

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Seledri

Menurut Backer dan Bakhuizen (1968), klasifikasi tanaman seledri adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Apiales
Suku	: Apiaceae
Marga	: Apium
Jenis	: <i>Apium graveolens</i>

Tanaman seledri merupakan tanaman herba tegak. Umur tanaman ini bisa mencapai 2 tahun. Daun berpangkal pada batang dekat tanah, bertangkai, dan mengeluarkan bau aromatis yang khas. Bunga majemuk dan bertangkai pendek – pendek. Buah membulat panjang dan berwarna coklat. Biji berwarna hitam (Mursito, 2002).

Akar seledri berupa akar tunggang dengan warna putih kotor. Pada akar, terdapat rambut – rambut akar yang merupakan perluasan dari sel – sel epidermis akar. Akar sebagai tempat masuknya mineral dari tanah menuju ke seluruh bagian tumbuhan. Seledri merupakan tanaman semak dengan tinggi sekitar 15 cm. Batangnya pendek tidak berkayu, bersegi, beralur, beruas, bercabang tegak dan berwarna hijau pucat.

Daunnya menjari tidak teratur serta berlekuk-lekuk dan majemuk menyirip ganjil dengan anak daun terdiri dari 3-7 helai serta mempunyai tangkai daun yang panjang. Pangkal dan ujung daun runcing, tepi daun beringgit dan panjang daun 2-7,5 cm dengan lebar 2-5 cm.

Bunga berupa bunga majemuk berbentuk payung dan berwarna hijau. Panjang tangkainya sekitar 2 cm. Mahkota berwarna putih atau ungu tergantung pada varietasnya. Sebagian bunga cabai menyerbuk sendiri, tetapi mudah juga dilakukan persilangan. Daun berbentuk menjari tidak teratur, berlekuk-lekuk dan majemuk serta menyirip, jumlah anak daun 3-7 helai dengan panjang tangkai daun 1-2,7 cm. Pangkal dan ujung daun runcing, tepi daun beringgit, dengan

panjang daun 2–7,5 cm dan lebar 2–5 cm. Bunga majemuk berbentuk payung dan berwarna hijau. Buah berbentuk kotak atau kerucut dengan warna hijau kekuningan. Akar tunggang dengan cabang-cabang akar.

Menurut jenisnya seledri dibagi menjadi tiga golongan, yaitu seledri daun (*Apium graveolens* L var. *secalinum alef*), seledri batang (*Apium graveolens* L var. *sylvestre alef*), dan seledri umbi (*Apium graveolens* L var. *rapaceum alef*). Seledri daun tumbuh baik di tanah yang agak kering, seledri batang cocok tumbuh di tanah yang mengandung pasir, kerikil dan sedikit air, dan seledri umbi tumbuh baik di tanah yang gembur dan banyak mengandung air dengan bentuk batangnya membesar membentuk umbi di permukaan tanah. Di antara ketiga golongan seledri tersebut yang paling banyak ditanam di Indonesia adalah seledri daun. Seledri berada dalam satu famili dengan wortel, peterseli, mitsuba, dan ketumbar. Tanaman seledri memiliki nama umum yang berbeda-beda, celery (Inggris), celeri (Perancis), seleri (Italia), selinon, parsley (Jerman), seledri (Indonesia), sledri (Jawa), saledri (Sunda).

2.2 Patogen *Colletotrichum* sp.

Kerajaan	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Sordariomycetes
Marga	: Glomerellales
Famili	: Glomerellaceae
Genus	: <i>Colletotrichum</i>
Spesies	: <i>Colletotrichum</i> sp.
Nama lokal	: Daun keriting dan antraknosa pada seledri

Salah satu patogen yang paling menyebabkan penyakit pada tanaman seledri adalah *Colletotrichum* sp. yang menyebabkan penyakit antraknosa dan hawar pada tanaman penting pertanian seperti kacang almond, alpukat, blueberrie, jeruk, mangga, zaitun, strawberry, dan seledri.

Colletotrichum sp. dapat berdampak pada sebagian besar bagian tanaman, mulai dari akar, daun, bunga, ranting, dan buah. Penyakit ini dapat menyebabkan busuk akar, kerontokan daun, hawar pada bunga, busuk buah, tanaman mengerdil, dan bercak pada tangkai daun.

