

PENGENDALIAN PENYAKIT LAYU BAKTERI NILAM MENGGUNAKAN *Bacillus* spp. DAN *Pseudomonad fluorensen*

CHRISNAWATI ¹⁾; NASRUN ²⁾ dan TRIWIDODO ARWIYANTO ³⁾

¹⁾ Fakultas Pertanian Universitas Mahaputra Muhammad Yamin Solok

²⁾ KP.Laing Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Solok

³⁾ Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

(Terima tgl. 23/12/2008 – Terbit tgl.4/6/2009)

ABSTRAK

Penelitian pengendalian penyakit layu bakteri nilam (*Ralstonia solanacearum*) menggunakan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorensen* di kebun petani nilam di Nagari Kajai, Pasaman Barat, Sumatera Barat telah dilakukan pada bulan Mei sampai November 2006. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorensen* yang berpotensi untuk mengendalikan penyakit layu bakteri, dan meningkatkan pertumbuhan dan produksi nilam. Isolat *Bacillus* spp. Bc 26; Bc 80 dan Bc 81 dan *Pseudomonad fluorensen* Pf 101; Pf146 dan Pf 170 dalam bentuk kombinasi sebagai perlakuan yang diisolasi dari rizosfer nilam sehat, dan diseleksi berdasarkan kemampuan antagonistik terhadap *R. solanacearum* secara *in vitro* di laboratorium dan *in planta* di rumah kaca KP Balitro Laing Solok. Isolat *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorensen* tersebut diintroduksi ke nilam dan dibiarkan selama 1 minggu sebelum ditanam. Tanaman yang telah diperlakukan dengan isolat *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorensen* ditanam pada kebun nilam yang telah terinfeksi oleh bakteri patogen pada bulan Mei 2006. Perlakuan yang diuji disusun dalam rancangan acak kelompok (RAK) dengan 3 ulangan. Parameter pengamatan adalah perkembangan penyakit layu bakteri meliputi masa inkubasi dan intensitas penyakit, pertumbuhan dan produksi tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi isolat *Bacillus* spp. Bc26 dan *Pseudomonad fluorensen* Pf101 dapat mengendalikan penyakit layu bakteri nilam lebih baik dibandingkan dengan isolat *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad fluorensen* Pf 101 secara terpisah dan isolat *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorensen* lainnya secara kombinasi dan terpisah. Kombinasi isolat *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad fluorensen* Pf 101 dapat menunda masa inkubasi gejala penyakit layu bakteri dari 21 hari setelah tanam (HST) menjadi 63 HST dan menekan intensitas penyakit layu bakteri dari 63,90% menjadi 14,67%. Di samping itu kombinasi kedua isolat tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman seperti tinggi tanaman dari 35,53 cm menjadi 52,77 cm, jumlah daun total dari 32,00 daun/tanaman menjadi 104,67 daun/tanaman, jumlah tunas dari 10,33 tunas/tanaman menjadi 25,33 tunas/tanaman, berat basah daun dari 16,20 g/petak menjadi 81,73 g/petak dan berat kering daun dari 5,44 g/petak menjadi 27,15 g/petak. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa kombinasi isolat *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad fluorensen* Pf 101 mempunyai kemampuan tertinggi dalam mengendalikan penyakit layu bakteri dan meningkatkan pertumbuhan tanaman nilam di lapang.

Kata kunci: *Pogostemon cablin* Benth, penyakit layu bakteri, pengendalian, *Bacillus* spp., *Pseudomonad fluorensen*

ABSTRACT

Use of Bacillus sp. and Fluorecent Pseudomonad to Control Bacterial Wilt Disease on Patchouli Plant

The study of controlling bacterial wilt disease on patchouli plant (*Ralstonia solanacearum*) with *Bacillus* spp. and *Fluorescent pseudomonad* was carried out in farmer field in Kajai Village, West Pasaman, West

Sumatra from May to November 2006. The aims of the study were to find out the effectiveness of *Bacillus* spp. and *Fluorescent pseudomonad* for controlling bacterial wilt disease, and increasing plant growth and production. Isolates of *Bacillus* spp. Bc 26, Bc 80, and Bc 81, and *Fluorescent pseudomonad* Pf 101, Pf 146 and Pf 170 in combination or separation as treatments were isolated from the rhizosphere of healthy patchouli plant, and selected based on antagonistic activity on *R. solanacearum* *in vitro* at the laboratory and *in planta* at green house of KP. Balitro Laing Solok. Isolates were inoculated on patchouli plant and remained for one week before planting. The plants, treated with *Bacillus* spp. and *Fluorescent pseudomonad* isolates, were planted in the field infected with pathogen bacterial in May 2006. The treatment was arranged in a randomized block design (RBD) with three replications. The assessment parameters were incubation period, disease intensity, plant growth and production of patchouli plants. The results showed that combination of *Bacillus* spp. and *Fluorescent pseudomonad* could control the bacterial wilt disease better than *Bacillus* spp. Bc 26 and *Fluorescent pseudomonad* separately, and the other *Bacillus* spp. and *Fluorescent pseudomonad* either in combination or separation. Combination of *Bacillus* spp. Bc26 and *Fluorescent pseudomonad* Pf 101 delayed the incubation period from 21 to 63 days and decreased the disease intensity of bacterial wilt from 63.90 to 14.67%. In addition combination of both isolates could affect the increase of plant growth, i.e plant height from 35.53 to 52.77 cm, total numbers of leaves from 32.00 to 104 leaves/plant, budding numbers from 10.33 to 25.33 budding/plant, wet weight of leaves from 16.20 to 81.73 g/plot, and dry weight of leaves from 5.44 to 27.15 g/plot. The results of the experiment showed that *Bacillus* spp. Bc 26 and *Fluorescent pseudomonad* Pf 101 isolates have the highest activity on controlling the bacterial wilt disease and increase the growth of patchouli plant in the field.

