



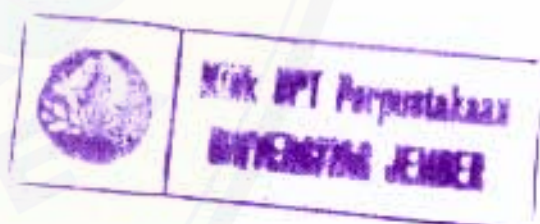
**PEMANFAATAN CACING MERAH *Lumbricus rubellus*
UNTUK MENINGKATKAN PERAN *Pseudomonas putida* strain
Pf-20 DAN strain 27.4B DALAM MENGINDUKSI
KETAHANAN SISTEMIK KETIMUN CV. VERONA F-1
TERHADAP *Cucumber Mosaic Virus* (CMV)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

**Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat untuk
Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu
Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian Universitas Jember**

Oleh

**Dyah Ayu Paramita
NIM. 991510401188**



**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS PERTANIAN**

September 2004

Asal :	Hadiah Perpustakaan	Klasifikasi
Terima :	15 JAN 2005	G32 PAR
No. Induk :		7
Pengkatalog :	far	

S

KARYA ILMIAH TERTULIS BERJUDUL

**PEMANFAATAN CACING MERAH (*Lumbricus rubellus*) UNTUK
MENINGKATKAN PERAN *Pseudomonas putida* strain Pf-20 DAN strain
27.4B DALAM MENGINDUKSI KETAHANAN SISTEMIK KETIMUN
CV.VERONA F-1 TERHADAP *Cucumber Mosaic Virus* (CMV)**

Oleh

Dyah Ayu Paramita
NIM. 991510401188

Dipersiapkan dan disusun dibawah bimbingan:

Pembimbing Utama : Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS
NIP. 130 875 933

Pembimbing Anggota : Ir. Paniman Ashna Mihardjo, MP
NIP. 130 812 643

KARYA ILMIAH TERTULIS BERJUDUL

**PEMANFAATAN CACING MERAH (*Lumbricus rubellus*)
UNTUK MENINGKATKAN PERAN *Pseudomonas putida* strain
Pf-20 DAN strain 27.4B DALAM MENGINDUKSI
KETAHANAN SISTEMIK KETIMUN CV.VERONA F-1
TERHADAP *Cucumber Mosaic Virus* (CMV)**

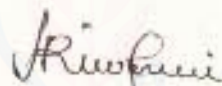
Dipersiapkan dan disusun oleh

Dyah Ayu Paramita
NIM. 991510401188

Telah diuji pada tanggal
27 Agustus 2004
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

TIM PENGUJI

Ketua,



Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS
NIP. 130 875 933

Anggota I



Ir. Paniman Ashna Mihardjo, MP
NIP. 130 812 643

Anggota II

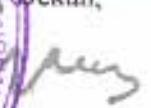


Dr. I. Hartana



MENGESAHKAN

Dekan,



Ir. Irie Mudjiharjati, MS
NIP. 130 609 808

Dyah Ayu Paramita, 991510401188. Pemanfaatan Cacing Merah (*Lumbricus rubellus*) untuk Meningkatkan Peran *Pseudomonas putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B dalam Menginduksi Ketahanan Sistemik Ketimun CV. Verona F-1 terhadap *Cucumber mosaic virus* (CMV). (Dibimbing oleh Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS selaku DPU dan Ir. Paniman Ashna Mihardjo, MP selaku DPA).

Ringkasan

Cucumber mosaic virus (CMV) merupakan penyakit penting pada tanaman pertanian. Pengendalian penyakit virus dengan agen hayati, misalnya bakteri dari golongan fluorescens pseudomonad belum banyak diteliti untuk mengendalikan penyakit virus. Bakteri golongan fluorescens mempunyai kemampuan mengkolonisasi akar, mendorong pertumbuhan tanaman dan melindungi tanaman dari beberapa patogen. Cacing merah membantu penyebaran bakteri di daerah perakaran tanaman. Cacing merah berperan sebagai pendegradasi bahan organik, meningkatkan kesuburan tanah dan populasi mikroorganisme melalui pencernakannya. Aktivitas cacing merah dipengaruhi oleh macam komposisi media tumbuh. Media tumbuh berfungsi sebagai habitat dan sekaligus sebagai pakan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (1) media dengan komposisi yang paling sesuai untuk pertumbuhan ketimun, *L. rubellus*, *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B, (2) peningkatan populasi *L. rubellus* dan *P. putida* dalam media tanam setelah perlakuan, (3) strain manakah dari kedua *P. putida* tersebut yang lebih efektif untuk mengurangi keparahan penyakit CMV dan (4) sifat agronomis tanaman pada media pertumbuhan ketimun sesudah diintroduksi dengan *L. rubellus*, *P. putida*.

Pada penelitian digunakan dua macam media tumbuh dengan komposisi yang berbeda. Media X = campuran tanah sawah dan humus jerami (1:2) dan media Y = campuran tanah sawah dan pupuk kandang (1:1). Tiap polibag diisi dengan 2 kg media. Tiap media tumbuh ditanami satu bibit ketimun berumur 10 hari. Lima hari sebelum pemindahan bibit, media tumbuh diintroduksi dengan 20 ekor juvenil cacing merah. Delapan hari kemudian diintroduksi dengan 100 ml suspensi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B dengan kerapatan 2×10^8 cfu/ml. Daun primer ketimun diinokulasi secara mekanik dengan 0.5 ml filtrat CMV-48 per tanaman dan dilakukan 13 hari setelah introduksi *P. putida*.

Keparahan penyakit CMV dinilai berdasarkan kriteria skala penyakit menurut Raupach *et al.* (1996). Keparahan penyakit dihitung pada 7, 10, 14, 17,

21, 24, 28 dan 30 hari setelah inokulasi CMV dengan rumus: $K_p = \frac{\sum xcnk}{ZxN} \times$

100%.

Sifat agronomi diamati pada hari ke-7, 10, 14, 17, 21, 24, 28 dan 30 setelah inokulasi CMV, yaitu jumlah daun (helai), dan tinggi batang utama tanaman (cm). Tinggi batang utama tanaman diukur dari pangkal batang permukaan tanah sampai daun pertama dari pucuk. Jumlah seluruh daun dihitung pada setiap tanaman. Total panjang akar dan kerapatan akar terinfeksi diamati

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta barakah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan hasil penelitian dalam bentuk Karya Ilmiah Tertulis dengan judul **“Pemanfaatan Cacing Merah (*Lumbricus rubellus*) Untuk Meningkatkan Peran *Pseudomonas putida* strain PF-20 dan strain 27.4B Dalam Menginduksi Ketahanan Sistemik Ketimun CV. Verona F-1 Terhadap *Cucumber Mosaic Virus* (CMV)”**

Karya Ilmiah Tertulis ini disusun guna memenuhi syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu pada Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan ini, penulis banyak mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Direktur Jendral Pendidikan Tinggi, selaku penghibah biaya penelitian melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Tahun Anggaran 2003-2005 sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Nomor 27/PKM/BP3M/DPPM/III/2003
2. Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS (DPU), Ir. Paniman Ashna Mihardjo, MP (DPA I) dan Dr. I. Hartana (DPA II) atas bimbingannya selama persiapan, pelaksanaan, sampai dengan akhir penulisan laporan penelitian ini
3. Bapak (alm.) dan Ibu beserta keluarga, teman-teman, dan sahabat HPT '99, atas semangat, bantuan dan doa yang telah diberikan.