Koloni pada media biasanya akan berwarna putih, abu-abu pucat, atau oranye pucat, terkadang menghasilkan warna merah muda keunguan yang jelas. Konidiamata biasanya kurang berkembang, dengan sedikit atau tidak ada seta, terutama pada media biakan. Sel konidiogenus berbentuk silinder dan menghasilkan konidia pada lokus tunggal. Konidia berukuran 8-16 x 2.5 µm, berbentuk silinder, berdinding tipis, bersekat, dan hialin. Apresoria berjumlah sedikit, berukuran 6.5-11 x 4.5-7.5 µm, berbentuk clavate hingga bulat, berwarna coklat muda hingga coklat tua (EPPO, 1994).

2.3 Gejala antraknosa pada seledri

Tanaman terserang akan mengerdil dengan daun mengecil dan berbentuk seperti cangkir tapi tetap berwarna hijau seperti yang terlihat pada Gambar 1. Daun yang lebih tua pada tanaman terserang terlihat seperti kipas dan mengeriting ke bawah. Terdapat bercak coklat pada tepi daun tanaman yang terserang dan terkadang terdapat bercak kuning transparan tersebar di permukaan daun. Daun terinfeksi akan rapuh sampai ke batang. Batang yang terinfeksi akan membengkok dengan bercak merah hingga kecoklatan yang dapat berkembang di dalam maupun di luar jaringan tanaman seperti yang terlihat pada Gambar 2. Spora jamur akan diproduksi di dalam bercak yang berkembang pada batang dan mudah disebarkan oleh percikan air selama irigasi atau hujan. Tanaman inang jamur ini selain seledri adalah strawberry, lada, apel, dan beberapa jenis gulma.



Gambar 1. Gejala antraknosa pada daun seledri (Cellesti, 2013)



Gambar 2. Gejala antraxnosa pada batang seledri (Cellesti, 2013)

2.4 Mikroorganisme Filoplane

Filosfer merupakan daerah pada daun yang dihuni oleh mikroorganisme. Pada daerah ini mikroorganisme-mikroorganisme mungkin mati, tetap hidup, atau bahkan berkembang biak di atas permukaan daun, tergantung dari sejauh mana pengaruh dari bahan-bahan di dalam daun berdifusi atau merembes keluar. Hasil difusi keluar atau pembocoran keluar dari daun telah dianalisis kandungan kimiawinya yang berupa faktor nutritif seperti asam amino, glukosa dan sukrosa (Rao, 1986). Mikroorganisme filoplane hidup pada daun karena adanya senyawa organik seperti fruktosa, sukrosa, asam organik, asam amino, dan vitamin yang dijadikan sebagai sumber karbon, energi, dan senyawa pemicu tumbuh (Azedavo *et al.*, 2000).

Komposisi dan kuantitas nutrisi termasuk karbohidrat, asam organik, asam amino, yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme filoplan, dipengaruhi oleh jenis tumbuhan, umur daun, fisiologis daun, dan adanya kerusakan jaringan (Yang *et al.*, 2000). Sementara itu Yang *et al.* (2000) menambahkan, tanaman inang, umur daun, posisi daun, kondisi fisik lingkungan, dan tersedianya inokulum pendatang adalah faktor penentu jenis mikroorganisme yang terdapat di filosfer.

Blakeman (1982) juga menambahkan bahwa interaksi di filoplane antara prokariot dan fungi digambarkan dalam konsep hipashpere, yang menyatakan bahwa “seperti di lapisan daun, bakteri juga dapat menghuni lapisan hifa (hypashpere) suatu jamur yang menetap dengan mekanisasi asosiasi nutrisi. Dasar

dari asosiasi ini adalah bahwa jamur, seperti organisme hidup lainnya mengeluarkan zat hasil ekskresi yang mengandung bahan-bahan yang dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi oleh bakteri antagonis.”

Penggunaan kata filosfer pertama kali diperkenalkan oleh mikrobiologiawan Belanda Ruinen berdasarkan pengamatannya pada tumbuhan di hutan-hutan Indonesia yang memiliki daun-daun berpenghuni mikroba epifit di permukannya. Selanjutnya dikenal istilah filoplen untuk permukaan daun, sedangkan filosfer digunakan untuk menyebut daerah pada daun yang dihuni oleh mikroorganisme (Rao, 1994). Winterhoff (1992) menyatakan bahwa pada permukaan daun terdapat berbagai mikroorganisme yang dapat dianalisa secara langsung atau dengan teknik isolasi. Mikroflora tersebut ada yang merupakan patogen, tetapi ada pula yang menguntungkan bagi inangnya.

