



mengurangi jumlah puru *M. incognita* 33-39% pada tomat. Bakteri endofit yang diisolasi dari perakaran nilam dapat menekan populasi *P. brachyurus* 73,9% pada tanaman nilam di rumah kaca (HARNI *et al.*, 2007) dan filtratnya dapat membunuh *P. brachyurus* sebesar 91-100% *in vitro* (HARNI *et al.*, 2010).

Bakteri endofit sebagai biokontrol nematoda akan mempengaruhi penetrasi, reproduksi, dan populasi nematoda di dalam akar (SIKORA *et al.*, 2007). Pengaruh bakteri endofit terhadap penetrasi nematoda telah dilaporkan oleh SCHAFER, 2007, bakteri endofit *Rhizobium etli* G12 dan *Bacillus sphaericus* B43 dapat menekan penetrasi *M. incognita* 78 dan 60% pada tanaman tomat, karena bakteri tersebut dapat menginduksi ketahanan secara sistemik. Kedua bakteri tersebut juga dapat menekan reproduksi *M. incognita* dengan mengurangi jumlah telur/betina 36 dan 25% dibanding kontrol (SCHAFER, 2007). Selanjutnya HERGARTEN *et al.* (1997), melaporkan bahwa isolat *Bacillus sphaericus* B43 dan *Agrobacterium radiobacter* G12 juga dapat mengurangi larva 2 *Globodera pallida* yang memenetrasikan akar kentang 66% dibanding kontrol.

Penelitian bertujuan untuk menganalisis keefektifan beberapa isolat bakteri endofit terhadap perkembangan *P. brachyurus*, penetrasi, reproduksi, dan populasi serta pengaruhnya terhadap tanaman nilam.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium dan Rumah Kaca Kelompok Peneliti Hama dan Penyakit Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor dari bulan Maret sampai Agustus 2008.

Bakteri endofit yang digunakan adalah bakteri endofit terbaik hasil percobaan laboratorium dan rumah kaca yang diisolasi dari akar tanaman nilam di beberapa daerah di Jawa Barat. Bakteri-bakteri tersebut adalah *A. xylosoxidans* TT2, *A. faecalis* NJ16, *P. putida* EH11, *B. cereus* MSK, dan *B. subtilis* NJ57. Bakteri endofit diperbanyak pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) selama 48 jam pada suhu kamar kemudian disuspensikan dalam air steril. Untuk mendapatkan suspensi bakteri dengan kerapatan  $10^9$  cfu/ml, dilakukan pengukuran nilai absorban menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai absorban 1 mempunyai kerapatan sel bakteri sekitar  $10^9$  cfu/ml.

Bahan tanaman yang digunakan adalah setek tanaman nilam varietas Sidikalang. Setek pucuk satu ruas disemai dalam polibag yang berisi tanah dan pupuk kandang (2:1), kemudian disungkup dengan sungkup plastik. Setelah 2 minggu sungkup dibuka, tanaman belum boleh terkena cahaya matahari penuh intensitas yang dibutuhkan berkisar 40-50%. Untuk pemeliharaan dilakukan penyiraman setiap hari dan pemupukan dilakukan satu minggu se-

kali dengan pupuk daun. Setelah 4 minggu bibit sudah bisa digunakan untuk penelitian.

*P. brachyurus* diperbanyak pada media wortel steril. Wortel segar dibersihkan dengan natrium hipoklorit 5,25%, kemudian dicuci dengan air mengalir. Wortel dipotong-potong setebal 3 cm dan direndam dalam natrium hipoklorit 1,5% selama 15 menit, selanjutnya dibilas dengan akuades steril sebanyak 2 kali dengan cara direndam masing-masing selama 30 menit. Wortel yang telah steril ditempatkan pada botol kultur. *P. brachyurus* yang telah diisolasi, disterilisasi dengan larutan  $HgCl_2$  0,01% dan Streptomycin sulfat 0,1% kemudian dibilas dengan air steril. Selanjutnya dengan menggunakan pipet steril nematoda diinokulasikan pada potongan wortel, kemudian diinkubasi pada suhu 27°C selama 2 bulan. Biakan ini digunakan sebagai sumber inokulum.

### Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Penetrasi *P. brachyurus* pada Nilam

Akar bibit nilam varietas Sidikalang berumur 1 bulan direndam selama 1 jam dalam suspensi bakteri endofit dengan kosentrasi  $10^9$  cfu/ml ( $OD_{600}=1$ ), kemudian setek ditanam dalam pot yang berisi tanah pasir steril dengan perbandingan 2:1 (2 tanah : 1 pasir.). Satu minggu setelah tanam, tanaman diinokulasi dengan 100 ekor nematoda/pot. Enam hari setelah inokulasi, tanaman dibongkar, dicuci dengan air sampai bersih, dan akarnya diwarnai dengan larutan *acid fuchsin*, kemudian penetrasi nematoda diamati di bawah mikroskop.

### Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Reproduksi *P. brachyurus* pada Tanaman Nilam

Setek nilam varietas Sidikalang disemai pada polibag persemaian selama 4 minggu, kemudian dibongkar, dan akarnya direndam di dalam suspensi bakteri endofit selama 60 menit. Selanjutnya setek ditanam dalam pot yang berisi tanah steril (tanah : pasir = 2 : 1) sebanyak 2 kg/pot. Percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 7 ulangan/perlakuan dan perlakuan adalah isolat *A. xylosoxidans* TT2, *A. faecalis* NJ16, *P. putida* EH11, *B. cereus* MSK, *B. subtilis* NJ57 dan kontrol. Tanaman kontrol hanya direndam akarnya dalam air. Inokulasi nematoda dilakukan 2 minggu setelah perlakuan dan dilakukan dengan cara menuangkan 10 ml suspensi nematoda yang berisi 500 ekor *P. brachyurus* (larva dan dewasa) di sekeliling tanaman. Dua bulan setelah inokulasi, tanaman dibongkar, akar dicuci dan dikering-anginkan. Pengamatan dilakukan terhadap faktor reproduksi nematoda, pertumbuhan, kandungan Indol Acetic Acid (IAA) dan populasi bakteri di dalam akar. Faktor reproduksi

(pf/pi) adalah perbandingan antara populasi akhir dengan populasi awal nematoda. Sedang pengamatan pertumbuhan dilakukan terhadap berat basah, dan berat kering terna.

### Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Kandungan IAA pada Nilam

Pengukuran kandungan IAA, tanaman nilam diperlakukan dengan isolat bakteri endofit dengan cara menyiramkan 100 ml suspensi bakteri OD<sub>600</sub>=1 pada pot yang berisi tanaman nilam yang berumur 1 bulan. Satu minggu setelah perlakuan, tanaman nilam dibongkar dan kadar IAA yang ada di dalam akar tanaman dianalisis menggunakan metode HPLC. Analisis ini dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor.

### Reisolasi Bakteri Endofit pada Akar Nilam

Penghitungan populasi di dalam akar (reisolasi) dilakukan dengan cara yang sama dengan isolasi bakteri endofit, akar tanaman nilam dicuci bersih, ditimbang, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan menggunakan natrium hipoklorid (NaOCl) 5%. Selanjutnya akar tanaman digerus selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10<sup>3</sup>. Sebanyak 0,1 ml dari suspensi di plate ke dalam cawan petri yang telah berisi media TSA, diinkubasi selama 48 jam, kemudian koloni bakteri yang tumbuh dihitung.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

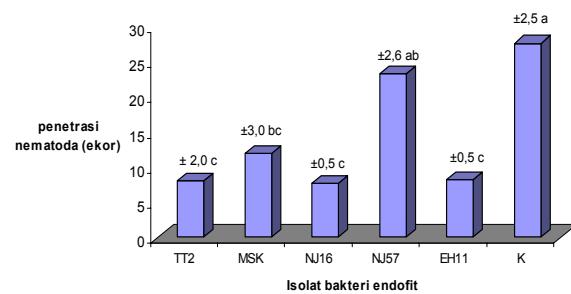
### Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Penetrasi, Reproduksi dan Populasi *P. brachyurus* pada Nilam

Hasil penelitian pengaruh bakteri endofit terhadap penetrasi nematoda menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat menekan penetrasi nematoda ke dalam akar kecuali *B. subtilis* NJ57 (Gambar 1). Penetrasi terendah pada *A. faecalis* NJ16 yaitu sebesar 7,67 ekor tidak berbeda nyata dengan *A. xylosoxidans* TT2 dan *P. putida* EH11 yaitu sebesar 8 dan 8,3 ekor. Proses berkurangnya penetrasi nematoda ke dalam akar karena bakteri endofit mengkolonisasi epidermis akar. Hal ini dibuktikan dengan pengamatan histologis menggunakan mikroskop fluorescens dan pewarnaan fluorescens DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole), bahwa bakteri yang digunakan dapat mengkolonisasi epidermis akar (HARNI, 2010). Proses koloniasi pada epidermis akar merupakan suatu keuntungan bagi tanaman nilam karena koloniasi pada epidermis merupakan proteksi awal bagi tanaman nilam terhadap infeksi *P. brachyurus* sehingga nematoda tidak dapat mempenetrasi

akar. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan HERGARTEN *et al.* (1997), bahwa isolat *Bacillus sphaericus* B43 dan *Agrobacterium radiobacter* G12 nyata mengurangi larva *G. pallida* yang mempenetrasi akar kentang sampai 66% dibanding kontrol. Selanjutnya PADGHAM dan SIKORA (2006) melaporkan bahwa bakteri endofit *Bacillus megaterium* dapat mengurangi penetrasi *M. graminicola* 55% ke dalam akar padi.