Harapan penulis semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat menambah wawasan keilmuan dan informasi, sehingga bermanfaat bagi pembaca, *Amien*.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Cucumber Mosaic Virus</i> (CMV)	4
2.1.1 Kisaran Inang dan Cara Penularan	4
2.1.2 Gejala CMV	4
2.1.3 Karakteristik Partikel CMV	5
2.2 Biologi dan Ekologi Cacing Merah (<i>Lumbricus rubellus</i>)	5
2.2.1 Peranan Cacing Tanah dalam Ekosistem Tanah	7
2.3 <i>Pseudomonas</i> Kelompok <i>Fluorescens</i> sebagai Pengendali Hayati	8
2.3.1 Morfologi dan Ekologi	8
2.3.2 Peranan <i>Pseudomonas</i> Kelompok <i>Fluorescens</i> sebagai Pengendali Hayati	8
III. METODE PENELITIAN	11
3.1 Bahan dan Alat	11
3.2 Metode Penelitian	11
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.3.1 Preparasi Inokulum Virus dan Bakteri	12
3.3.2 Penyiapan Media Tumbuh	12
3.3.3 Penyediaan dan Pemeliharaan <i>L. rubellus</i>	12
3.3.4 Introduksi <i>L. rubellus</i> pada Media Tumbuh.....	13
3.3.5 Introduksi <i>P. putida</i> strain Pf-20 dan strain 27.4B ke dalam	

Media Tumbuh dan Inokulasi CMV	13
3.3.6 Analisis Sifat Agronomis Tanaman	14
3.3.7 Perhitungan Populasi <i>I. rubellus</i> , <i>P. putida</i> strain Pf-20 dan strain 27.4B yang Mengkolonisasi Akar	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Hasil Penelitian	16
4.1.1 Pengaruh Introduksi <i>P. putida</i> strain Pf-20, <i>P. putida</i> strain 27.4B dan Komposisi Media Tumbuh yang Berbeda untuk Menanggulangi Serangan CMV-48 pada Tanaman Ketimun	16
4.1.2 Pengaruh Perbedaan Komposisi Media Tumbuh dan Introduksi Cacing Merah dan <i>P. putida</i> strain Pf-20 dan <i>P. putida</i> strain 27.4B terhadap Total Panjang Akar dan Kerapatan Akar	18
4.2 Pembahasan	21
V. SIMPULAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Nilai Kandungan Zat Mineral pada Kotoran Cacing dan pada Tanah Asalnya	7
2.	Perubahan Populasi Seluruh Cacing Merah akibat Introduksi <i>P. putida</i> strain PF-20 dan strain 27.4B dan Penambahan Humus Jerami dan atau Pupuk Kandang.....	16
3.	Pengaruh Introduksi <i>P. putida</i> strain Pf-20 dan strain 27.4B terhadap Keparahan Penyakit CMV	17
4.	Pengaruh Komposisi Media Tumbuh terhadap Populasi <i>P. putida</i> strain PF-20 dan strain 27.4B pada Permukaan Akar Tanaman Ketimun yang Diinokulasi CMV	18
5.	Rerata Tinggi Batang Utama dan Jumlah Daun Ketimun yang Terinfeksi CMV-48.....	20

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Total Panjang Akar (cm) Ketimun Terinfeksi CMV-48 yang Tumbuh pada Media dengan Komposisi yang Berbeda	19
2.	Kerapatan Akar (cm/cm^3) Ketimun Terinfeksi CMV-48 yang Tumbuh pada Media dengan Komposisi yang Berbeda	20



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Populasi <i>P. putida</i> strain PF-20 dan strain 27.4B (10^7 cfu/g akar segar) di Permukaan Akar Ketimun yang Terinfeksi CMV pada 24, 48 dan 72 Jam Setelah Inkubasi	30
2.	Tingkat Keparahan Penyakit CMV pada Tanaman Ketimun 30 hari setelah Inokulasi CMV	31
3.	Anova RAKF Populasi <i>P. putida</i> strain PF-20 dan strain 27.4B dan Tingkat Keparahan Penyakit CMV.....	32
4.	Anova RAKF Total Panjang Akar dan Kerapatan Akar Ketimun yang Diinokulasi CMV Berumur 46 Hari	33
5.	Anova RAKF Tinggi Batang Utama dan Jumlah Daun Tanaman Ketimun yang Diinokulasi CMV Berumur 30 Hari	34
6.	Rerata Populasi Cacing Merah (Juvenil, Dewasa dan Produksi Kokon) pada 51 Hari setelah Introduksi	35
7.	Anova RAKF Populasi Cacing Merah (Juvenil, Dewasa dan Produksi Kokon) pada 51 Hari setelah Introduksi	36



L PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Ketimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan salah satu jenis sayuran dari keluarga labu-labuan (*Cucurbitaceae*) yang sudah populer di dunia. Sekurang-kurangnya ada 95 genera dan 750 spesies tanaman labu-labuan yang tumbuh di dunia, terutama di daerah panas (tropis) (Rukmana, 1994). Berbagai macam patogen dapat menyebabkan penyakit pada tanaman ini, salah satunya ialah patogen virus. Virus yang sering menyerang ialah virus mosaik ketimun atau *Cucumber Mosaic Virus* (CMV).

CMV merupakan jenis virus yang tergolong dalam grup *Cucumovirus*. Virus tersebut memiliki kisaran inang yang luas dan menyerang sejumlah besar varietas sayuran, tanaman hias, dan tanaman lain yang meliputi 191 spesies inang dalam 40 famili. CMV dapat ditularkan terutama oleh afid, juga lewat biji, kumbang ketimun, tanaman parasit, manusia dan secara mekanik (Ferreira dan Baley, 1992). Meskipun afid merupakan vektor utama virus tersebut, pengendalian afid bukan merupakan hasil yang diharapkan dalam pengendalian CMV, karena penularan virus hanya terjadi jika afid menghisap tanaman.

Akhir-akhir mulai dikembangkan pengendalian dengan agen hayati, salah satunya adalah bakteri antagonis yang berasal dari daerah perakaran (risosfer) tanaman, terutama golongan fluoresens pseudomonad (Maurhofer *et al.*, 1994), misalnya *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas charaplus* dan *P. aureofaciens* (Oedjijono, 1994). Menurut Kloepper dan Scothoath (1989 dalam Liu *et al.*, 1995) *P. fluorescens* mampu mengkoloni akar, bakteri berada pada lokasi yang spesifik yaitu pada bagian luar permukaan akar dan bagian dalam akar. Rhizobacteria dapat berfungsi ganda yaitu dapat mendorong pertumbuhan tanaman dan melindungi tanaman dari beberapa patogen sehingga disebut *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR).

Bakteri antagonis dalam perkembangan populasinya dapat dibantu oleh organisme. Organisme yang dapat membantu perkembangan populasi mikrobia

tersebut yaitu cacing merah (*Lumbricus rubellus*). Cacing merah mempunyai kemampuan tinggi untuk mendegradasi bahan organik dan meningkatkan laju siklus nutrisi sehingga mudah diserap oleh tanaman, mentranslokasikan bahan organik dan mikroorganisme dalam tanah, mengurangi tingkat pemadatan tanah, membuka lapisan subsoil dan mendukung pertumbuhan akar tumbuhan (Praswati dan Hidayat, 1992). Berdasarkan hal-hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan cacing merah untuk membantu meningkatkan aktivitas dan populasi bakteri antagonis.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana membuat media tumbuh dengan komposisi yang paling sesuai bagi pertumbuhan ketimun, cacing merah dan *P. putida* strain Pf-20 dan *P. putida* strain 27.4B.
2. Apakah dengan komposisi media tumbuh tersebut aktivitas cacing merah dapat meningkat sehingga akan mempengaruhi kenaikan populasi *P. putida* strain Pf-20 dan *P. putida* strain 27.4B.
3. Bila populasi *P. putida* strain Pf-20 dan *P. putida* strain 27.4B meningkat setelah perlakuan, apakah efektivitasnya mengendalikan CMV pada tanaman ketimun juga meningkat.
4. Bila populasi *P. putida* strain Pf-20 dan *P. putida* strain 27.4B dan cacing merah meningkat dalam media tumbuh terpilih, apakah sifat agronomi ketimun menjadi lebih baik.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Media dengan komposisi yang paling sesuai untuk pertumbuhan ketimun, *L. rubellus*, *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B.
2. Peningkatan populasi *L. rubellus* dan *P. putida* dalam media tanam setelah perlakuan.
3. Strain manakah dari kedua *P. putida* tersebut yang lebih efektif untuk mengurangi keparahan penyakit CMV.