Key words: Patchouli, *Pogostemon cablin* Benth, bacterial wilt disease, biological control, *Bacillus* spp., *Fluorescent pseudomonad*

PENDAHULUAN

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan komoditas ekspor penting di Indonesia. Tanaman ini menghasilkan minyak atsiri (*patchouli oil*) yang biasanya digunakan untuk memenuhi kebutuhan industri parfum dan kosmetika serta sebagai bahan pengikat (fiksatif) wewangian (ASNAWI dan PUTRA, 1990).

Dalam pengembangan nilam ditemukan kendala, di antaranya penyakit layu bakteri yang menyebabkan kerugian hasil mencapai 60-80% (ASMAN *et al.*, 1993). Penyakit ini disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* E.F.Smith (SUPRIADI *et al.*, 2000; NASRUN *et al.*, 2007).

Pengendalian penyakit yang dilakukan adalah pemakaian mulsa jerami padi, ampas nilam, antibiotik, pemupukan dengan abu sekam, tetapi hasil dicapai masih kurang memuaskan (ASMAN, 1996). Penggunaan agens hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian yang diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut. Di antara antagonis yang telah dikembangkan adalah *Pseudomonad fluoresen* dan *Bacillus* spp.

Pseudomonad fluoresen dapat menekan perkembangan penyakit layu bakteri jahe (MULYA *et al.*, 2000) yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*. *Pseudomonas fluorescens* WCS 374 dari kelompok *Pseudomonad fluoresen* mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman radish melalui induksi ketahanan sistemik dengan menghasilkan asam salisilat pada kondisi Fe rendah (PRESS *et al.*, 2001). Begitu juga *Pseudomonas fluorescens* strain A 506 dapat mengendalikan penyakit *bacterial speck* yang disebabkan bakteri *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* pada tanaman tomat sampai 78% (WILSON *et al.*, 2002) dan penyakit *fire blight* disebabkan oleh *Erwinia amylovora* pada tanaman *pear* dan apel sampai 50-80% dalam waktu 24 hari setelah aplikasi (LINDOW dan SUSLOW, 2003). Selanjutnya *Pseudomonad fluoresen* dapat mengendalikan penyakit Lincat yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* pada tembakau (HERU, 2006). Dari hasil pengujian *Pseudomonad fluoresen* yang berasal dari rizosfer nilam, diperoleh beberapa isolat *Pseudomonad fluoresen* yang dapat menekan pertumbuhan *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada nilam (NASRUN *et al.*, 2004 dan NASRUN *et al.*, 2005).

Begitu pula dengan *Bacillus* spp. (seperti *Bacillus subtilis*) dapat mengendalikan penyakit layu bakteri pada kentang dan meningkatkan hasil umbi kentang sampai 160% (SUNAINA *et al.*, 2003). *B. subtilis* pada biji tomat dapat mengendalikan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* (KARUNA *et al.*, 2003). Selanjutnya *Bacillus* spp. dapat mengendalikan penyakit lincat disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* pada tanaman tembakau (HERU, 2006).

Pemanfaatan kombinasi antagonis dalam pengendalian penyakit tanaman merupakan langkah perbaikan pendekatan pengendalian hayati. Kombinasi antagonis ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan antagonis tingkat perlindungan yang lebih tinggi, karena dapat mengurangi variabilitas antagonis (GUETSKY *et al.*, 2001) dan mempunyai kemampuan penekanan patogen secara mekanisme terpadu dari setiap antagonis (JETIYANON dan KLOEPPER, 2002 dalam BOER *et al.*, 2003). Seperti *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus pumilis* dapat mengendalikan *Botrytis cinerea* pada stroberi yang menghasilkan senyawa *volatile* dengan pengaruh fungistatik (GUETSKY *et al.*, 2002).

Dari mekanisme antagonistik terlihat *Pseudomonad fluoresen* lebih cenderung menggunakan kemampuan kolonisasi akar dan produksi siderofor dan asam sianida,

disamping antibiotik yang begitu rendah. Sebaliknya *Bacillus* spp mempunyai mekanisme antagonistik lebih cenderung dengan kemampuan produksi antibiotik (CAMPBELL, 1989), sehingga dalam hal ini untuk meningkatkan kemampuan kedua antagonis tersebut sebaiknya dilakukan kombinasi mekanisme antagonistik kedua agens hayati tersebut.

