

MEKANISME BAKTERI ENDOFIT MENGENDALIKAN NEMATODA *Pratylenchus brachyurus* PADA TANAMAN NILAM

Rita Harni¹⁾, Supramana²⁾, Meity S. Sinaga²⁾, Giyanto²⁾ dan
Supriadi³⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Industri, Pakuwon Sukabumi
Jl. Raya Pakuwon-Parungkuda Km. 2, Sukabumi 43357

E-mail : rita_harni@yahoo.co.id

²⁾ Departemen Proteksi Tanaman FAPERTA, Institut Pertanian Bogor

³⁾ Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jl. Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

(terima tgl. 22/11/2011 – disetujui tgl. 07/03/2012)

ABSTRAK

Beberapa jenis bakteri endofit telah diketahui potensinya sebagai agens hayati terhadap nematoda parasit *P. brachyurus* pada tanaman nilam. Penelitian dilakukan untuk mengetahui mekanisme pengendalian dari beberapa bakteri endofit terhadap *P. brachyurus* pada tanaman nilam. Setek nilam berumur satu bulan diperlakukan dengan bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans* TT2, *Bacillus subtilis* NJ57, *Alcaligenes faecalis* NJ16, *Bacillus cereus* MSK, dan *Pseudomonas putida* EH11 dengan metode *split root* system (sebagian akar diinokulasi dengan bakteri endofit (populasi 10⁹/pot), dan bagian lainnya diinokulasi dengan *P. brachyurus* (100 ekor/pot). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) enam perlakuan dengan tujuh ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap populasi nematoda yang mempenetrasi akar, kadar asam salisilat, fenol, dan peroksidase. Kadar asam salisilat, fenol, *indol acetic acid* dan peroksidase pada tanaman dianalisis menggunakan metode HPLC dan spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mekanisme kerja bakteri endofit dalam mengendalikan *P. brachyurus* adalah dengan menginduksi ketahanan tanaman dengan peningkatan produksi senyawa

kimia penginduksi ketahanan seperti asam salisilat, peroksidase dan fenol oleh bakteri endofit *A. xylosoxidans* TT2, *A. faecalis* NJ16 dan *P. putida* EH11. Di samping itu, bakteri endofit juga dapat memicu pertumbuhan tanaman melalui peningkatan *indole acetic acid* terutama pada perlakuan dengan *Bacillus cereus* MSK. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa aplikasi beragam jenis bakteri endofit yang berbeda mekanisme kerjanya tersebut perlu dilakukan secara bersamaan untuk mendapatkan pengendalian yang optimal.

Kata kunci : Bakteri endofit, mekanisme, induksi ketahanan, *P. brachyurus*, nilam, *split root* system

ABSTRACT

Mechanism of Endophytic Bacteria in Controlling Pratylenchus brachyurus On Patchouli

Endophytic bacteria suppress the plant parasitic nematodes development through many ways, such as induce resistance, niche competition and production of secondary nematocidal substances. The study was conducted to analyze the selected characters associated with the control mechanisms of endophytic bacteria on P. brachyurus.

One-month-old patchouli cuttings were treated with endophytic bacterium i.e. A. xylooxidans TT2, B. subtilis NJ57, A. faecalis NJ16, B. cereus MSK, and P. putida EH11 with split root method. Parameters analyzed were salicylic acid, phenol, indole acetic acid and peroxidase using a HPLC and spectrophotometer. The results showed that the mechanism of endophytic bacteria in controlling P. brachyurus was induce resistance of plants. Increased salicylic acid, peroxidase and phenol activities were detected on path plants inoculated with A. xylooxidans TT2, A. faecalis NJ16 and P. putida EH11. The results showed that Bacillus cereus MSK also induced plant growth, indicated with the increasing activities of indole acetic acid.

Key words : Endophytic bacteria, mechanisms of induction of resistance, *P. brachyurus*, patchouli, split root system

PENDAHULUAN

Nilam (*Pogestemon cablin*) merupakan tanaman atsiri di dalam budidayanya terkendala oleh infeksi nematoda parasit *P. brachyurus*. Infeksi nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat, warna daun merah atau kekuning-kuningan dan luka nekrosis pada akar rambut yang dapat mengakibatkan akar membusuk. Kerusakan akibat serangan nematoda tersebut pada tanaman nilam dapat menurunkan hasil sampai 75% (Mustika *et al.* 1995).