4. Sifat agronomis tanaman pada media pertumbuhan ketimun sesudah diintroduksi dengan *L. rubellus* dan *P. putida*.





II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Cucumber Mosaic Virus (CMV)*

2.1.1 Kisaran Inang dan Cara Penularan

Cucumber Mosaic Virus (CMV) merupakan salah satu penyebab penyakit yang dapat menimbulkan kehilangan hasil yang cukup berarti dan dapat menurunkan hasil antara 30-60 persen pada beberapa tanaman pertanian (Tolin, 1994; Semangun, 1991). Tanaman inang CMV diketahui lebih dari 775 spesies dari 85 famili tanaman monokotil maupun dikotil (Kaper, 1990), antara lain adalah famili ketimun (*Curcubitaceae*), kacang-kacangan (*Papilionaceae*), terung-terungan (*Solanaceae*), kubis-kubisan (*Crucifereae*), tanaman hias. Sulyo (1984) menemukan bahwa CMV menyebabkan kerugian pada 7 kultivar cabai sebesar 32 %-75 %.

CMV ditularkan terutama oleh afid, dan juga lewat benih, kumbang ketimun, tanaman parasitik, manusia dan secara mekanik. CMV ditularkan oleh lebih dari 60 jenis afid khususnya *Aphis gossypii* dan *Myzus persicae* secara non-persisten, dan juga dapat ditularkan melalui sap tanaman yang sakit. Rumput honohono (*Comellina* spp.) yang terdapat di Hawaii dapat berperan sebagai inang perantara CMV (Ferreira dan Boley, 1992)

2.1.2 Gejala CMV

Gejala CMV bervariasi tergantung dari strain dan inang (Kaper dan Waterwoth, 1981). Menurut Wahyuni dan Francki (1992) 16 strain CMV yang berasal dari US, Australia dan Jepang menyebabkan gejala yang bervariasi pada 15 spesies dan 32 kultivar kacang-kacangan. Contohnya pada *Lens* sp. yang diinfeksi CMV strain O_{Qld}, L_{Vic}, E_{WA}, dan A_{NSW} menunjukkan nekrosis lemah namun tidak satupun dari strain-strain yang diinfeksi menampakkan gejala pada *P. vulgaris*. Menurut Nariani dan Nyako (1963 dalam Martosudiro, 1991) pada daun tembakau tampak adanya mosaik yang sering disertai dengan gejala kerdil, daun meruncing pada bagian ujung, dan tepi daun bergelombang. Strain virus yang kuat dapat menyebabkan perubahan warna di antara tulang daun dan

nekrosis pada helaian daun bagian bawah. Strain lemah hanya akan menyebabkan gejala mosaik yang tidak jelas (Nyvall, 1979 *dalam* Martosudiro, 1991).

Menurut Wilson dan Halliwell (1985) tanaman bayam (*Spinacia oleracea* L.) yang terinfeksi CMV menunjukkan gejala mosaik, kerdil, belang sistemik, distorsi veinal akut, atau daun menyempit, distorsi dan daun mengeriting. Menurut Kaper dan Waterworth (1981) secara umum CMV mengakibatkan gejala mosaik dan kerdil, dan pada beberapa inang menyebabkan gejala nekrosis. Pada beberapa strain CMV, gejala dapat diperparah oleh adanya satelit RNAs.

2.1.3 Karakteristik Partikel CMV

Cucumber mosaic virus (CMV) sebagai anggota Cucumovirus disebut juga dengan *Marmor cucumeris* (Ferreira dan Boley, 1992). Cucumovirus mempunyai tiga anggota yaitu *Cucumber Mosaic Cucumovirus* (CMV), *Peanut Spout Cucumovirus* (PSV), dan *Tomato Aspermy Cucumovirus* (TAV). Matthews (1981) mengemukakan bahwa partikel virus berbentuk isometrik dan mempunyai garis tengah partikel 28-30 nm yang mengandung 19 persen asam nukleat ribosa (RNA), sisanya berupa protein. Menurut Bos (1990) partikel virus bersifat labil. Sifat fisik CMV bervariasi tergantung pada spesies inangnya. Sebagian besar strain virus mosaik ketimun mengalami inaktivasi pada suhu 60^o-75^oC selama 10 menit, titik akhir pengenceran kurang lebih 10⁻⁵ dengan ketahanan dalam penyimpanan secara *in vitro* selama 72-96 jam.

2.2 Biologi dan Ekologi Cacing Merah (*Lumbricus rubellus*)

Lumbricus rubellus yang lebih dikenal dengan nama cacing merah, Red Wiggler (The University of California's Sustainable Agriculture Research and Education Program, 1997) memiliki taksonomi: Kingdom Eukaryota, Fillum Metazoa, Kelas Annelida, Bangsa Opisthopora, Famili Lumbricidae, Marga Lumbricus dengan jenis *rubellus* (Larva Teach, 2000).

Cacing ini memiliki ukuran tubuh bervariasi tergantung pada stadia perkembangannya. Ukuran rata-rata stadia juvenil berkisar 1-2 cm, stadia remaja 4-6 cm dengan diameter 0,1 cm dan stadia dewasa 6-7 cm dengan diameter 0,2 cm

(Pratomo dan Suhardianto, 1998). Menurut Minnich (1977) panjang jenis cacing *L. rubellus* berkisar antara 7-15 cm.

Secara umum, ukuran tubuh cacing dipengaruhi oleh faktor makanan, keadaan mikro (mikrohabitat) seperti suhu media, pH air penyiraman, suhu lingkungan dan faktor genetik. Menurut Buckman dan Brady (1982) dan Kotpal (1980) cacing tanah menyukai habitat dengan suhu berkisar antara 15°-25°C. Berdasarkan pengamatan Salman (1977 dalam Pratomo dan Suhardianto, 1998) cacing tanah pada umumnya dapat hidup optimal dengan suhu berkisar antara 26°-30°C, dan suhu 28°C merupakan suhu terbaik untuk kehidupan cacing, karena pada suhu 28°C cacing remaja, cacing dewasa, cacing juvenil dan kokon serta telur berkembang dan bereproduksi secara baik dan normal. Menurut Collins (1991) cacing tidak dapat bertahan pada suhu yang terlalu rendah (0°C) ataupun terlalu tinggi (di atas 50°C), sebab suhu tersebut dapat lebih rendah daripada suhu udara tergantung pada besar kecilnya tingkat evaporasi. Kelembaban tubuh dan tanah juga ikut mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan *L. rubellus*. Kelembaban tubuh cacing dapat diatur dengan dikeluarkannya cairan sekresi di seluruh permukaan tubuh, sedangkan kelembaban tanah dapat diatur dengan penyiraman. Cacing menyukai kelembaban tanah 28-42% untuk memproduksi kokon. Menurut Buckman dan Brady (1982) cacing tanah yang hidup di daerah beriklim sub tropis menyukai habitat tanah dengan pH berkisar antara 6-7,2 sebab dalam keadaan pH yang relatif basa, pengeluaran sekresi cacing terganggu. Cairan sekresi yang keluar dari tubuh cacing berguna untuk melindungi dirinya dari infeksi kuman, suhu ekstrim, membantu pencernaan makanan dan pergerakan tubuh, sehingga apabila pengeluaran sekresi cacing terganggu atau tidak berjalan dengan baik akan menyebabkan kegiatan pencernaan makanan tidak sebaik cacing yang hidup pada pH 5-7, dan secara fisiologis dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan cacing.

Cahaya dapat berpengaruh terhadap aktivitas dari cacing merah. Menurut Collins (1991) cahaya dapat melukai bahkan membunuh cacing merah, terutama sinar ultra violet (UV).

Kascing atau feses yang diberikan ke dalam tanah akan dapat meningkatkan kandungan unsur hara, seperti N, P₂O₅, K₂O, Fe, Cu, Mn, dan Zn.

Ketersediaan unsur hara makro dan mikro yang tinggi akibat pemberian kascing disebabkan kapasitasnya yang bagus untuk menambah kandungan bahan organik ke dalam tanah. Hal ini dapat mempercepat proses mineralisasi bahan organik untuk melepaskan unsur makro dan mikro ke dalam tanah. Pemberian kascing setelah pengolahan tanah akan dapat meningkatkan kandungan protein. Hal ini disebabkan hormon tumbuhan mengatur penyerapan unsur hara dan mempengaruhi proses dalam tubuh tanaman dan juga aktivitas beberapa enzim (senyawa protein yang mempercepat proses biokimia). Di antaranya, aktivitas enzim nitrat reduktase, enzim yang sangat penting dalam mengatur ketersediaan nitrat untuk tanaman (Mulat, 2003).