Blakeman (1982) menyebutkan bahwa populasi mikroorganisme penghuni permukaan daun bervariasi antara 10^2 - 10^6 per cm^2 . Beberapa jamur dan actinomycetes yang biasanya terdapat pada permukaan daun adalah *Cladosporium*, *Alternaria*, *Cercospora*, *Helminthosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Streptomyces*, *Actinomycetes* dan sebagainya (Rao, 1994). Sedangkan dari golongan bakteri diantaranya dari genus *Pseudomonas*, *Pseudobacterium*, *Phytomonas*, *Erwinia*, *Sarcina*, dan lain-lain. Warner (1992) menambahkan jenis bakteri filoplane yang sering ditemukan adalah *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Archromobacterium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, dan *Azotobacter* (Warner, 1992).

Loper (1988) menambahkan bahwa *Pseudomonas* yang bersifat flourescent juga ditemukan pada permukaan daun dan sangat efektif sebagai antagonis. Mew dan Rosales (1986) melaporkan bahwa juga ditemukan beberapa jenis *Bacillus* yang menghasilkan antibiotik pada permukaan tanaman budidaya dan gulma, diantaranya *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, dan *Bacillus brevis*.

Mikroorganisme yang terdapat di permukaan tanaman ada yang tergolong sebagai patogen tanaman dan ada pula yang berperan sebagai mikroflora antagonis. Mikroorganisme tersebut memiliki dampak yang sangat besar terhadap

kesehatan tanaman dan memiliki peran terhadap ekosistem (Baily *et al.*, 2007). Beberapa spesies filobakteria ditemukan mensintesis hormon tanaman dan menstimulasi pertumbuhan tanaman (Beattie dan Lindow, 1999). Bagaimanapun beberapa mikroorganisme dapat merusak jaringan tanaman (Lindow dan Leveau, 2002).

Bakteri filoplane (*Bacillus cireus*) bersifat antagonis terhadap *Pseudomonas syringae* pv *tomato* pada tanaman tomat serta dapat menginduksi ketahanan sistemik melalui efek antibiosis (Viera *et al.*, 2006). Pengendalian jamur patogen oleh mikroorganisme antagonis telah dieksplorasi dengan berbagai cara (Blakeman, 1985; Mercier dan Reelender, 1987; Pandey *et al.*, 1993). Beberapa mekanisme antagonis telah dihubungkan dengan kemampuan jamur saprofit untuk mengendalikan patogen tanaman dan mendukung keamanan lingkungan, termasuk kompetisi, antagonisme oleh antibiotik atau parasitisme oleh enzim degradasi dinding sel atau oleh kombinasi ketiga jenis mekanisme antagonisme tersebut (Perez-Leblic dkk, 1985; Chet, 1987; Whipps, 1992; Roulston dan Lane, 1988; Widden dan Scuttolin, 1988; Boland, 1990; Be Langer *et al.*, 1995).

Mikroorganisme pada permukaan daun yang disebut mikroorganisme filoplane memiliki jenis dan jumlah yang beragam sesuai dengan pengaruh faktor biotik dan abiotik yang akan berdampak pada pertumbuhan dan kemampuan bertahan mereka (Bakker *et al.*, 2002). Faktor-faktor tersebut termasuk umur daun, nutrisi eksternal, dan interaksi antarpopulasi dari mikroorganisme yang berbeda (Blakeman, 1985), temperatur, kelembapan, intensitas cahaya, kecepatan angin dan keberadaan polusi di udara (Dix dan Webster, 1995). Sebagian besar populasi mikroba filoplane dapat bertahan dalam jangka waktu yang panjang, dan beberapa jenis hanya dapat bertahan sementara waktu (Blakeman, 1993).

Pendekatan secara terpadu dengan menggabungkan beberapa metode pengendalian, termasuk pengendalian hayati sangat dianjurkan guna mencapai efektifitas yang lebih tinggi dalam pangendalian suatu penyakit. Pengendalian biologi di filoplan umumnya didasarkan pada antagonisme mikrobial pada fase prapenetrasi patogen.