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan *P. brachyurus* pada tanaman nilam telah dilaporkan oleh Harni *et al.* (2007, 2010, 2011) dan Supramana *et al.* (2007). Penggunaan filtrat bakteri endofit

dapat membunuh *P. brachyurus* 100% dan menekan penetasan telur 48,5-74,6% di laboratorium (Harni *et al.* 2010). Sedangkan suspensi bakteri endofit dapat menekan penetrasi dan populasi *P. brachyurus* pada nilam sebesar 54,8-70,6% di rumah kaca (Harni *et al.* 2011). Aplikasi bakteri endofit melalui perendaman akar nilam efektif menekan populasi *P. brachyurus* di dalam akar nilam (Harni *et al.* 2006) serta aplikasi bakteri endofit 3-10 hari sebelum tanam dapat mengurangi tingkat penetrasi nematoda ke dalam akar (Harni *et al.* 2009).

Mekanisme bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda parasit, antara lain dengan menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann 2001). Induksi ketahanan tanaman adalah fenomena terjadinya peningkatan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen akibat rangsangan. Ketahanan ini merupakan perlindungan tanaman yang didasari pada mekanisme ketahanan yang dirangsang oleh perubahan metabolisme. Induksi ketahanan tanaman terhadap nematoda dapat melalui peningkatan asam salisilat, peroksidase, fitoaleksin, *patogenesis related* protein (PR) dan senyawa fenolik (Tian *et al.* 2007). Mekanisme pengendalian yang lain adalah kompetisi dengan patogen (Sikora *et al.* 2007), kompetisi yang terjadi adalah kompetisi tempat dan makanan. Kompetisi ini terjadi karena nematoda dan endofit menempati ruang ekologis yang sama di akar. Hal ini akan berkaitan erat dengan kepadatan bakteri, tingkat kolonisasi dan lokasi bakteri dalam kaitannya

dengan tempat makan nematoda.

Hasil penelitian potensi bakteri endofit dalam mengendalikan *P. brachyurus* pada tanaman nilam sangat efektif, tetapi bagaimana mekanismenya belum diketahui.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis beberapa karakter yang terkait dengan mekanisme keefektifan bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam.

BAHAN DAN METODE

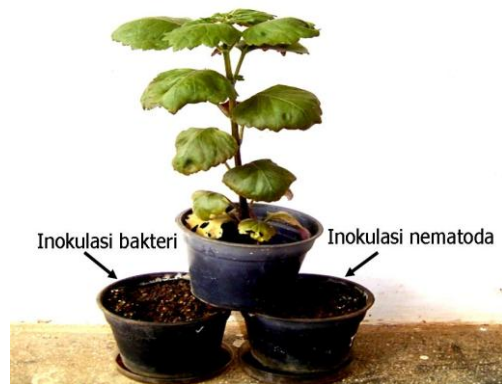
Penelitian dilakukan di laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Laboratorium Bakteriologi Departemen Proteksi Tumbuhan, Faperta IPB, dan Balai Besar Pasca Panen, Bogor.

Lima bakteri endofit yang digunakan (*A. xylosoxidans* TT2, *B. subtilis* NJ57, *B. cereus* MSK, *A. faecalis* NJ16 dan *P. putida* EH11) merupakan bakteri endofit terbaik dalam menekan populasi *P. brachyurus* pada tanaman nilam (Harni *et al.* 2010). Bakteri endofit diperbanyak pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) (Hallmann 2001) selama 48 jam pada suhu kamar. Koloni yang terbentuk selanjutnya disuspensikan dalam air steril.

Induksi ketahanan sistemik

Uji potensi induksi ketahanan sistemik dari bakteri endofit terhadap *P. brachyurus* dilakukan dengan metode *split root system* (Hasky-Gunther *et al.* 1998). Tanaman nilam berumur satu bulan dibongkar, dan ditanam di dalam pot berdiameter 10 cm. Di bawah pot tersebut diletakkan

dua buah pot lainnya yang berisi medium tumbuh tanaman. Akar dari tanaman pada pot yang di atas, dibagi dua dan masing-masing dimasukkan ke dalam medium tanah pada pot yang di bawahnya (Gambar 1). Dua minggu setelah pemisahan akar, salah satu dari dua pot yang ada di bawah kemudian diinokulasi dengan 50 ml suspensi bakteri (*A. xylosoxidans* TT2, *B. subtilis* NJ57, *A. faecalis* NJ16, *B. cereus* MSK, dan *P. putida* EH11) masing-masing dengan kerapatan 10^9 cfu/ml, dan enam hari setelah perlakuan bakteri, dan pot lainnya diinokulasi dengan 100 ekor nematoda. Empat minggu setelah inokulasi nematoda, tanaman dibongkar, jumlah nematoda dihitung dengan cara mewarnai akar tanaman dengan zat pewarna *acid fuchsin*, kemudian sampel akar diperiksa di bawah mikroskop. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, enam perlakuan dan tujuh ulangan.