Sutedjo *et al.*, (1991) mengemukakan nilai kandungan zat mineral pada kotoran cacing dan pada tanah asalnya sebagai berikut (Tabel 1):

Tabel 1. Nilai Kandungan Zat Mineral pada Kotoran Cacing dan pada Tanah Asalnya

Zat Mineral	Pada Kotoran Cacing Tanah	Pada Tanah Asalnya
PH	6-7	6,4
Fosfat	53,9 ppm	37,3 ppm
K	294,0 ppm	193,0 ppm
Nitrogen Amoniak	49,0 ppm	33,0 ppm
CaO	2,37 %	1,95 %
N-total	0,151 %	0,054 %
Bahan Organik	1,52 %	1,20 %

Sumber: Sutedjo *et al.*, 1991

Komposisi media tumbuh harus memenuhi syarat sebagai tempat hidup dan sebagai pakan. Menurut Mamat *et al.* (2002) sisa tanaman yang berasal dari jerami padi, batang jagung, tandan kelapa sawit dan rumput kering sangat sesuai untuk pembiakan cacing merah. Menurut Mista dan Roy (2002) pupuk kandang yang dicampurkan dengan sisa tanaman tersebut akan berguna sebagai makanan tambahan untuk menyuburkan dan mempercepat pembiakan cacing tersebut.

2.2.1 Peranan Cacing Tanah dalam Ekosistem Tanah

Secara umum cacing tanah memiliki aktivitas unik sebagai dekomposer karena hewan tersebut memiliki kemampuan menerobos tanah, mentransfer nutrisi pada tanah (utamanya dari sampah organik yang tersebar) dan membentuk

kascing (Praswati dan Hidayat, 1992). Cacing tanah dan kascing mempunyai fungsi yang sangat penting untuk mendegradasi bahan organik dan meningkatkan laju siklus nutrisi, mentranslokasi bahan organik dan mikroba ke dalam tanah, mengurangi pemadatan tanah, membuka lapisan subsoil dan mendukung pertumbuhan akar tumbuhan (Gange, 1993; Marinissen, 1992). Menurut Mulat (2003) kascing selain mengandung unsur hara juga mengandung asam humat. Zat-zat humat bersama-sama dengan tanah liat berperan terhadap sejumlah reaksi kimia dalam tanah. Zat-zat humat dapat merangsang pertumbuhan tanaman melalui pengaruhnya terhadap sejumlah proses-proses dalam tubuh tanaman, dan juga dapat meningkatkan kesuburan tanah dengan mengubah kondisi-kondisi fisik, kimia dan biologi tanah.

Daane *et al.* (1996) mengemukakan bahwa cacing merah berpotensi menyebarkan dan meningkatkan jumlah bakteri di dalam tanah. Menurut Addy (2003) introduksi cacing merah dalam media tumbuh dengan komposisi tanah sawah dan humus jerami (1:1) dapat meningkatkan populasi *P. putida* strain PF-20 di rizosfer tanaman. Hal ini disebabkan cacing merah makan bahan organik kasar yang mengandung *P. putida*, kemudian menghasilkan bahan organik terurai dalam bentuk kascing. Bakteri *P. putida* yang termakan oleh cacing merah akan berkembang dalam saluran pencernaannya. Bakteri yang berkembang dalam saluran pencernaan cacing akan dikeluarkan bersama dengan kascing. Menurut Marinissen (1992) kascing dapat meningkatkan kesuburan tanah sehingga mendukung pertumbuhan akar tumbuhan. Menurut Brown (1995 dalam Dewi, 2000) pengaruh cacing tanah terhadap populasi mikrobial dapat melalui tiga mekanisme, yaitu (1) penghancuran dan pencampuran bahan organik, pembuatan liang dan penghasil kascing, (2) makan mikrobial, dan (3) penyebaran mikrobial.

2.3 Pseudomonas Kelompok Fluorescens sebagai Pengendali Hayati

2.3.1 Morfologi dan Ekologi

Bakteri rizosfer yang secara agresif mengkoloni akar disebut Rhizobakteria (Schroth dan Hancock, 1982). Kelompok bakteri golongan *Pseudomonas* yang paling banyak digunakan sebagai agen pengendali biologis,

yaitu *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphus*, *P. aureofaciens* (Oedjijono, 1994). *Pseudomonas* spp. umumnya merupakan jasad penghuni tanah, sisa-sisa tanaman, dan risosfer. *Pseudomonas* spp. mempunyai kemampuan tumbuh pada kisaran suhu 35-37° C. Kemampuan hidup *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* pada lingkungan perakaran disebabkan karena mempunyai tingkat pertumbuhan yang cepat dan motilitas tinggi (Kloepper, 1993). Dengan sifat-sifat yang dimiliki tersebut, maka rhizobakteria dapat menimbulkan pengaruh yang menguntungkan pada pertumbuhan tanaman, sehingga disebut PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*).

Pseudomonas non-patogenik memiliki ciri-ciri: berbentuk batang, kurva ramping atau lurus, berdiameter 0,5-1,0 x 1,5-5,0 µm, mempunyai tipe metabolisme respirasi dengan oksigen sebagai aseptor elektron terminal. Beberapa bakteri *Pseudomonas* adalah kemolitotrof fakultatif menggunakan H₂ atau CO₂ sebagai sumber energi (Goto, 1992 dalam Djatmiko, 1996). *Pseudomonas* spp. tidak mempunyai fase istirahat, tidak fermentatif, katalase positif, fluoresen, pigmen hijau berpendar, pigmen biru, violet, merah jambu, atau kuning, terutama pada medium yang kekurangan besi; beberapa spesies tidak berpigmen (Cook dan Baker, 1983).

2.3.2 Peranan *Pseudomonas* Kelompok *Fluorescens* sebagai Pengendali Hayati

Peranan *Pseudomonas* kelompok fluoresen mempunyai arti yang sangat penting karena telah digunakan secara luas untuk mengendalikan patogen tumbuhan. *Pseudomonas fluorescens* dan *Pseudomonas putida* adalah dua jenis bakteri yang mendapat perhatian sebagai pengendali hayati. Menurut Schippers *et al.* (1987) kedua bakteri antagonis tersebut mempunyai beberapa sifat antara lain (a) cepat berkembang biak, (b) kemampuan yang tinggi dalam mendominasi pemanfaatan eksudat akar; dan (c) kemampuan yang tinggi untuk mengkolonisasi perakaran. Sifat-sifat tersebut mengakibatkan bakteri ini mampu mengkolonisasi lebih awal pada rizosfer. Bakteri tersebut mampu menghasilkan bermacam-macam metabolit sekunder, termasuk siderofor dan

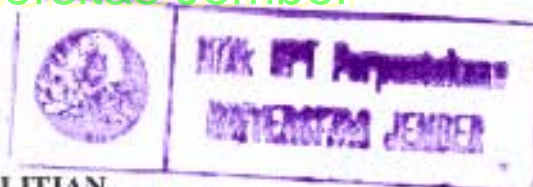
asam sianida (Kloepper, 1993) yang dapat menekan pertumbuhan beberapa patogen tanaman dalam tanah secara alami.

Menurut Geels dan Schippers (1983) *Pseudomonas* kelompok fluoresen memiliki kemampuan meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui perlakuan biji. Selain kemampuan antagonisnya, bakteri ini dapat berkembang dengan cepat dan menghasilkan sejumlah substansi pertumbuhan.

Menurut Ongena *et al.* (2000) *P. putida* selain menginduksi terbentuknya senyawa fenol atau fitoaleksin juga merupakan bakteri *siderophore* yang menghasilkan molekul *iron-chelating* agar substrat tumbuhnya menjadi cukup besi. Ongena *et al.* (1999) menemukan *P. fluorescens* mampu menginduksi ketahanan ketimun terhadap *Pythium ultimum*, dan *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 mampu menginduksi ketahanan tanaman kacang-kacangan terhadap *Botrytis cinerea* (De Meyer dan Hofte, 1997).