2.5 Metode Isolasi Filoplan

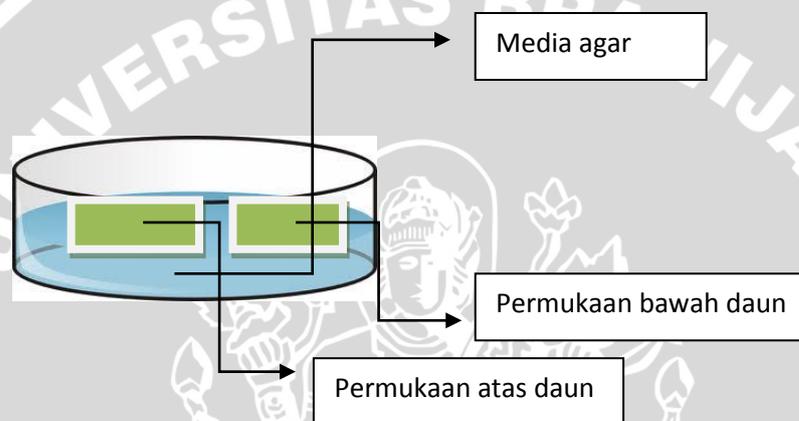
Menurut Aneja (2003), ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam isolasi mikroorganisme filoplane. Secara garis besar, metode isolasi filoplane ada dua yaitu secara langsung dan melalui biakan. Metode isolasi filoplane secara langsung meliputi observasi langsung, cetakan selaput, pembersihan, pengamatan mikroskop, perbedaan tahap, antibodi fluorescent, dan menggunakan mikroskop infrared. Sementara itu metode isolasi melalui biakan dapat dilakukan dengan metode *spore fall*, *leaf imprint*, *leaf washing*, *leaf maceration*, *surface sterilisation*, dan *damp chamber*. Dari sekian banyak cara yang dapat digunakan dalam isolasi mikroorganisme filoplan, metode pengenceran dan cetakan permukaan daun adalah metode yang paling umum digunakan.

Metode *serial dilution* atau pengenceran menurut Shipton *et al.*, (1981) dilakukan sebanyak dua sampai sepuluh kali pengenceran. Potongan daun-daun dimasukkan ke dalam tabung enlemeyer yang berisi 10 ml aquades steril dan ditambahkan surfaktan steril Tween 80 dengan konsentrasi 2ml/liter, kemudian dikocok dengan shaker selama dua menit untuk pencucian pertama kali. Pencucian kedua dilakukan dengan 10 ml aquades steril, dikocok dengan shaker selama dua menit. Kemudian 0,25 ml cairan pencucian dipindahkan ke media pertumbuhan, diratakan, dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C (Black,1999).

Metode *leaf imprint* sebelumnya telah dijelaskan sebagai cara dalam menentukan penyebaran spora pada permukaan daun. Untuk membuktikan hal tersebut, daun ditekan pada permukaan agar menggunakan standarisasi tekanan, untuk memisahkan spora dari permukaan daun. Media kemudian diinkubasi dalam kondisi tertentu, dan jumlah spora yang berkecambah dihitung setelah beberapa waktu menggunakan mikroskop (Fransen, 1995).

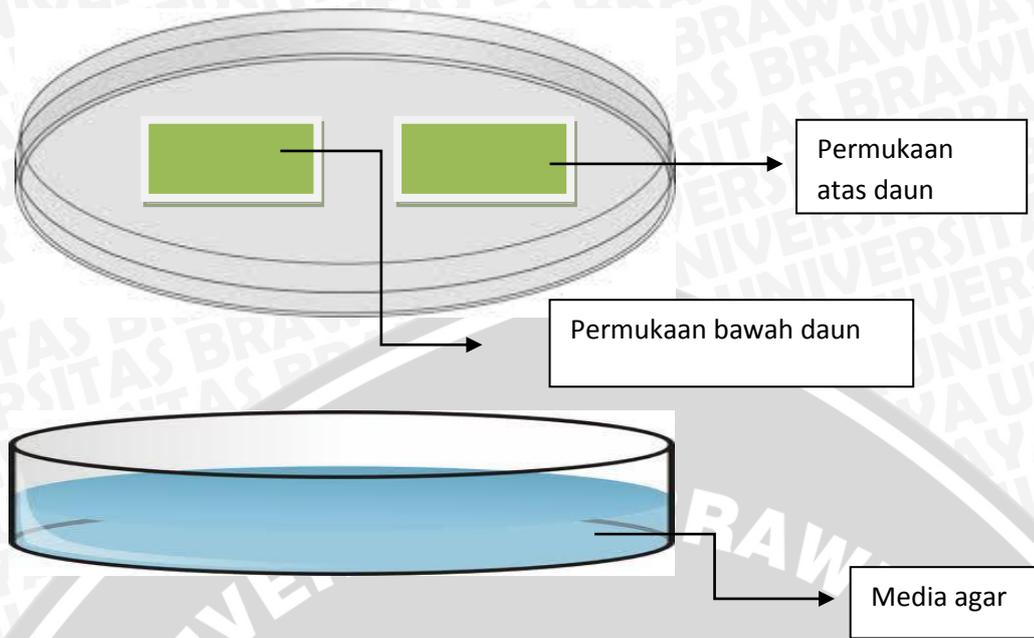
Keuntungan menggunakan metode cetakan daun ini adalah mendukung kajian tentang spora yang bertahan dan kerapatan spora di permukaan daun. Sementara itu kekurangan metode cetakan daun adalah efisiensi pemindahan spora merupakan variabel yang sangat berpengaruh. Hal tersebut tergantung dari faktor topografi, kemampuan menempel spora, dan tekanan yang diberikan pada daun ketika ditempelkan di permukaan agar (Lacey *et al.*, 2007).