Gambar 1. Pengujian induksi ketahanan sistemik tanaman nilam dengan metode *split root system*

Figure 1. Induced systemic resistance test on patchouli with *split root system* methode

Analisis asam salisilat dan peroksidase

Aktivitas asam salisilat dan peroksidase adalah variable pendukung berkaitan dengan induksi ketahanan tanaman dari bakteri endofit terhadap nematoda (Hergaten 1997). Tanaman nilam diperlakukan dengan bakteri endofit (*A. xylosoxidans* TT2, *B. subtilis* NJ57, *A. faecalis* NJ16, *B. cereus* MSK, dan *P. putida* EH11) dengan cara menyiramkan populasi bakteri $OD_{600}=1$ pada pot yang berisi tanaman nilam yang berumur satu bulan. Satu minggu setelah perlakuan, tanaman nilam dibongkar untuk dianalisis kandungan asam salisilatnya. Selanjutnya, enam dan 12 hari setelah perlakuan, aktivitas peroksidase di dalam tanaman dianalisis. Analisis kadar asam salisilat dan peroksidase dilakukan di Balai Besar Pascapanen Bogor.

Aktivitas peroksidase diukur berdasarkan metode pengukuran absorbansi langsung menggunakan spektrofotometer. Akar ditimbang sebanyak 1 g kemudian dihancurkan dengan mortar dalam buffer fosfat 0,01M, pH enam dengan perbandingan 1:4. Ekstrak akar disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Whatman. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai sediaan enzim. Pengamatan aktivitas enzim dilakukan dengan memasukan sediaan enzim sebanyak 0,2 ml yang sudah diencerkan 1:3 dengan buffer fosfat 0,01 M, pH enam dimasukkan ke dalam tabung reaksi berdiameter satu cm yang berisi lima ml larutan pirogalol 0,5 M dan 0,5 ml H_2O_2 satu

persen. Suspensi larutan dihomogenkan selama 5-10 detik dan nilai absorbansinya dihitung pada panjang gelombang 420 nm dengan interval waktu setiap 30 detik selama 150 detik. Apabila nilai absorbansi terlalu tinggi dapat dilakukan pengenceran terhadap sediaan enzim dengan buffer fosfat. Sebelum dilakukan penghitungan, nilai absorbansi yang diperoleh, terlebih dahulu dikurangi dengan blanko. Rata-rata nilai absorbansi ($AOD = b$) dari satu pengamatan dicari dengan menggunakan persamaan regresi ($Y = a + bx$) unit aktivitas enzim UAE dihitung dengan rumus : $UAE = AOD \times \text{sediaan enzim (ml)} / \text{bobot basah kontrol (g)}$

Aktivitas asam salisilat diukur menggunakan teknik HPLC. Akar ditimbang sebanyak lima g kemudian dihancurkan dengan mortar dalam 50 ml buffer asetonitril. Buffer dibuat dengan mengatur pH dengan H_3PO_4 0,4% sehingga mencapai 2,24. Ekstrak akar dihomogenisasi selama 1 jam, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama lima menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring yang berukuran 0,45 μ m. Supernatan yang diperoleh disuntikkan ke HPLC.

Induksi respon pertahanan biokimia

Salah satu respon pertahanan biokimia terhadap nematoda adalah terbentuknya senyawa fenol di dalam jaringan tanaman. Analisis senyawa fenol diukur dengan HPLC (Hamilton dan Sewel 1981 dalam Mustika *et al.* 2002). Caranya tanaman nilam diperlakukan dengan bakteri endofit (*A.*

xylosoxidans TT2, *B. subtilis* NJ57, *A. faecalis* NJ16, *B. cereus* MSK, dan *P. putida* EH11) selanjutnya diinokulasi dengan nematoda. Kemudian diamati total senyawa fenol pada akar tanaman yang diperlakukan dengan bakteri endofit, nematoda dan tanpa diperlakukan pada satu minggu setelah inokulasi (msi). Sebanyak satu gram akar dari masing-masing perlakuan dicuci dan diekstraksi dengan larutan acetat satu persen dalam 10 ml metanol 70%, kemudian dimasukkan ke dalam homogenizer. Ekstrak disaring dengan kertas saring Whatman 40, kemudian disuntikkan ke dalam HPLC.