Dari hasil penelitian pemanfaatan kombinasi agens hayati *Pseudomonad fluoresen* dan *Bacillus* spp. diharapkan dapat meningkatkan efikasi mekanisme pengendalian hayati kedua agens tersebut terhadap penyakit layu bakteri nilam. Melalui penelitian pengujian tersebut akan didapatkan kombinasi agen hayati yang dapat mengendalikan penyakit layu bakteri nilam secara efektif dan efisien sehingga diharapkan masalah penyakit layu bakteri nilam dapat diatasi dan produksi nilam dapat ditingkatkan secara maksimal.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium dan rumah kaca KP.Laing Balitro Solok dan di kebun petani nilam di Nagari Kajai Pasaman Barat Sumatera Barat pada bulan Mei sampai November 2006.

Isolat *Bacillus* spp. (Bc 26, Bc 80 dan Bc 81) dan *Pseudomonad fluoresen* (Pf 101, Pf 146 dan Pf 170) terpilih dari hasil seleksi antagonistik secara *in vitro* laboratorium dan *in planta* di rumah kaca dan digunakan sebagai perlakuan yang akan diuji. Tanaman nilam, yang tidak diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* digunakan sebagai kontrol. Perlakuan yang diuji disusun dalam rancangan acak kelompok (RAK) dalam bentuk plot pengujian yang terdiri atas 5 tanaman setiap plot, dan masing-masing perlakuan diulang 6 kali.

Isolat *Bacillus* spp dan *Pseudomonad fluoresen* masing-masing ditumbuhkan dan diperbanyak pada médium *Tryptic Soy Agar (TSA)* dan *King,sB* pada temperatur 30°C selama 48 jam. Isolat tersebut selanjutnya disuspensikan pada air steril dalam bentuk terpisah dan kombinasi dengan perbandingan volume tertentu (1:1) dengan tingkat kerapatan populasi 10⁹ cfu/ml sebagai sumber inokulum (ARWIYANTO, 1998).

Inokulasi *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* pada bibit nilam tipe Sidikalang dalam kondisi sehat dilakukan pada bulan Mei 2006 dengan cara merendam akar dalam suspensi bakteri antagonis tersebut selama 30 menit. Bibit yang telah diinokulasikan ditanam dalam polibag berdiameter 10 cm, dan selanjutnya ditempatkan di rumah kaca dan dibiarkan selama 1 minggu.

Bibit nilam yang telah diperlakukan dengan bakteri antagonis ditanam di lapang yang telah terinfeksi oleh bakteri patogen pada bulan Mei 2006. Pengamatan dilakukan pada bulan Mei sampai November 2006.

Sebagai parameter pengamatan adalah: perkembangan penyakit (masa inkubasi dan intensitas penyakit); pertumbuhan tanaman (tinggi tanaman, jumlah daun dan tunas total) dan produksi daun (berat basah dan kering daun).

Penilaian perkembangan penyakit layu bakteri ditentukan dengan perubahan masa inkubasi HST (hari setelah tanam) dan intensitas penyakit (%). Untuk penentuan intensitas penyakit digunakan dengan skala sebagai berikut:

- Skore 0 (sehat) = Semua daun sehat
 1 (ringan) = 1 – 10% daun layu
 2 (sedang) = 11 – 30% daun layu
 3 (berat) = > 30 % daun layu

Pengamatan pertumbuhan tanaman dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman, jumlah daun total dan jumlah tunas. Di akhir pengamatan pada bulan November 2006 dilakukan panen daun nilam beserta cabangnya untuk mengukur produksi daun tanaman berdasarkan berat basah dan kering daun/tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan Penyakit Layu Bakteri

Tanaman nilam yang diperlakukan dengan isolat *Bacillus* spp. (Bc 26, Bc 80, dan Bc 81) dan isolat *Pseudomonad* fluoresen (Pf 101, Pf 146, Pf 170) dalam bentuk kombinasi (1 : 1) ditanam pada kebun yang telah terinfeksi oleh bakteri patogen (*Ralstonia solanacearum*), menunjukkan bahwa kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 mempunyai kemampuan paling tinggi dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri nilam. Hal ini jelas terlihat sampai pengamatan terakhir (63 Hari Setelah Tanam "HST") bahwa tanaman baru menunjukkan gejala daun layu sebagai gejala penyakit (Tabel 1). Sebaliknya nilam, yang tidak diperlakukan dengan strain *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen (kontrol), pada masa inkubasi 21 HST telah menunjukkan gejala daun layu. Dalam hal ini bahwa kombinasi *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 mampu menahan muncul gejala penyakit (Tabel 1). Selanjutnya kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 80 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 dapat menunda munculnya gejala penyakit dari 21 HST menjadi 56 HST, dan kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 146 serta *Bacillus* spp. Bc 81 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 dari 21 HST menjadi 49 HST. Sebaliknya kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 81 dan *pseudomonad* fluoresen Pf 170 tidak mampu menekan perkembangan penyakit dengan penundaan dari 21 HST menjadi 28 HST.

Pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen secara terpisah menunjukkan penundaan gejala penyakit

lebih cepat dibandingkan pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen secara kombinasi. Pemberian *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 secara terpisah mampu menunda muncul gejala penyakit lebih lama yaitu dari 21 HST menjadi 58 HST dibandingkan agen hayati lainnya. Selanjutnya diikuti oleh *Bacillus* spp. Bc 26 dengan masa penundaan gejala penyakit dari 21 HST menjadi 41 HST. Sebaliknya *Pseudomonad* fluoresen Pf 146 dan Pf 170 serta *Bacillus* spp. Bc 80 dan Bc 81 kurang mampu menekan perkembangan penyakit setelah dibandingkan dengan kontrol (Tabel 1). Dalam hal ini jelas terlihat pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen secara kombinasi menunjukkan penundaan gejala penyakit lebih lama dibandingkan dengan pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen secara terpisah. Berarti antara *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen terjadi interaksi dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri nilam. Pada akhir pengamatan (63 HST), kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 terlihat mampu menekan perkembangan penyakit secara nyata lebih besar dibandingkan strain lainnya dengan penekanan intensitas penyakit yaitu dari 63,90% menjadi 8,57%. Sebaliknya kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 81 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 170 kurang mampu menekan perkembangan penyakit (dengan intensitas penyakit yang tinggi 61,10%) dan tidak berbeda nyata dengan nilam tanpa perlakuan (63,90%) (Tabel 2).

Tabel 1. Pengaruh *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen terhadap masa inkubasi gejala penyakit layu bakteri pada nilam di lapang

Table 1. *Effect of Bacillus spp. and Fluorescent pseudomonad on incubation period of disease symptoms on patchouli plant in the field*

<i>Bacillus</i> spp. (Bc) dan <i>Pseudomonad</i> fluoresen (Pf)	Masa inkubasi gejala penyakit (HST) <i>Incubation period of disease symptoms (days after planting)</i>
<i>Bacillus</i> spp. (Bc) and <i>Fluorescent pseudomonad</i> (Pf)	
Bc 26 + Pf 101	63 c
Bc 26 + Pf 146	49 bc
Bc 26 + Pf 170	35 ab
Bc 80 + Pf 101	56 c
Bc 80 + Pf 146	42 b
Bc 80 + Pf 170	35 ab
Bc 81 + Pf 101	49 b
Bc 81 + Pf 146	35 ab
Bc 81 + Pf 170	28 a
Bc 26	41 b
Bc 80	29 a
Bc 81	24 a
Pf 101	58 c
Pf 146	33 ab
Pf 170	26 a
Kontrol	21 a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada p = 0,05

Note: Numbers followed by the same letters are not significantly different at p = 0.05 according to DMRT

Pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* secara terpisah memperlihatkan penekanan intensitas penyakit lebih rendah yaitu 63,90% menjadi 28,57-60,47% dibandingkan dengan pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* secara bersamaan. Pemberian *Pseudomonad fluoresen* Pf 101 secara terpisah mampu menekan intensitas penyakit lebih besar dibandingkan dengan agen hayati lainnya secara terpisah yaitu dari 63,90% menjadi 28,57% dan diikuti oleh *Bacillus* spp. Bc 26 yaitu dari 63,90% menjadi 30,33%. Sebaliknya *Bacillus* spp. Bc 81 dan *Pseudomonad fluoresen* Pf 170 secara terpisah tidak memperlihatkan adanya penekanan intensitas penyakit (Tabel 2). Dalam hal ini terlihat adanya interaksi positif antara *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad fluoresen* Pf 101 dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri nilam.

Berdasarkan penundaan masa inkubasi munculnya gejala penyakit dan penekanan intensitas penyakit jelas terlihat, bahwa sebagian besar isolat *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* yang diuji terutama dalam bentuk kombinasi mempunyai kemampuan antagonistik yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen.

Kemampuan antagonistik kedua strain tersebut dalam menekan perkembangan penyakit dapat dihubungkan dengan mekanisme penghambatan oleh senyawa antibiosis, seperti antibiotik yang dihasilkan kedua strain tersebut (CAMPBELL, 1989). Selanjutnya menurut SASTROSUWIGNYO (1988) bahwa *Bacillus* spp. dapat menghasilkan antibiotik

polipeptida-subtilin, gramisidin, bacitracin, polimiksin, fitoaktin dan bulbiformin. Begitu pula dengan strain *Pseudomonad fluoresen* juga dapat menghasilkan antibiotik seperti *Pseudomonas fluorescens* CHAO dapat menghasilkan antibiotik pyoluteorin (Plt) dan 2-4-diacetyl phyloroglucinol (Phl) yang dapat menghambat *Erwinia carotovora* dan *Gaeunannomyces graminis*. Hal ini jelas terlihat dari hasil pengujian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* secara *in vitro* pada medium *PDA* dapat menekan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* (CHRISNAWATI et al., 2006). Selanjutnya strain *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen*, di samping menghasilkan antibiosis juga mempunyai kemampuan yang tinggi dalam mengkolonisasi akar tanaman, sehingga strain tersebut mampu berkompetisi dalam ruang dan nutrisi dengan bakteri patogen, termasuk patogen tular tanah seperti *R. solanacearum*. Hal ini dikarenakan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* mampu menggunakan berbagai substrat sebagai sumber nutrisi, dan mempunyai pertumbuhan yang jauh lebih cepat dibandingkan bakteri patogen, sehingga dapat mempertahankan populasi secara optimal di akar tanaman (CAMPBELL, 1989). Kompetisi ruang antara *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* dengan bakteri patogen terjadi melalui pembatasan perkembangan dan penyebaran sekunder bakteri patogen oleh *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen*, sehingga *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* terdistribusi secara luas sepanjang sistem perakaran (WELLER dan COOK, 1983). Di samping itu kompetisi nutrisi juga terjadi sebagai akibat terjadinya peningkatan populasi yang tinggi dari *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen*, terutama dalam menggunakan sumber karbon, nitrogen, dan Fe^{3+} untuk pertumbuhan dan aktivitasnya yang dapat mengakibatkan sumber nutrisi yang tersedia untuk kebutuhan patogen menjadi terbatas (BULL et al., 1991).