Pseudomonas fluorescens strain Pf-5 yang diisolasi dari risosfer tanaman kapas dapat menekan kerusakan yang disebabkan oleh patogen *Rhizoctonia solani* dan *Pythium ultimum*. Strain Pf-5 diketahui menghasilkan antibiotik pyrrolnitrin dan pyoluteorin yang dapat menghambat patogen tersebut (Howel dan Stipanovic, 1980). Menurut Maurhofer *et al.* (1994) *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 yang mengkolonisasi akar tembakau dapat mengurangi nekrosis daun yang disebabkan oleh TNV (*Tobacco Necrosis Virus*) dan efektif sebagai agen pengendali hayati terhadap penyakit "take-all" pada gandum yang disebabkan oleh *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, serta penyakit-penyakit lain yang disebabkan oleh patogen terbawa tanah. Menurut Defago *et al.* (1990 dalam Maurhofer *et al.*, 1994) strain CHA0 menghasilkan "siderophore pyoverdine (Pvd), asam salisilat, indol asetat, HCN, 2,4-diacetylphloroglucinol (phl), dan pyoluteorin".

Pseudomonas putida dan *Pseudomonas fluorescens* strain B 10 diketahui membentuk siderophore fluorescent dan pseudobactin yang keduanya secara *in vitro* dan *in vivo* menghambat pertumbuhan *Erwinia carotovora* pada akar kentang dan permukaan umbi (Xu dan Gross, 1966).



III. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah benih ketimun kultivar Verona F-1, inokulum CMV-48, isolat *Pseudomonas putida* strain Pf-20 dan *P. putida* strain 27.4B, cacing merah, tanah sawah, humus jerami, pupuk kandang, kantong plastik, air steril, media King's B, media air pepton glukose, ampicilin, buffer fosfat 0,01 M pH 7,0.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah mikropipet, pipet ukur, tabung reaksi, gelas ukur, lampu bunsen, cawan porselin dan mortar, autoklaf, timba plastik, beaker glass, laminar airflow, ruang isolasi, colony counter, pita meteran, erlenmeyer, sprayer dan jarum ose.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara rancangan acak kelompok faktorial (RAKF) dengan empat kali ulangan dan analisis keragaman diuji dengan Duncan pada taraf 5%.

Rancangan dalam penelitian terdiri dari dua faktor yaitu:

- a. Faktor komposisi media tumbuh terdiri dari dua macam, yaitu :

X = campuran tanah sawah dan humus jerami dengan perbandingan 1:2.

Y = campuran tanah sawah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1.

- b. Faktor introduksi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B dan inokulasi virus, terdiri dari delapan, yaitu :

+B1+V = Introduksi dengan *P. putida* strain Pf-20 dan CMV

+B1-V = Introduksi dengan *P. putida* strain Pf-20 tanpa CMV

-B1+V = Inokulasi CMV tanpa *P. putida* strain Pf-20

-B1-V = Tanpa inokulasi CMV dan *P. putida* strain Pf-20 (kontrol)

+B2+V = Introduksi dengan *P. putida* strain 27.4B dan CMV

+B2-V = Introduksi dengan *P. putida* strain 27.4B tanpa CMV

-B2+V = Inokulasi CMV tanpa *P. putida* strain 27.4B

-B2-V = Tanpa inokulasi CMV dan *P. putida* strain 27.4B (kontrol)

Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut :

X + B1 + V	X + B2 + V	Y + B1 + V	Y + B2 + V
X + B1 - V	X + B2 - V	Y + B1 - V	Y + B2 - V
X - B1 + V	X - B2 + V	Y - B1 + V	Y - B2 + V
X - B1 - V	X - B2 - V	Y - B1 - V	Y - B2 - V

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Preparasi Inokulum Virus dan Bakteri

Virus CMV-48 diperoleh dari koleksi Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS, UNEJ. Virus diperbanyak pada tanaman tembakau H382. Inokulum virus dibuat dengan cara melumatkan 3 g daun ketimun yang terinfeksi CMV-48 dalam lumpang porselin yang telah ditambah dengan 5 ml buffer 0,01 M PO_4 pH 7,0 dan disaring. Filtrat adalah suspensi virus.

P. putida strain Pf-20 (koleksi Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS) dan *P. putida* strain 27.4B (koleksi Ir. Tri Candra Setiawati, MS) yang tahan terhadap ampicilin masing-masing ditumbuhkan kembali pada media King's B pada suhu 30°C. Bakteri yang digunakan sebagai inokulum mempunyai kerapatan 2×10^8 colony forming unit (cfu) per ml dan dibiakkan pada media pepton glukosa cair (5 g pepton dan 10 g glukosa dalam 1 L H_2O), setelah 48 jam dicernakan sampai 206×10^7 cfu/ml.

3.3.2 Penyiapan Media Tumbuh

Bahan media tumbuh yang digunakan adalah tanah sawah, humus dari jerami padi dan pupuk kandang. Media X adalah campuran tanah sawah dan humus (1:2). Media Y adalah tanah sawah yang dicampur dengan pupuk kandang (1:1). Masing-masing polibag diisi dengan 2 kg media lalu ditanami satu bibit ketimun (*Cucumis sativus*) kultivar Verona F-1 yang berumur 10 hari.

3.3.3 Penyediaan dan Pemeliharaan *L. rubellus*

Cacing merah *L. rubellus* diperoleh dari peternak cacing di Politeknik Pertanian Jember, kemudian dipelihara dalam wadah yang berisi humus jerami padi selama 24 jam. *L. rubellus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah

stadium juvenil. Sebelum *L. rubellus* diaplikasikan, dipuasakan terlebih dahulu selama 24 jam dalam media humus jerami.

3.3.4 Introduksi *L. rubellus* pada Media Tumbuh

Aplikasi *L. rubellus* (20 ekor juvenil tiap polybag) pada media tumbuh dilakukan lima hari sebelum bibit ketimun ditanam. Cacing dibiakkan dengan menjaga kelembaban tanah 16-27% dalam rumah kaca dengan suhu berkisar 30^o C.

3.3.5 Introduksi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B ke dalam Media Tumbuh dan Inokulasi CMV

Delapan hari setelah introduksi *L. rubellus* ke media, *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B diintroduksi ke media dengan cara menyiramkan 100 ml suspensi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B dengan kerapatan 2×10^8 cfu/ml yang telah dibiakkan dalam media pepton glukosa (15 g pepton dan 10 g glukosa dalam 1000 ml air steril).

Inokulasi CMV dengan konsentrasi 0,5 ml juice daun/ml air steril dilakukan dengan cara mekanik pada daun primer 13 hari setelah inokulasi bakteri. Daun primer sebelum diinokulasi ditaburi serbuk karborundum, kemudian diolesi juice daun tembakau yang mengandung CMV secara perlahan-lahan dengan menggunakan jari telunjuk dengan arah olesan searah.

Pengaruh *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B terhadap penginduksian ketahanan sistemik ketimun terhadap CMV yang ditanam pada komposisi media yang berbeda diamati berdasarkan pada tingkat keparahan penyakit. Keparahannya penyakit CMV berdasarkan pada kriteria oleh Raupach *et al.* (1996) sebagai berikut: 0 = tidak tampak gejala, 1 = gejala ringan, 1-10% terlihat samar-samar, 2 = gejala sedang dan sistemik 11-30%, 3 = gejala jelas dan sistemik 31-60%, 4 = gejala sistemik lebih dari 60%.

Keparahan penyakit dihitung pada 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28 dan 30 hari setelah inokulasi CMV dengan rumus:

$$Kp = \frac{\sum kxnk}{ZxN} \times 100\%$$
 Kp = keparahan penyakit (%), k = skala keparahan penyakit, nk = jumlah tanaman pada skala keparahan k, Z = skala tertinggi dan N = total tanaman.

3.3.6 Analisis Sifat Agronomis Tanaman Ketimun

Pada hari ke-7, 10, 14, 17, 21, 24, 28 dan 30 setelah inokulasi CMV, tanaman diamati sifat agronominya, yaitu jumlah daun (helai), dan tinggi batang utama tanaman (cm) diamati pada hari ke-30 setelah inokulasi CMV. Tinggi batang utama tanaman diukur dari pangkal batang permukaan tanah sampai daun pertama dari pucuk. Jumlah daun dihitung berdasarkan banyaknya daun pada setiap tanaman.