Produksi hormon pertumbuhan (analisis kadar *indol acetic acid*)

Untuk data bakteri endofit memacu pertumbuhan dengan menganalisis *indol acetic acid* (IAA) diacu pada hasil penelitian Harni (2008). Tanaman nilam diperlakukan dengan bakteri endofit dengan cara menyiramkan populasi bakteri $OD_{600}=1$ pada pot yang berisi tanaman nilam yang berumur 1 bulan. Satu minggu setelah perlakuan tanaman nilam dibongkar, kemudian kadar IAA yang ada di dalam akar dianalisis dengan menggunakan metode HPLC di Balai Besar Pasca Panen Bogor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi ketahanan sistemik

Aplikasi lima bakteri endofit pada akar nilam yang ditumbuhkan secara *split root system*, nyata mengurangi populasi *P. brachyurus* di dalam akar dibanding kontrol. *A.*

faecalis NJ16, *A. xylosoxidans* TT2 dan *P. putida* EH11 paling tinggi kemampuannya dalam mengurangi populasi *P. brachyurus* yang menembus akar, yaitu sebesar 68,62-75,84% (Tabel 1). Hal ini berarti ke tiga bakteri tersebut mampu menekan populasi nematoda dengan mekanisme menginduksi ketahanan tanaman. Kemampuan itu diduga karena bakteri endofit dapat menstimulasi gen-gen ketahanan pada seluruh bagian tanaman sehingga infeksi nematoda dapat ditekan.

Beberapa peneliti melaporkan bahwa bakteri endofit berpotensi mengurangi kerusakan tanaman terinfeksi nematoda. Mekanismenya menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik (Hallmann 2001; Hasky-Gunther *et al.* 1998). Induksi ketahanan sistemik akan mempengaruhi proses fisiologis di dalam akar seperti mencegah proses makan nematoda, mencegah terbentuknya *feeding site* (tempat makan nematoda seperti *sinsitium*, dan *puru*), menghambat penetrasi, dan reproduksi nematoda (Sikora *et al.* 2007). Hasil percobaan Reitz *et al.* (2000) dengan teknik *split root*, pada tanaman kentang menggunakan *Rhizobium etli* dapat menurunkan penetrasi nematoda sista (*Globodera pallida*) pada akar kentang. Hasil penelitian mereka menunjukkan lipo-polisakarida (LPS) dari *R. etli* bertindak sebagai agen penginduksi ketahanan sistemik terhadap *G. pallida* pada akar kentang. Sedang Hasky-Gunther *et al.* (1998) menggunakan *Agrobacterium radiobacter* (G12) dan

Tabel 1. Pengaruh bakteri endofit terhadap populasi *P. brachyurus* pada tanaman nilam dengan metode *split root system*

Table 1. Effect of endophytic bacteria to *P. brachyurus* population with split root system method

Bakteri endofit <i>Endophytic bacteria</i>	Populasi nematoda <i>Nematode population</i>	Pengurangan populasi <i>Population reduction (%)</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i> NJ16	6,16 ± 2,13 a	75,84
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> TT2	8,00 ± 1,67 a	68,62
<i>Pseudomonas putida</i> EH11	8,00 ± 3,76 a	68,62
<i>Bacillus cereus</i> MSK	15,20 ± 2,04 b	40,39
<i>Bacillus subtilis</i> NJ57	17,80 ± 4,32 b	30,07
Tanpa bakteri endofit <i>Without endophytic bacteria</i>	25,50 ± 1,29 c	-

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan, $\alpha = 5\%$.

Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at 5% level DMRT

dan *Bacillus sphaericus* (B43) untuk mengendalikan *G. pallida*, kedua strain bakteri secara nyata mengurangi larva dua *G. pallida* yang mempenetrasi akar kentang hingga 66% dibanding kontrol.