Dalam hal ini, efektivitas *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* dalam menekan patogen ditentukan oleh kemampuannya menghasilkan antibiosis, induksi ketahanan, kompetisi, dan mengkolonisasi sistem perakaran dalam rentang waktu yang lama dan faktor lingkungan serta penyebaran bakteri di dalam tanah (JANISIEWICZ et al., 2000).

Pertumbuhan Tanaman

Nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen*, baik secara kombinasi maupun terpisah, menunjukkan tinggi tanaman (37,23 - 64,17 cm) lebih tinggi dibandingkan nilam yang tidak diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* (kontrol) yaitu 35,53 cm (Tabel 3). Keadaan ini memperlihatkan adanya pengaruh *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* terhadap pertumbuhan tanaman.

Tabel 2. Pengaruh *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen* terhadap intensitas penyakit layu bakteri pada nilam di lapang pada 63 HST

Table 2. Effect of *Bacillus* spp. and *Fluorescent pseudomonad* on disease intensity (%) of bacterial wilt disease on patchouli plant in the field at 63 DAP

<i>Bacillus</i> spp. (Bc) dan <i>Pseudomonad fluoresen</i> (Pf)	Intensitas penyakit (%) Disease intensity (%)
<i>Bacillus</i> spp. (Bc) and <i>Fluorescent pseudomonad</i> (Pf)	
Bc 26 + Pf 101	14,67 a
Bc 26 + Pf 146	25,00 b
Bc 26 + Pf 170	27,78 b
Bc 80 + Pf 101	36,10 c
Bc 80 + Pf 146	44,43 c
Bc 80 + Pf 170	25,50 b
Bc 81 + Pf 101	24,50 b
Bc 81 + Pf 146	33,33 bc
Bc 81 + Pf 170	61,10 d
Bc 26	30,33 b
Bc 80	46,00 c
Bc 81	59,30 d
Pf 101	28,57 c
Pf 146	56,77 d
Pf 170	60,47 d
Kontrol	63,90 d

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada $p=0,05$

Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at $p = 0.05$ according to DMRT

Tabel 3. Pengaruh *Bacillus* spp dan *Pseudomonad* fluoresen terhadap pertumbuhan tanaman nilam terinfeksi penyakit layu bakteri di lapang pada 63 hari setelah tanam (HST)

Table 3. Effect of *Bacillus* spp and *Fluorescent pseudomonad* on plant growth of patchouli plant in the field at 63 days after planting

<i>Bacillus</i> sp (Bc) dan <i>pseudomonad</i> fluoresen (Pf)	Tinggi tanaman (cm) <i>Plant height</i> (cm)	Jumlah daun total (daun/ tanaman) <i>Total of numbers leaf</i> (leaves/plant)	Jumlah tunas total (tunas/tanaman) <i>Total of numbers budd (budd/plant)</i>
Bc 26 + Pf 101	52,77 c	104,67 e	25,33 c
Bc 26 + Pf 146	43,33 b	51,33 cd	19,33 bc
Bc 26 + Pf 170	44,17 b	42,00 c	17,67 b
Bc 80 + Pf 101	53,50 c	58,00 d	18,00 b
Bc 80 + Pf 146	39,03 ab	22,33 a	8,67 a
Bc 80 + Pf 170	37,23 a	17,33 a	5,33 a
Bc 81 + Pf 101	45,80 b	54,67 c	19,00 bc
Bc 81 + Pf 146	39,10 ab	24,67 a	11,33 b
Bc 81 + Pf 170	37,43 a	34,33 bc	10,67 ab
Bc 26	54,97 a	41,33 b	14,00 b
Bc 80	44,10 b	15,30 d	7,60 a
Bc 81	35,93 b	22,00 d	6,00 a
Pf 101	64,17 a	98,60 a	16,00 b
Pf 146	45,40 b	20,33 d	7,67 a
Pf 170	36,60 b	17,33 d	9,00 a
Kontrol	35,53 a	32,00 d	10,33 ab

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada $p=0,05$

Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at $p = 0.05$ according to DMRT

Tinggi tanaman nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 secara kombinasi (52,77 cm) dan terpisah (54,97 dan 64,17 cm) tidak berbeda nyata dan lebih besar dibandingkan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen lainnya baik secara kombinasi maupun terpisah. Sebaliknya *Bacillus* spp. Bc 81 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 170 menunjukkan tinggi tanaman terendah yaitu 35,93 dan 36,60 cm (Tabel 3). Dalam hal ini tidak terjadi pengaruh interaksi antara *Bacillus* spp. dengan *Pseudomonad* fluoresen terhadap tinggi tanaman.