Spora sampel yang menempel di agar kemungkinan tidak dapat merepresentasikan populasi spora yang terdapat pada permukaan daun, dan efisiensi metode ini perlu dievaluasi dengan membandingkan metode homogenisasi dan plating atau secara langsung mengobservasi menggunakan mikroskop. Kekurangan lain dari metode cetakan daun ini adalah adanya kemungkinan kontaminasi partikel tanah atau kotoran lain yang membawa mikroorganisme yang tidak berasal dari daun (Lacey *et al.*, 2007). Ilustrasi metode *leaf imprint* dijelaskan pada Gambar 3.



Gambar 3. Ilustrasi metode *leaf imprint*

Metode lain yang digunakan dalam isolasi mikroorganisme filoplan adalah metode spora jatuh atau *spore fall method*. Metode ini sering kali digunakan dalam isolasi mikroorganisme filoplan dari golongan jamur dan yeast. Daun tanaman ditempel di tutup cawan dan digantung di atas media agar. Spora yang terdapat di permukaan daun akan jatuh ke permukaan agar dan mengkoloni permukaan agar. Mikroorganisme filoplan yang sering ditemui terdiri dari yeast dengan genus *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Tilletiopsis*, dan *Torulopsis* adalah mikroorganisme yang biasanya hidup di permukaan daun. Gambaran mengenai metode ini dijelaskan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Ilustrasi metode *spore fall*

Produksi spora udara yang banyak merupakan salah satu ciri mikroorganisme yang habitatnya berada di permukaan tanaman. Hal tersebut merupakan adaptasi yang dibutuhkan koloni untuk membentuk habitatnya. Jamur filoplan didominasi oleh jamur mitosporic dan ascomycetes. Jamur pada daun ada yang bersifat dimorfik, dimana dapat tumbuh sebagai yeast dan bentuk serabut. Secara instan, metode spora jatuh lebih cocok digunakan untuk mengisolasi yeast daripada jamur (Carlile, 2001). 24 jam inkubasi dengan menggunakan metode spora jatuh dianggap waktu yang ideal (Pennycook dan Newhook, 1974; Johnston, 1983). Untuk mendapatkan hasil secara kuantitatif, perpindahan spora yang jatuh harus dihentikan setelah inkubasi selama 24 jam.

Metode lain untuk mempelajari mikroorganisme filoplan yang serupa dengan metode cetakan daun adalah metode pencucian daun. Metode ini menghasilkan data kuantitatif daripada metode cetakan daun. Tahapan dalam metode ini yaitu daun dimasukkan ke dalam tabung enlemeyer yang berisi aquades dan cairan pencuci seperti cairan saline atau buffer fosfat. Mikroba yang terdapat di permukaan daun akan lepas dari permukaan daun dengan divortex atau disonikasi. Jumlah bakteri dalam cairan dapat dihitung menggunakan teknik

nomor kemungkinan terbanyak (Oblinger dan Koburger, 1975) atau dengan plating secara langsung atau melalui pengenceran cairan pencucian tersebut.

Metode pencucian daun sendiri masih memiliki banyak kekurangan seperti kurang efektifnya mikroorganisme di permukaan daun yang terlepas. Contohnya seperti jamur penyebab penyakit embung tepung tidak dapat diisolasi dengan menggunakan metode pencucian daun dikarenakan struktur hifa jamur yang melekat kuat pada daun. Hal tersebut menyebabkan jamur sulit untuk dipindahkan dari permukaan daun. Cara instan untuk memastikan efisiensi isolasi mikroorganisme filoplane adalah dengan menerapkan metode pembekuan-pencairan (*leaf freezing-thawing*). Sejumlah daun diletakkan pada aquades steril lalu dibekukan selama beberapa saat. Kemudian cairan yang memadat dicairkan kembali dan daun dipisahkan. Aquades steril yang telah mencair tersebut diamati di bawah mikroskop atau diinkubasi dalam media agar untuk menumbuhkan mikroorganisme yang mengkoloni permukaan daun (Rieder dan Muller, 2008)