Analisis peroksidase

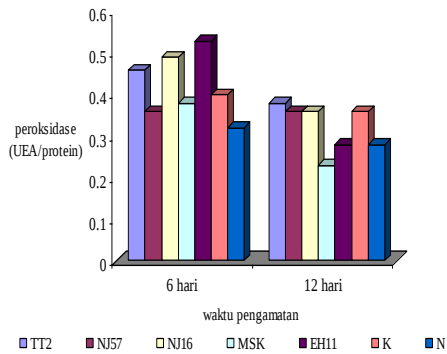
Hasil analisis peroksidase menunjukkan bahwa bakteri endofit *P. putida* EH11, *A. xylosoxidans* TT2 dan *A. faecalis* NJ16 memiliki aktivitas peroksidase yang lebih tinggi dibanding dengan kontrol. *P. putida* EH11 memperlihatkan aktifitas yang tinggi pada enam hari dan menurun pada 12 hari setelah aplikasi demikian juga dengan bakteri *A. xylosoxidans* TT2 dan *A. faecalis* NJ16 (Gambar 2).

Tingginya aktivitas peroksidase berasosiasi dengan lambatnya proses infeksi dan berhubungan dengan lignifikasi serta pembentukan

hydrogen peroksida yang menghambat patogen secara langsung atau pembentukan radikal bebas yang memiliki efek anti mikroba. Pembentukan barrier fisik seperti lignifikasi dan suberisasi dapat mencegah penetrasi nematoda ke jaringan (Liharska dan Williamson 1997).

Selanjutnya Liharska dan Williamson (1997) menjelaskan bahwa mekanisme peroksidase dalam mengendalikan nematoda dengan menginduksi hipersensitif reaksi (HR) yaitu dengan reaksi cepat melokalisasi sel, kemudian terbentuk nekrosis pada jaringan di daerah infeksi. Nematoda akhirnya mati, karena jaringan tersebut mati sehingga nematoda tidak mendapatkan makanan dari jaringan tersebut. Pada nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) HR berkembang di dekat kepala larva dua yang masuk ke dalam akar atau

di sel dekat tempat nematoda mengambil makanan. Larva dua akan gagal membentuk *feeding site* dan selanjutnya akan mati atau meninggalkan akar.

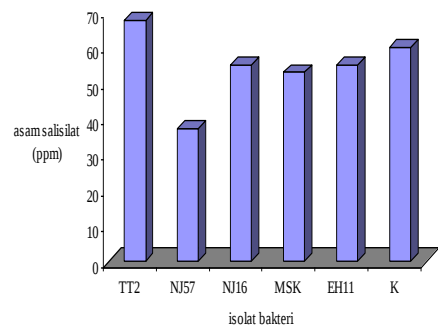


Gambar 2. Pengaruh bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus subtilis* (NJ57), *Alcaligenes faecalis* (NJ16), *Bacillus cereus* (MSK) dan *Pseudomonas putida* (EH11), terhadap aktivitas enzim peroksidase pada tanaman nilam. K= tanpa bakteri endofit, N= inokulasi dengan nematoda.

Figure 2. Effect of endophytic bacteria *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus subtilis* (NJ57), *Alcaligenes faecalis* (NJ16), *Bacillus cereus* (MSK) and *Pseudomonas putida* (EH11), of the peroxidase activity in patchouli. K= without endophytic bacteria, N= inoculated to nematodes

Analisis asam salisilat

Hasil percobaan memperlihatkan bahwa tidak semua tanaman yang diberi bakteri endofit memiliki aktivitas asam salisilat yang lebih tinggi dibanding dengan kontrol (Gambar 3). Aktivitas asam salisilat merupakan salah satu indikator bahwa pada tanaman terjadi induksi ketahanan sistemik. Kadar asam salisilat tertinggi ditemukan pada tanaman yang diperlakukan dengan *A. xylosoxidans* TT2 yaitu 67,48 ppm sedang pada tanaman tanpa bakteri endofit (K) yaitu 60,06 ppm dan kadarnya lebih rendah lagi pada *B.*



Gambar 3. Pengaruh bakteri endofit *A. xylosoxidans* (TT2), *B. subtilis* (NJ57), *A. faecalis* (NJ16), *B. cereus* (MSK) dan *P. putida* (EH11) terhadap kadar asam salisilat dalam tanaman nilam satu minggu setelah inokulasi

Figure 3. Effect of endophytic bacteria *A. xylosoxidans* (TT2), *B. subtilis* (NJ57), *A. faecalis* (NJ16), *B. cereus* (MSK) and *P. putida* (EH11) of the salicylic acid in patchouli one week after inoculated

subtilis NJ57, *B. cereus* MSK dan *P. putida* EH11. Hal ini membuktikan bahwa mekanisme kerja dari bakteri endofit tidak sama untuk setiap isolat.