Begitu juga terhadap jumlah daun total yang dihasilkan, bahwa nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen dalam bentuk kombinasi dan terpisah sebagian besar menghasilkan daun total lebih banyak dibandingkan dengan nilam yang tidak diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen (Tabel 3). Nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101, baik secara kombinasi maupun terpisah mempunyai jumlah daun total (yaitu 104,67, 94,33, dan 108,60 daun) lebih banyak dibandingkan dengan agen hayati lainnya baik secara kombinasi maupun terpisah. Dalam hal ini juga terlihat tidak terjadi pengaruh interaksi antara *Bacillus* spp. dengan *Pseudomonad* fluoresen terhadap jumlah daun (Tabel 3). Rendahnya jumlah daun total pada nilam tanpa perlakuan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen disebabkan tingginya kematian tanaman sebagai akibat tingginya perkembangan penyakit layu pada tanaman tersebut. Adapun tanaman yang bertahan hidup menunjukkan pertumbuhan daun yang rendah dan sebagian menjadi layu. Keadaan ini memperlihatkan adanya pengaruh

Bacillus spp. dan *Pseudomonad* fluoresen terhadap pertumbuhan tanaman.

Begitu juga dengan jumlah tunas, bahwa nilam yang diperlakukan lebih *Bacillus* spp. Bc26 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 101 secara kombinasi menghasilkan jumlah tunas (yaitu 25,33 tunas/tanaman) lebih tinggi dibandingkan dengan nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen lainnya, baik secara kombinasi maupun terpisah (5,33 – 19,33 tunas/tanaman). Sebaliknya nilam yang diperlakukan dengan kombinasi *Bacillus* spp. Bc 80 dan *Pseudomonad* fluoresen Pf 170 menunjukkan jumlah tunas paling rendah yaitu 5,33 tunas/tanaman. Dalam hal ini tidak terlihat adanya pengaruh interaksi *Bacillus* spp. dengan *Pseudomonad* fluoresen terhadap peningkatan jumlah tunas.

Meningkatnya pertumbuhan tanaman pada nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen dapat dihubungkan dengan terjadinya penekanan perkembangan penyakit layu oleh *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen melalui penekanan aktivitas patogen (LANDA *et al.*, 2002). Hal ini terlihat pada nilam yang tidak diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen, menunjukkan gejala penyakit yang tinggi dengan tingkat pertumbuhan tanaman (tinggi tanaman, jumlah daun dan tunas) rendah. Tanaman yang mengalami gejala lanjut (berat), memperlihatkan terjadinya kelayuan daun dan diikuti dengan kematian tanaman.

Peningkatan pertumbuhan tanaman yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad* fluoresen, di samping melalui penekanan penyakit, dapat juga dihubungkan dengan pengaruh tidak langsung dari aktivitas *Pseudomonad* fluoresen dalam menghasilkan hormon tumbuh yang dapat merangsang pertumbuhan akar

tanaman (CAMPBELL, 1989). Terutama *Pseudomonad fluorens* dapat berperan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)* yang berasosiasi dengan akar tanaman dapat menghasilkan hormon tumbuh di antaranya auksin, giberallin dan sitokinin (LANDA *et al.*, 2002; VIDHYASEKARAN, 1991 *cit.* VYDHYASEKARAN, 2004).

Produksi Daun Nilam

Produksi daun nilam, berdasarkan pengamatan berat basah dan kering daun, diketahui bahwa nilam yang diperlakukan menunjukkan peningkatan berat daun, terutama untuk kombinasi strain Bc 26 dan Pf 101 dapat meningkatkan produksi daun basah dari 16,20 g/petak menjadi 81,73 g/petak, dan daun kering dari 5,44 g/petak menjadi 27,15 g/petak (Tabel 4). Sebaliknya nilam yang diperlakukan dengan kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 81 dan *Pseudomonad fluorens* Pf 146 menunjukkan produksi daun nilam paling rendah dengan berat daun basah 19,87 g/petak dan kering daun 5,34 g/petak, dan memperlihatkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan nilam tanpa perlakuan strain *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* yang menghasilkan berat basah dan kering daun 16,20 dan 5,44 g/petak (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* terhadap produksi daun nilam terinfeksi penyakit layu bakteri di lapang pada 63 hari setelah tanam (HST)

Table 4. Effect of *Bacillus* spp and *Fluorescent pseudomonad* on leaf production of patchouli plant infected with bacterial wilt disease in the field at 63 days after planting

