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in Asia and Australia. In bacterial wilt disease in Asia and South Pacific. ACTAR Proceedings. 13: 30-34.
- McGarvey JA, CJ Bell, TP Deney & MA Schell. 1997. Analysis of extracellular polysaccharide I in culture and implications. In Bacterial Wilt Disease molecular and ecological aspects. PH Prior, C Allen, J Elphinstone (Eds). Guadeloupe. France. 157-163.
- Semangun H. 1991. Penyakit-penyakit tanaman hortikultura di Indonesia. Gadjah Mada Press. Yogyakarta.