Peran biosintesis asam salisilat dalam peningkatan mekanisme pertahanan terhadap nematoda parasit tanaman telah dilaporkan oleh Siddiqui dan Shaukat (2004). *Pseudomonas fluorescens* mendorong induksi ketahanan sistemik terhadap infeksi nematoda puru akar melalui sinyal transduksi independen dari asam salisilat yang terakumulasi di akar. Hasky-Gunther *et al.* (1998) mempelajari ekspresi protein pada induksi ketahanan sistemik yang diinduksi bakteri pada kentang yang diserang nematoda sista *G. pallida*. Hasil ekspresi protein ISR pada tanaman kentang yang inokulasi dengan *B. sphaericus* B43 memperlihatkan sebuah novel band protein (38 kDa) sama dengan pola PR-protein.

Pada lobak yang diperlakukan dengan bakteri *P. fluorescens* WCS374 dan WCS417 terjadi peningkatan aktivitas asam salisilat sehingga tanaman terinduksi ketahanannya secara sistemik (Van Loon dan Bakker 2006). Sedang pada tembakau dan buncis yang diperlakukan dengan bakteri *P. aeruginosa* 7NSK2, induksi ketahanan sistemik terpicu oleh peningkatan asam salisilat dalam tanaman (De Meyer *et al.* 1999).

Induksi respon pertahanan biokimia

Hasil analisis senyawa fenol pada akar tanaman nilam, bakteri *A.*

xylosoxidans TT2, *A. faecalis* NJ16 dan *P. putida* EH11 dapat meningkatkan senyawa fenol dalam jaringan akar dibanding isolat endofit yang lain (*B. subtilis* NJ57, dan *B. cereus* MSK) (Tabel 2). Tingginya aktifitas fenol pada *A. xylosoxidans* TT2, *A. faecalis* NJ16 dan *P. putida* EH11 berhubungan dengan kemampuan ketiga bakteri ini dalam mengendalikan *P. brachyurus* di rumah kaca dan lapang. Aktivitas fenol merupakan salah satu mekanisme tanaman untuk menghindari serangan nematoda terutama nematoda yang bersifat berpindah. Senyawa ini membuat suatu lingkungan toksik untuk perkembangbiakan nematoda. Anita *et al.* (2004) melaporkan terdapat akumulasi senyawa fenol setelah tanaman diinokulasi dengan *P. fluorescens* Pfl agens biokontrol *M. incognita*. Compant *et al.* (2005) melaporkan bahwa bakteri endofit *Burkholderia phytofirmans* menginduksi akumulasi senyawa fenolik dan penguatan dinding sel dalam eksodermis pada tanaman anggur.

Hormon pertumbuhan (indol acetic acid / IAA)

Produksi IAA tertinggi dari ke lima isolat adalah *B. cereus* MSK yaitu 189,35 ppm, *B. subtilis* NJ57 (169,61 ppm), TT2 (157,64 ppm), *A. faecalis* NJ16 (148,27) dan *P. putida* EH11 sebesar 148,00 ppm (Harni 2008). Bacon dan Hinton (2007) menjelaskan bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auxin dan sitokinin. Thakuria *et al.* (2004) telah menemukan 14 jenis bakteri perakaran padi

Tabel 2. Kadar senyawa fenol pada tanaman nilam yang diperlakukan dengan bakteri endofit dan nematoda parasit

Table 2. Levels of phenolic compounds in patchouli plants after treated with endophytic bacteria and nematode

Bakteri endofit <i>Endophytic bacteria</i>	Kadar senyawa fenol <i>Fenol content (ppm)</i>
<i>A. xylosoxidans</i> TT2	150,94 ± 1,17 a
<i>P. putida</i> EH11	105,24 ± 4,85 b
<i>B. subtilis</i> NJ57	66,08 ± 2,89 d
<i>A. faecalis</i> NJ16	110,57 ± 0,42 b
<i>B. cereus</i> MSK	67,56 ± 4,46 d
Nematoda	86,33 ± 3,56 c
Tanpa bakteri endofit <i>Without endophytic bacteria</i>	75,16 ± 3.94 cd

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan, $\alpha = 0,05$

Note : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level DMRT

yang dapat menghasilkan IAA yang terdiri atas kelompok *Azospirillum*, *Bacillus*, *P. fluorescens* dan *Bulkholderia*. IAA yang dihasilkan bakteri endofit *A. xylosoxidans* dari akar gandum dapat meningkatkan panjang akar, batang, berat segar tanaman dan jumlah klorofil (Jha dan Kumar 2009).