<i>Bacillus</i> spp (Bc) dan pseudomonad fluorens (Pf)	Berat basah daun (g/petak)	Berat kering daun (g/petak)
<i>Bacillus</i> spp (Bc) and <i>Fluorescent pseudomonad</i> (Pf)	Wet weight leaves (g/plot)	Dry weight leaves (g/plot)
Bc 26 + Pf 101	81,73 e	27,15 c
Bc 26 + Pf 146	44,07 c	10,25 ab
Bc 26 + Pf 170	31,30 b	8,20 a
Bc 80 + Pf 101	42,60 c	9,99 a
Bc 80 + Pf 146	45,23 c	13,71 b
Bc 80 + Pf 170	42,37 c	9,85 a
Bc 81 + Pf 101	57,53 d	15,13 b
Bc 81 + Pf 146	19,87 a	5,34 a
Bc 81 + Pf 170	27,33 b	7,51 a
Bc 26	46,33 c	14,59 b
Bc 80	25,53 ab	6,96 a
Bc 81	17,37 a	5,75 a
Pf 101	58,80 d	16,46 b
Pf 146	18,43 a	7,17 a
Pf 170	22,63 a	6,61 a
Kontrol	16,20 a	5,44 a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada p=0,05

Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at p = 0.05 according to DMRT

Pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* secara terpisah memperlihatkan peningkatan produksi daun nilam lebih rendah dibandingkan dengan pemberian *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* secara kombinasi. Nilam yang diberi *Pseudomonad fluorens* Pf 101 secara terpisah menunjukkan produksi daun dalam bentuk berat basah yaitu 58,80 g/petak dan berat kering 16,46 g/petak lebih besar dibandingkan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* lainnya. Selanjutnya diikuti oleh *Bacillus* spp. Bc 26 dengan berat basah 46,33 g/petak dan berat kering 14,59 g/petak. Sebaliknya nilam yang diberi *Bacillus* spp. Bc81 menunjukkan produksi daun paling rendah yaitu berat basah 17,37 g/petak dan berat kering 5,75 g/petak (Tabel 4).

Tingginya produksi daun nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* dapat dihubungkan dengan kematian tanaman sangat rendah dan produksi yang tinggi, sebagai akibat adanya kemampuan yang tinggi strain *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* dalam menekan perkembangan penyakit. Hal ini dapat dilihat dari perkembangan penyakit layu bakteri yang rendah sekali. Sebaliknya pada nilam tanpa strain *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* memperlihatkan intensitas penyakit yang tinggi. Di samping itu peningkatan produksi daun nilam yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluorens* juga dapat dihubungkan dengan pengaruh tidak langsung dari aktivitas *Pseudomonad fluorens* menghasilkan hormon tumbuh yang dapat merangsang pertumbuhan akar (CAMPBELL, 1989). Seperti yang dilaporkan WELLER (1988) bahwa strain *Pseudomonas fluorescens* dan *P. putida* yang diaplikasikan pada benih kentang dan lobak dapat meningkatkan hasil kentang 5-33% dan lobak 60-144%. ARWIYANTO (1998) juga melaporkan bahwa perlakuan *Pseudomonad fluorens* terhadap tembakau dapat meningkatkan produksi tembakau sebesar 88-92%.

KESIMPULAN

Hasil pengujian pengendalian penyakit layu bakteri nilam di lapang menunjukkan bahwa kombinasi strain *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonad fluorens* Pf 101 mempunyai kemampuan antagonistik tertinggi dalam mengendalikan penyakit layu bakteri nilam dengan penekanan perkembangan penyakit, yaitu dari intensitas penyakit 63,90% menjadi 8,57%. Kombinasi strain tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman lebih besar dibandingkan strain lainnya, yaitu tinggi tanaman dari 35,53 menjadi 64,17 cm, jumlah daun total dari 32,00 daun/tanaman menjadi 104,67 daun/tanaman, jumlah tunas dari 10,33 menjadi 25,33 tunas/tanaman, berat basah daun dari 16,20 g/petak menjadi 81,33 g/petak, dan berat kering daun dari 5,44 g/petak menjadi 20,59 g/petak. Strain *Bacillus*

spp. Bc 26 dan *Pseudomonas fluorescens* Pf 101 secara terpisah menunjukkan kemampuan antagonistik lebih tinggi dibandingkan dengan strain *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas fluorescens* lainnya secara terpisah. *Bacillus* spp. Bc 26 dan *Pseudomonas fluorescens* Pf 101 dapat menunda gejala penyakit dari 21 HST menjadi 41 dan 58 HST, dan menekan intensitas penyakit dari 63,90% menjadi 30,33 dan 28,57%. Selanjutnya kedua strain tersebut meningkatkan pertumbuhan tanaman yaitu tinggi tanaman dari 35,53 cm menjadi 54,97 dan 64,17 cm; jumlah daun dari 32,00 menjadi 41,33 dan 98,60 daun/tanaman. Pengaruh interaksi antara *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas fluorescens* hanya terjadi dalam penekanan perkembangan penyakit, dan tidak terjadi pada peningkatan pertumbuhan dan produksi tanaman nilam.