Pada akhir pengamatan yaitu 30 hari setelah inokulasi CMV (tanaman berumur 46 hari), pada tanaman hasil inokulasi CMV diamati (1) arsitektur perakaran, (2) total panjang akar dan (3) kerapatan akar. Total panjang akar dihitung dengan cara, kantong plastik dirobek, akar dipisahkan dari tanah dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dikering anginkan. Semua sampel akar ditimbang beratnya. Total panjang akar dihitung menurut metode Newman. Akar diambil 1 g kemudian disebar secara acak pada kertas grafik dengan grid unit 0,5 x 0,5 cm. Panjang akar dihitung dengan menjumlah persilangan-persilangan antara akar-akar yang tersebar dan sejumlah garis-garis lurus. Total panjang akar (cm) = panjang akar 1 g x berat total akar. Kerapatan akar dihitung berdasarkan Guritno dan Sitompul (1995) yaitu : Kerapatan akar (cm/cm³) = panjang akar (cm) / volume tanah (cm³).

3.3.7 Perhitungan Populasi *L. rubellus*, *P. putida* strain PF-20 dan strain 27.4B yang Mengkolonisasi Akar

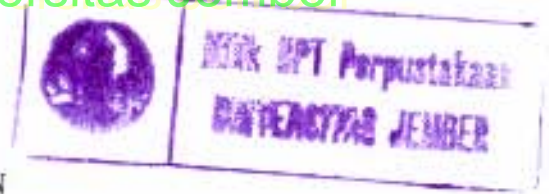
Untuk mengetahui komposisi media tumbuh yang cocok bagi perkembangan dan pertumbuhan *L. rubellus* perlu diamati populasi *L. rubellus* dengan membandingkan jumlah cacing sebelum dan sesudah perlakuan. Jumlah cacing setelah akhir perlakuan dihitung dengan metode penyinaran tanah menurut

Collins (1991). Tanah sampel dalam media dituang pada suatu wadah terbuka yang luas, tanah ditumpuk sebagai bentuk kerucut kemudian disinari dengan lampu neon atau cahaya matahari, sehingga cacing akan berpindah ke bagian bawah. Tanah bagian atas diambil sedikit demi sedikit hingga akhirnya cacing berpindah ke tanah bagian dasar menggerombol, dan dikumpulkan. Jumlah cacing yang menggerombol dihitung secara manual.

Untuk mengetahui apakah bakteri yang mengkolonisasi perakaran dapat dilakukan dengan baik maka pada akhir pengamatan juga diamati populasi bakteri pada permukaan akar ketimun. Satu gram akar segar dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi sembilan ml 0,1 M buffer fosfat pH 7,0. Erlenmeyer kemudian digojok selama 10-15 menit. Setelah penggojokan didiamkan selama lima menit kemudian dilakukan pengenceran per sepuluh kali dengan buffer yang sama. Suspensi dengan serial pengenceran 10^{-7} ditanam dalam media King's B yang mengandung 100 ppm ampisilin dan diulang dua kali. Jumlah koloni dihitung 24, 48 dan 72 jam inkubasi pada suhu 30 C.

Collins (1991). Tanah sampel dalam media dituang pada suatu wadah terbuka yang luas, tanah ditumpuk sebagai bentuk kerucut kemudian disinari dengan lampu neon atau cahaya matahari, sehingga cacing akan berpindah ke bagian bawah. Tanah bagian atas diambil sedikit demi sedikit hingga akhirnya cacing berpindah ke tanah bagian dasar menggerombol, dan dikumpulkan. Jumlah cacing yang menggerombol dihitung secara manual.

Untuk mengetahui apakah bakteri yang mengkolonisasi perakaran dapat dilakukan dengan baik maka pada akhir pengamatan juga diamati populasi bakteri pada permukaan akar ketimun. Satu gram akar segar dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi sembilan ml 0,1 M buffer fosfat pH 7,0. Erlenmeyer kemudian digojok selama 10-15 menit. Setelah penggojokan didiamkan selama lima menit kemudian dilakukan pengenceran per sepuluh kali dengan buffer yang sama. Suspensi dengan serial pengenceran 10^{-7} ditanam dalam media King's B yang mengandung 100 ppm ampisilin dan diulang dua kali. Jumlah koloni dihitung 24, 48 dan 72 jam inkubasi pada suhu 30 C.



V. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Media terbaik untuk pertumbuhan cacing merah, *P. putida* strain Pf-20 dan *P. putida* strain 27.4B adalah media X (tanah sawah dan humus jerami, 1:2).
2. Setelah 43 hari introduksi bakteri, pada media X (tanah sawah dan humus jerami, 1:2) peningkatan populasi *P. putida* strain Pf-20 pada perlakuan BI+V lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.
3. Peningkatan populasi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B dalam tubuh cacing merah ternyata meningkatkan aktivitas cacing di dalam tanah sehingga populasi cacing di dalam tanah juga meningkat sebesar 32-50%.
4. *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B pada semua media (X dan Y) sama efektifnya dalam mengurangi keparahan penyakit CMV.
5. Populasi bakteri yang tinggi akan meningkatkan proses kolonisasi perakaran tanaman oleh bakteri.
6. Semakin dominan bakteri mengkolonisasi perakaran maka tanaman akan semakin terlindungi dari patogen.
7. Sifat agronomis tanaman ketimun menjadi lebih baik setelah diintroduksi dengan *L. rubellus* dan *P. putida*.

DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H. S. 2003. Pengaruh introduksi cacing merah dan *Pseudomonas putida* strain Pf-20 pada beberapa medium tumbuh terhadap keparahan penyakit *Cucumber mosaic virus* pada tanaman ketimun. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember.
- Arman, B. 2003. Pengaruh introduksi cacing merah (*Lumbricus rubellus*) terhadap populasi bakteri *Pseudomonas putida* strain Pf-20 dalam beberapa komposisi medium tumbuh ketimun yang diinokulasi *Cucumber mosaic virus*. *Skripsi*, Faperta UNEJ. Jember.
- Bos, L. 1990. *Pengantar Virologi Tumbuhan*. (terjemahan Triharso). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 226.
- Buckman, H. O. and N. C. Brady. 1982. *Ilmu Tanah*. Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Collins, R. R. 1991. *Earthworm and Nautik*. ISECCO Homesponsors Meeting Notice Site Map.
- Cook, R. J. and K. F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *The American Phytopatol. Society*. Minnesota. USA.
- Daane, L. L., J. A. Molina, E. C. Berry and M. J. Sadowsky. 1996. Influence of earthworm activity on gene transfer from *Pseudomonas fluorescens* target operational indigenous soil bacteria. USDA. *Agricultural Research Service*. <http://www.state.mo.us.dnr/deg/swmp/worm.htm>.
- De Meyer, G. and M. Hofte. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology* **87**: 588-593.
- Dewi, W. S. 2002. Pengaruh cacing tanah dan bahan organik terhadap dinamika populasi mikrobial pada beberapa jenis tanah. *J. Sain Tanah* **1**: 43-52.
- Djarmiko, H. A. 1996. Penggunaan *Trichoderma* spp. dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dalam penekanan perkembangan penyakit akar gada pada caisin. *Tests*, Program Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta.
- Ferreira, S. A. and R. A. Baley. 1992. *Cucumber Mosaic Virus*. Monda. www.alesag.auburn.edu/departement/extcomm/publications.
- Gange, A. Ac. 1993. Translocation of mycorrhizae fungi by earthworms during early succession. *Soil Biol. Biochem* **25** (8) : 1021 – 1026.