Hasil-hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa setiap jenis bakteri endofit yang diuji mempunyai mekanisme spesifik, baik dalam menekan populasi nematoda parasit *P. brachyurus* maupun menginduksi senyawa-senyawa yang berperan dalam peningkatan ketahanan dan pertumbuhan tanaman nilam (Tabel 3). Mekanisme yang paling menentukan dalam pengendalian *P. Brachyurus* adalah peningkatan senyawa-senyawa penginduksi ketahanan, seperti produksi asam salisilat, peroksidase dan senyawa fenol. Dari hasil analisis isolat yang menginduksi ketahanan dengan peningkatan asam salisilat adalah *A. xylosoxidans* TT2, senyawa fenol adalah *A. xylosoxidans* TT2, *P. putida* EH11 dan *A. faecalis* NJ16 sedangkan untuk peroksidase adalah *P. putida* EH11, *A. faecalis* NJ16 dan *A. xylosoxidans* TT2 senyawa-senyawa ini lebih berpengaruh dalam menekan populasi *P. brachyurus* dibanding dengan *B. subtilis* NJ57 dan *B. cereus* MSK yang mekanismenya secara antagonis dan peningkatan IAA. Hal ini sejalan dengan pendapat Hallmann (2001) dan Sikora *et al.* (2007) bahwa mekanisme bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda adalah melalui peningkatan ketahanan tanaman. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa aplikasi beragam jenis bakteri endofit yang berbeda mekanisme kerjanya perlu dilakukan secara bersamaan untuk mendapatkan pengendalian yang optimal.

Tabel 3. Mekanisme kerja bakteri endofit dalam mengendalikan *P. brachyurus* pada nilam

Table 3. Mechanism of action of endophytic bacterial in controlling *P. brachyurus* on patchouli

Bakteri endofit <i>Endophytic bacteria</i>	Induksi ketahanan <i>Resistance inducer compound</i>			IAA IAA*	Populasi nematoda (ekor) <i>Nematode population</i>	Berat terna <i>Fresh weight (kg)</i>
	Peroksidase <i>Peroxidase</i>	Asam salisilat <i>Salicylic acid</i>	Fenol <i>Phenolic</i>			
<i>A. xylosoxidans</i> TT2	+	+	+	+	39	4,00
<i>P. putida</i> EH11	+	-	+	+	40	2,90
<i>A. faecalis</i> NJ16	+	-	+	+	44	3,56
<i>B. subtilis</i> NJ57	-	-	-	+	150	2,60
<i>B. cereus</i> MSK	-	-	-	+	145	2,26
Kontrol/ <i>Control</i>					335	2,54

Keterangan : - tidak menghasilkan, + menghasilkan, IAA = indole acetic acid

Note : - Does not produce, + produce, IAA = indole acetic acid

* = Sumber Harni (2008)

KESIMPULAN

Mekanisme keefektifan bakteri endofit *A. xylosoxidans* TT2, *A. faecalis* NJ16, *P. putida* EH 11, *B. cereus* MSK sebagai agens hayati terhadap *P. brachyurus* terjadi melalui induksi ketahanan dengan beberapa cara yang sangat spesifik dan bergantung pada jenis bakteri endofitnya. Mekanisme peningkatan aktivitas enzim peroksidase terlihat pada tanaman nilam yang diperlakukan dengan endofit *P. putida* EH11, *A. faecalis* NJ16 dan *A. xylosoxidans* TT2. Sedangkan peningkatan aktivitas asam salisilat dan senyawa fenol ditunjukkan oleh *A. xylosoxidans* TT2 dan *A. faecalis* NJ16. Semua bakteri menghasilkan IAA terutama adalah *B. cereus* MSK. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa aplikasi beragam jenis bakteri endofit

yang berbeda mekanisme kerjanya tersebut perlu dilakukan secara bersamaan untuk mendapatkan pengendalian yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anita, B., G. Rajendran, dan R. Samiyappan. 2004. Induction of systemic resistance in tomato against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* by *Pseudomonas fluorescens*. *Nematologica Mediterranea*. 32 : 47-51.
- Bacon, C.W. dan S.S. Hinton. 2007. Bacterial endophytes : The endophytic niche, its occupants, and its utility. *Di dalam*: Gnanamanickam SS. Gnanamanickam (ed.). *Plant-Associated Bacteria*. Springer, Berlin. pp. 155-194.