DAFTAR PUSTAKA

- ARWIYANTO, T. 1998. Pengendalian secara hayati penyakit layu bakteri pada tembakau. Laporan Riset Unggulan Terpadu IV (1996-1998). Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi Dewan Riset Nasional. p.58.
- ASMAN, A., NASRUN, A. NURAWAN, dan D. SITEPU. 1993. Penelitian penyakit nilam. Risalah Kongres Nasional XII dan Seminar Ilmiah PFI. Yogyakarta. (2): 903-911.
- ASMAN, A. 1996. Penyakit layu dan budok pada tanaman nilam dan cara pengendaliannya. Proceeding Integrated Control of Main Disease of Industrial Crops. RISMC and JICA. Bogor, 284-290.
- ASNAWI, R. dan M.P. PUTRA. 1990. Pengaruh bentuk torehan dan zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan stek nilam (*Pogostemon cablin* Benth). Buletin Litro. 5(1):46-53.
- BOER, M.D., P., BOM, F. KINDT, J.J.B. KEURENTJES, L.V.D. SLUIS, L.C.V. LOON, and P.A.H.M. BAKER. 2003. Control of fusarium wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that different disease suppressive mechanisms. Phytopathology 93: 626 – 632.
- BULL, C.T. D.M. WELLER, and L.S. THOMASHOW. 1991. Relation between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79. Phytopathology. (81): 954-959.
- CAMPBELL, R. 1989. Biological Control of Microbial Plant Pathogens. Cambridge University Press, Cambridge. p.218.
- CHRISNAWATI, T. ARWIYANTO, dan NASRUN. 2006. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Nilam Menggunakan Kombinasi Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* spp. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahap Pertama Dikti (Tidak Publikasi).
- GUETSKY, R., D., SHITIENBERG, Y. ELAD, and A. DINOOR. 2001. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. Phytopathology. 91(43): 621-627.
- GUETSKY, R., D. SHITIENBERG, Y. ELAD, E. FISCHER, and A. DINOOR. 2002. Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. Phytopathology. 92 : 979-985.
- HERU, 2006. Studi pengendalian hayati penyakit lintat tembakau dengan menggunakan kombinasi pseudomonas fluorescens, *Bacillus* spp. dan *Streptomyces* spp. Disertasi UGM, Yogyakarta. (Tidak publikasi).
- JANISIEWICZ, W.J., T.J. TWOROSKI, and SHARER, C. 2000. Characterizing the mechanism of biological control of postharvest disease on fruits with a simple method to study competition for nutrients. Phytopathology. 90 : 1196-1200.
- KARUNA, K., A. N. A. KHN, and M. R. RAVIKUMAR. 2003. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *R. solanacearum*. International Bacterial Wilt Symposium. (On-line). <http://www.inra.fr/internet/deortements/PATHOV/2nd-IBWS/B3.html> diakses 9 Mei 2003.
- LANDA, B.B., H.A.E. DE WERD, B.B. MCSPADDEN GARDENER, and D.M. WELLER. 2002. Comparison of three methods for monitoring populations of different genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* in rhizosphere. Phytopathology. 92: 129-137.
- LINDOW, S.E. and T.V. SUSLOW. 2003. Temporal dynamics of the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* strain A506 in flowers in inoculated pear trees. Phyto-pathology. 93: 727-737.
- MULYA, K., SUPRIADI, E. M. ARDHI, SRI RAHAYU, dan N. KARYANI. 2000. Potensi bakteri antagonis dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri jahe. Jurnal Penelitian Tanaman Industri 6(2): 37-43.
- NASRUN, CHRISTANTI, T. ARWIYANTO, dan I. MARISKA. 2004. Seleksi antagonistic pseudomonas fluorescens terhadap *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam secara *in vitro*. Jurnal Stigma. 12 (2):224-227.
- NASRUN, CHRISTANTI, T. ARWIYANTO, dan I. MARISKA. 2005. Pengendalian penyakit layu bakteri nilam menggunakan pseudomonas fluorescens. Jurnal Penelitian Tanaman Industri 11 (1): 19-24.
- NASRUN, CHRISTANTI, T. ARWIYANTO, dan I. MARISKA. 2007. Karakteristik fisiologis *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 13(2): 43-48.
- PRESS, C. M., J. E. LOPER, and J.W. KLOEPER. 2001. Role of iron in rhizobacteria-mediated induced systemic resistance of cucumber. Phytopathology. 91 : 593-598.

- SASTROSUWIGNYO, S. 1988. Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman. Bagian Ilmu Penyakit Tanaman. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan . Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 153p.
- SUNAINA, V., V. KISHORE, and G.S. SHEKHAWAT. 2003. Biocontrol of bacterial wilt of potato of *Ralstonia solanacearum* and other bacteria. (on-line). http://www.inra.fr/internet/Departements/PATHOV/2_nd-IBWS/B5html diakses 9 Mei 2003.
- SUPRIADI, K. MULYA, and D. SITEPU. 2000. Strategy for controlling wilt disease of ginger caused by *Pseudomonas solanacearum*. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. 19 (3):106 -111.
- VIDHYASEKARAN, P. 2004. Encyclopedia of Plant Pathology. Food Products Press The Haworth Reference Imprints of The Haworth Press, Inc. New York-London. 245-250.
- WELLER, D.M. and R.J. COOK. 1983. Suppression of Take-all of Wheat by Seed treatments with Fluorescent pseudomonads. Phytopathology. 73: 463-469.
- WELLER, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26: 379-407.
- WILSON, M., H. L. CAMPBELL, J.I.P. JONES, and D.A CUPPELS. 2002. Biological control of bacterial speck of tomato under field condition at several locations in North America. Phytopathology. 92: 1284-1292.