- Geels, R. P. and B. Schippers. 1983. Reduction of yield depressions in high frequency potato cropping soil after seed tuber treatment with antagonistic fluorescens *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* **108**: 207-238.
- Guritno, B. dan S. Sitompul. 1995. *Analisa Pertumbuhan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Howel, C. R. and R. D. Stipanovic. 1980. Suppression of *Pythium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* **70**: 712-715.
- Kaper, J. K. and H. D. Waretworth. 1981. *Cucumovirus In Handbook of Plant Virus Infection and Comparative Diagnosis*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. 275-332.
- Kaper, J. M. 1990. *Satelite Mediated Symptom Modulation: An Emerging Technology for Biological Control of Viral Crop Diseases*. Presented in Seminar LEKRI. Lembang. 10th of March 1990.
- Kloepper, J. W. 1993. *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents*. Auburn University, Alabama.
- Kotpal, R. L. 1980. *Annelida*. 10th Eds. Rastologi Publ. India. 64.
- Larva Teach. 2000. *Red Worm*. Larva Teach Copyright. <http://www.members.aol.com/larva>.
- Liu, L., J. W. Kloepper, dan S. Tuzum. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: Duration of protection an effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology* **85**:1064.
- Mamat, N., T. Dek dan Z. Bidin. 2002. Kepentingan cacing tanah dalam bidang pertanian dan penggunaannya dalam pengeluaran vermicast untuk meningkatkan kesuburan tanah. *Lap. Penel. Bahagian Perlind, Tan, dan Kuarantin*. Johor. www.agrolinkmoa.my/pqnet/hwln/cacing.html
- Marinissen, J. C. T. 1992. Population dynamics of earthworm in a silt loam soil under conventional and "integrated" arable farming during two years with different weather patterns. *Soil Biol. Biochem* **24**: 164-165.
- Martosudiro, M. 1991. Kajian indek infektivitas virus mosaik ketimun pada tanaman tembakau serta beberapa faktor yang mempengaruhi daya tahan tular vektor *Myzus persicae* Sulzer. *Tesis*. Fakultas Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Mathews, R. E. F. 1991. *Plant Virology*. 3rd Eds. Academic Press. New York-London.
- Maurhofer, M., C. Hase, P. Mauwly, I. P. Metraux and D. Defago. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of the gene A and of pyoverdine production. *Phytopathology* **84**: 139-146.
- Minnich, Y. 1997. *The Earthworm Book*. Rodale Press Emmaus, Britania.
- Misra, D. A. dan J. Roy. 2002. Studies on the relationship between earthworms and soil fertility IV on the life cycle of some British Lumbricidae. *Ann. Appl. Biol.* **35**: 471-484.
- Mulat, T. 2003. *Membuat dan Memanfaatkan Kascing Pupuk Organik Berkualitas*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Oedjijono. 1994. Isolasi dan deteksi metabolit sekunder *Pseudomonad "fluorescens"* yang menghambat pertumbuhan mikrobia patogen. *Lap. Hasil Penel. Fakultas Biologi Universitas Soedirman*. Purwokerto. 4-10.
- Ongena, M., F. Daay, P. Jacques, P. Thonart, N. Benhamou, T. C. Paulitz, P. Cornelis, N. Koedan dan R. R. Bealanger. 1999. Protection of cucumber againts *Pythium root* by *fluorescens pseudomonads*: predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis. *Plant Pathol.* **48**: 66-76.
- Ongena, M., F. Daay, P. Jacques, P. Thonart, N. Benhamon, T. C. Paulitz, dan R. R. Bealanger. 2000. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in respon to treatments with *fluorescens pseudomonads*. *Plant Pathol.* **49**: 523 – 530.
- Praswati, T. S. dan Hidayat. 1992. Beberapa aspek biologi cacing sondari yang dapat menunjang usaha pelestarian dan budidayanya. *Lap. Penel. Jur. Biologi FMIPA IPB*. Lemlit IPB. Bogor. 1-11.
- Pratomo, M. dan A. Suhardianto. 1998. Studi aspek fisik, biologi, dan kimia terhadap cacing tanah dan kascing pada pengolahan sampah menjadi pupuk kompos. *Lap. Penel. Jur. Biologi*. FMIPA-UT.
- Raupach, G. S., L. Liu, J. F. Murphy, S. Tuzum and J. W. Kloepper. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato againts cucumber mosaic cucumovirus using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis.* **80**: 891-894.
- Rukmana, R. 1994. *Budidaya Mentimun*. Kanisius. Yogyakarta.

- Schippers, B., A. W. Baker and P. A. H. M. Baker. 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Ann. Rev. Phytopathol.* **25**: 339-358.
- Schroth, M. N. and J. G. Hancock. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science.* **216**:1376-1381.
- Semangun, H. 1991. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Cetakan Ketiga. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 225.
- Stevenson, F. J. 1994. *Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reaction*. Academic Press. New York.
- Sulyo, Y. 1984. Penurunan hasil beberapa varietas lombok akibat infeksi *Cucumber mosaic virus* di rumah kaca. *Lap. Hasil Penel.* Balai Penelitian Hortikultura Lembang 1982/1983.
- Sutedjo, M. M., A. G. Kartasapoetra, dan S. Sastroatmodjo. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Rineka Cipta. Jakarta.
- The University of California's Sustainable Agriculture Research and Education Program. 1997. *Lumbricus rubellus Hoffmeister, 1984. (Lumbricidae) Red Marsh Worm, Red Wiggler*.
<http://www.sarep.ucdavis.edu/Earthworm-Lumbricus-rubellus.htm>
- Tolin, S. A. 1994. *Cucumovirus in Encyclopedia of virology I*. Webster, R.G. and A. Gran Off (Ed). Academic Press. London. San Diego. New York. Boston. Sydney. Tokyo. Toronto:275-285.
- Wahyuni, W. S. and R. I. B. Francki. 1992. Responses of some grain and pasture legumes to 16 strains of *Cucumber mosaic virus* (CMV). *Aust. J. Agric. Res.* **43**: 465-477.
- Wahyuni, W. S. dan I. B. Rahardjo. 1995. Distribusi gejala nekrosis dan virus pada tanaman tembakau (*Nicotiana glutinosa*) yang terinfeksi strain CMV dari jahe. *Pross. Kongr. Nas. PFI. XII*. Mataram.
- Wahyuni, W. S., R. Yutriyono dan S. Winarso. 2003. Pengaruh konsentrasi besi dalam medium tanam pada aktivitas *Pseudomonas putida* strain PF-20 untuk menginduksi ketahanan tembakau terhadap *Cucumber mosaic virus*. *J. Hayati.* **10**: 130-133.
- Whiston, R. A. and K. J. Seal. 1988. Rapid production of axenic specimens of the earthworm *Eisenia foetida* using micro-crystalline cellulose as a carrier medium for antibiotics. *Soil Biol. Biochem* **20** (3) : 407 - 408.

Wilson, A. D. and R. S. Halliwell. 1985. Characterization and field studies of a *Cucumber mosaic virus* isolate from spinach in the winter garden area of Texas. *Plant Dis.* **69**: 751-754.

Xu, G. W. and D. C. Gross. 1986. Field evaluations of interactions among *fluorescens* pseudomonads, *Erwinia carotovora* and potato yields. *Phytopathology* **76**: 423-430.



Lampiran 1. Populasi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B (10^7 cfu/g akar segar) di Permukaan Akar Ketimun yang Terinfeksi CMV pada 24, 48 dan 72 Jam Setelah Inkubasi

Macam Komposisi Media Tumbuh	Macam Perlakuan	Rerata Populasi <i>P. putida</i> (10^7 cfu/g akar segar) pada ... jam setelah inkubasi (jst)		
		24	48	72
X	B1+V	50	148.8	184
	B1-V	661.8	1513	1612.8
	B2+V	32.5	93.3	139
	B2-V	799	1198.3	1469.3
Y	B1+V	816	1173	1217.3
	B1-V	701	847.5	1030.3
	B2+V	942	1236.5	1256.3
	B2-V	699.8	1124.8	1254.5

Keterangan: X (campuran tanah sawah dan humus jeami, 1:2), Y (campuran tanah sawah dan pupuk kandang, 1:1).