- Compant, S., B. Reiter, J. Nowak, dan E. Ait Barka. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera*. Applied Enviromental Microbiology. 71 : 1685-1693.
- De Meyer, G., K. Capieau, K. Audenaert, A. Buchala, J.P. Metraux, dan M. Hofte. 1999. Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *P. aeruginosa* 7NSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. Mol. Plant-Microbe Interact. 12 : 450-458.
- Hallmann, J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. *Di dalam* : Jeger MJ. and Spence NJ, editor. Biotic Interaction In Plant-Pathogen Associations. CAB International.
- Harni, R., Supramana, A. Munif, dan I. Mustika. 2006. Pengaruh metode aplikasi bakteri endofit terhadap perkembangan nematode peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 12 : 129-171.
- Harni, R., A. Munif, Supramana, dan I. Mustika. 2007. Potensi bakteri endofit pengendali nematoda peluka akar *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. Hayati. 14 :8-12.
- Harni, R. 2009. Pengaruh beberapa isolat bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. Prosiding Seminar Nasional Pengendalian terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam. Bogor, 4 Nopember 2008.
- Harni, R. Supramana, M.S. Sinaga, Giyanto dan Supriadi. 2009. Keefektifan beberapa cara aplikasi bakteri endofit dalam mengendalikan nematode peluka akar *Pratylenchus brachyurus* pada nilam. *Di dalam* Strategi perlindungan tanaman menghadapi perubahan iklim global dan system perdagangan bebas. Prosiding Seminar Nasional Perlindungan Tanaman, Bogor 5-6 Agustus 2009. hlm. 212-221.
- Harni, R. Supramana, M.S. Sinaga, Giyanto dan Supriadi. 2010. Pengaruh filtrat bakteri endofit terhadap mortalitas, penetasan telur dan populasi nematoda peluka akar *Pratylenchus brachyurus* pada nilam. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 16 : 43-47.
- Harni, R. Supramana, M.S. Sinaga, Giyanto dan Supriadi. 2011. Keefektifan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 17 : 6-10.
- Hasky-Gunther, K., S. Hoffmann-Hergarten, dan R.A. Sikora. 1998. Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systemically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43). Fundam. Appl. Nematol. 21 : 511-517.

- Jha, P. dan A. Kumar. 2009. Characterization of novel plant growth promoting endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* from wheat plant. *Microbial Ecology* 58 (1): 179-188.
- Liharska, T. dan V.W. Williamson. 1997. Resistance to root knot nematodes in tomato. *Di dalam* : Fenoll C, Grundler FMW, Ohi SA. eds. *Celluler and Molecular Aspects of Plant Nematode Interaction*. Kluwer Academic Publishers, Nederland. pp. 191-200.
- Mustika, I., A. Rahmat dan Suyanto. 1995. Pengaruh pupuk, pestisida dan bahan organik terhadap pH tanah, populasi nematoda dan produksi nilam. *Medkom Penelitian dan Pengembangan Tantri*. 15 : 70-74.
- Mustika, I., Y. Nuryani dan R. Harni. 2002. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan nilam (*Pogostemon* spp.) dan kemungkinan ketahanannya terhadap *Pratylenchus brachyurus*. *Bul. Littro*. 13 : 1-10.
- Reitz, M., K. Rudolph, I. Schroder, S. Hoffmann - Hergarten, J. Hallmann dan R.A. Sikora. 2000. Lipopolysaccharides of *Rhizobium etli* G12 act in potato roots as an inducing agent of systemic resistance to infection by cyst nematode *Globodera pallida*. *Applied and Environ. Microbiol* 66 : 3515-3518.
- Siddiqui, I.A. dan S.S. Shaukat. 2004. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root knot nematode, *Meloidogyne javanica* is dependent of salicylic acid production. *J. Phytopathol.* 152 : 48-54.
- Sikora, R.A., K. Schafer dan A.A. Dababat. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology*. 36 : 124-134.
- Supramana, Supriadi dan R. Harni. 2007. Seleksi dan karakterisasi bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. Laporan Hasil Penelitian Institut Pertanian Bogor dengan Litbang Pertanian Proyek KKP3T. 28 hlm.
- Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika dan R.C. Boro. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Current Science*. 86 : 978-985.
- Tian, B., J. Yang dan K. Zhang. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes : populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbiol Ecol.* 61 : 197-213.

Van Loon, L.C. dan P.A.H.M Bakker.
2006. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. *Di*

dalam : Siddiqui ZA. Publishing Springer. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Nederland. pp. 39-66.