B1+V= introduksi *P. putida* Pf-20 dan virus, B1-V= introduksi *P. putida* Pf-20 tanpa virus, B2+V= introduksi *P. putida* 27.4B dan virus, B2-V= introduksi *P. putida* 27.4B tanpa virus

Lampiran 2. Tingkat Keparahan Penyakit CMV pada Tanaman Ketimun 30 Hari Setelah Inokulasi CMV

Komposisi Media Tumbuh	Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
		1	2	3	4		
X	B1+V	6.25	7.89	5.88	3.00	23.02	5.76
	B1-V	2.25	1.58	1.50	2.00	7.33	1.83
	B2+V	7.00	5.88	5.88	8.33	27.09	6.77
	B2-V	2.35	2.00	2.24	1.97	8.56	2.14
	-B1+V	14.24	9.88	11.99	13.74	49.85	12.46
	-B1-V	3.50	3.49	3.31	3.55	13.85	3.46
Y	B1+V	9.72	5.68	7.95	3.57	26.92	6.73
	B1-V	2.58	2.16	2.76	3.00	10.50	2.63
	B2+V	3.26	8.33	6.25	9.78	27.62	6.91
	B2-V	4.00	3.96	3.00	3.50	14.46	3.62
	-B1+V	15.61	10.18	9.31	16.53	51.63	12.91
	-B1-V	3.50	4.29	3.72	3.48	14.99	3.75

Lampiran 3. Anova RAKF Populasi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B dan Tingkat Keparahan Penyakit

Anova RAKF Populasi *P. putida* strain Pf-20 dan strain 27.4B

SK	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	1670.7656	1670.7656	0.237	5.59	12.25	ns
Perlakuan	7	4356101.4844	622300.2121	8.815	3.79	6.99	**
Media	1	457821.3906	457821.3906	6.485	5.59	12.25	*
Introduksi							
B dan V	3	1654824.5469	551608.1823	7.813	4.35	8.45	*
Media, B dan V	3	2243455.5469	747818.5156	10.593	4.35	8.45	**
Galat	7	494186.8594	70598.1228				
Total	15						

cv= 26.04%

Anova RAKF Tingkat Keparahan Penyakit CMV

SK	db	JK	KT	F-hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	3	2.6616	0.8872	0.26	2.89	4.48	ns
Perlakuan	11	606.1947	55.1086	15.99	2.09	2.84	**
B	2	141.1002	70.5501	20.47	3.29	5.32	**
M	1	5.6170	5.6170	1.63	4.14	7.53	ns
V	1	387.8307	387.8307	112.51	4.14	7.53	**
BM	2	0.6240	0.3120	0.09	3.29	5.40	ns
BV	2	69.1617	34.5808	10.03	3.29	5.40	**
MV	1	0.3333	0.3333	0.10	4.14	7.53	ns
BMV	2	1.5279	0.7639	0.22	3.29	5.40	ns
Galat	33	113.7580	3.4472				
Total	47	722.6144					

cv= 32.31%

**Lampiran 4. Anova RAKF Total panjang Akar dan Kerapatan Akar
Ketimun yang Diinokulasi CMV Berumur 46 Hari**

Anova RAKF Total Panjang Akar Ketimun yang Diinokulasi CMV Berumur 46 Hari

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	22440.6350	22440.6350	3.263	4.54	8.68	ns
Perlakuan	15	1010316.6205	67354.4414	9.793	2.40	3.52	**
Media	1	73171.1036	73171.1036	10.639	4.54	8.68	**
Introduksi							
B dan V	7	819000.0747	117000.0107	17.011	2.71	4.14	**
Media, B							
dan V	7	118145.4422	16877.9203	2.454	2.71	4.14	ns
Galat	15	103167.7096	6877.8473				
Total	31	1135924.965					

cv = 20.42%

Anova RAKF Kerapatan Akar Ketimun yang Diinokulasi CMV Berumur 46 Hari

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	0.0023	0.0023	3.461	4.54	8.68	ns
Perlakuan	15	0.1001	0.0067	10.140	2.40	3.52	**
Media	1	0.0075	0.0075	11.401	4.54	8.68	**
Introduksi							
B dan V	7	0.0811	0.0116	17.609	2.71	4.14	**
Media, B							
dan V	7	0.0115	0.0016	2.490	2.71	4.14	ns
Galat	15	0.0099	0.0007				
Total	31	0.112					

cv = 20.17%

Lampiran 5. Anova RAKF Tinggi Batang Utama dan Jumlah Daun Tanaman Ketimun Diinokulasi CMV Berumur 30 Hari

Anova RAKF Jumlah Daun Tanaman Ketimun Diinokulasi CMV Berumur 30 Hari

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	3	3.1250	1.0417	0.275	2.81	4.25	ns
Perlakuan	15	201.5	13.4333	3.548	1.89	2.46	**
Media	1	95.0625	95.0625	25.108	4.06	7.23	**
Introduksi							
B dan V	7	43.5	6.2143	1.641	2.22	3.07	ns
Media, B							
dan V	7	62.9375	8.9911	2.375	2.22	3.07	*
Galat	45	170.375	3.7861				
Total	63	375					

cv= 9.43%

Anova RAKF Tinggi Batang Utama Tanaman Ketimun Diinokulasi CMV Berumur 30 Hari

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	1770.125	1770.125	1.073	4.54	8.68	ns
Perlakuan	15	27535.875	1835.725	1.1126	2.4	3.52	ns
Media	1	2888	2888	1.75	4.54	8.68	ns
Introduksi							
B dan V	7	13924.375	1989.1964	1.205	2.71	4.14	ns
Media, B							
dan V	7	10723.5	1531.9286	0.928	2.71	4.14	ns
Galat	15	24749.875	1649.9917				
Total	31	54055.875					

cv= 19.57%

Lampiran 6. Rerata Populasi Cacing Merah (Juvenil, Dewasa dan Produksi Kokon) pada 51 Hari Setelah Introduksi

Macam Komposisi Media Tumbuh	Macam Perlakuan	Rerata Populasi Cacing Merah pada 51 hari setelah introduksi		
		Juvenil	Dewasa	Produksi kokon
X	B1+V	40.5	9.5	7.5
	B1-V	35.0	18.0	9.5
	-B1+V	19.0	14.0	4.0
	-B1-V	16.5	16.5	4.5
	B2+V	39.5	11.0	10.5
	B2-V	42.5	18.0	8.5
	-B2+V	16.0	16.0	7.0
	-B2-V	17.5	14.5	8.0
Y	B1+V	28.0	11.5	8.0
	B1-V	31.5	12.5	7.0
	-B1+V	21.5	10.0	3.0
	-B1-V	17.5	11.5	5.0
	B2+V	36.0	9.0	9.5
	B2-V	42.0	9.0	8.5
	-B2+V	16.5	15.0	10.5
	-B2-V	17.0	14.5	7.0

Lampiran 7. Anova RAKF Populasi Cacing Merah (Juvenil, Dewasa dan Produksi Kokon) pada 51 hari setelah introduksi

Anova RAKF Populasi Cacing Juvenil pada 51 hari setelah introduksi

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	2.5313	2.5313	0.158	4.54	8.68	ns
Perlakuan	15	3369.9688	224.6646	14.043	2.4	3.52	**
Media	1	34.0313	34.0313	2.127	4.54	8.68	ns
Introduksi							
B dan V	7	3191.2188	454.4598	28.407	2.71	4.14	*
Media, B							
dan V	7	154.7188	22.1027	1.382	2.71	4.14	ns
Galat	15	239.9688	15.9979				
Total	31	3612.469					

cv= 14,66%

Anova RAKF Populasi Cacing Dewasa pada 51 hari setelah introduksi

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	47.5313	47.5313	3.714	4.54	8.68	ns
Perlakuan	15	24.7188	18.9813	1.483	2.4	3.52	ns
Media	1	75.0313	75.0313	5.863	4.54	8.68	*
Introduksi							
B dan V	7	123.4688	17.6384	1.378	2.71	4.14	ns
Media, B							
dan V	7	86.2188	12.317	0.962	2.71	4.14	ns
Galat	15	191.6988	12.7979				
Total	31	524.219					

cv= 27,19%

Anova RAKF Produksi Kokon pada 51 hari setelah introduksi

SK	db	JK	KT	F- hitung	F-tabel		Ket.
					5%	1%	
Kelompok	1	12.5	12.5	1.812	4.54	8.68	ns
Perlakuan	15	153.5	10.2333	1.483	2.4	3.52	ns
Media	1	0.125	0.125	0.018	4.54	8.68	ns
Introduksi							
B dan V	7	131.5	18.7857	2.722	2.71	4.14	*
Media, B							
dan V	7	21.875	3.125	0.453	2.71	4.14	ns
Galat	15	103.5	6.9				
Total	31	269.5					

cv² 35.62%