Pengaruh bakteri endofit terhadap reproduksi *P. brachyurus*, semua bakteri endofit yang diuji secara nyata dapat menekan reproduksi *P. brachyurus* dengan tingkat penekanan sebesar 54,8-70,6% dibandingkan kontrol (tanaman diinokulasi nematoda) (Tabel 1). Penekanan tertinggi pada perlakuan *A. xylosoxidans* TT2 tidak berbeda nyata dengan *A. faecalis* NJ16, *P. putida* EH11, *B. cereus* MSK, dan *B. subtilis* NJ57 dengan pf/pi (faktor reproduksi) 0,61-0,94 sedangkan pada kontrol pf/pi = 2,08. Hal ini berarti bahwa perlakuan bakteri endofit menyebabkan *P. brachyurus* tidak berkembang (karena pf/pi <1) tetapi pada perlakuan kontrol nematoda berkembang dengan baik (pf/pi > 1).

Hal ini terjadi karena bakteri endofit mempengaruhi proses fisiologis di dalam akar, seperti: mencegah proses makan nematoda, mencegah terbentuknya feeding site, menghambat perkembangan dan reproduksi nematoda. Tidak berkembangnya nematoda karena nutrisi yang dibutuhkan tidak cocok/tidak tersedia sehingga laju reproduksinya menjadi rendah dibanding dengan tanaman kontrol. Hal ini sama dengan yang dilaporkan GRUNDLER dan BOCKENHOFF (1997) bahwa pada tanaman kentang yang diinfeksi oleh *Heterodera schachtii* pada kondisi nutrisi rendah, setelah pembentukan sinsitium, betina muda akan mati karena pada sinsitium terjadi peningkatan asam amino bebas seperti lisin, metionin, penilalanin, dan triptopan yang menghambat perkembang-biakan nematoda.



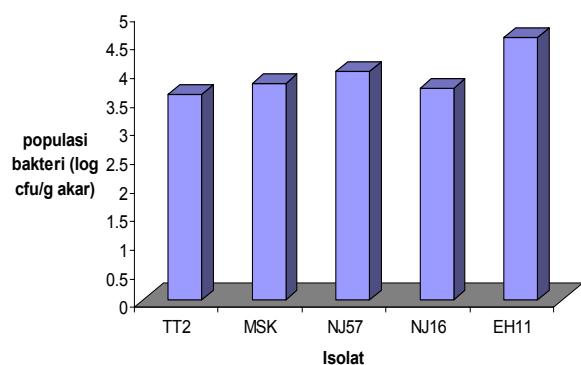
Gambar 1. Pengaruh bakteri endofit terhadap jumlah *Pratylenchus brachyurus* yang mempenetrasi akar nilam enam hari setelah perlakuan

Figure 1. Effect of endophytic bacteria on the penetration of *P. brachyurus* on patchouli roots at six days after treatment

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

Note: The penetration numbers followed by the same letters in the figure are not significantly different at 0.05 level DMRT





Gambar 2. Populasi bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus subtilis* (NJ57), *Alcaligenes faecalis* (NJ16), *Bacillus cereus* (MSK), dan *Pseudomonas putida* (EH11) pada akar tanaman nilam yang diinfeksi nematoda *Pratylenchus brachyurus* 8 msi di rumah kaca

Figure 2. The population of endophytic bacteria *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus subtilis* (NJ57), *Alcaligenes faecalis* (NJ16), *Bacillus cereus* (MSK), and *Pseudomonas putida* (EH11) on patchouli plant roots 8 weeks after inoculation in greenhouse

## KESIMPULAN

Kefektifan bakteri endofit *A. xylosoxidans* TT2, *A. faecalis* NJ16, *B. subtilis* NJ57, *B. cereus* MSK, dan *P. putida* EH11 dapat menekan penetrasi dan populasi *P. brachyurus* ke dalam akar sebesar 54,8-70,6% dengan nilai pf/pi 0,61-0,94 dan meningkatkan pertumbuhan tanaman nilam sebesar 37,86-84,71% di rumah kaca.

## DAFTAR PUSTAKA

- BACON, C.W and S.S. HINTON. 2007. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. In: Gnanamanickam SS. Gnanamanickam (ed.). Plant-Associated Bacteria. Springer, Berlin. pp. 155-194.
- GRUNDLER, F.M.W. and A. BOCKENHOFF. 1997. Physiology of nematode feeding and feeding sites. In Cellular and Molecular Aspects of Plant Nematode Interaction. Fenoll C, Grundler, F.M.W., Ohl, S.A. eds. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. pp.107-119.
- HALLMANN, J., A. QUADT-HALLMANN, W.F. MAHAFFEE, and JW. KLOEPFER 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology. 43: 895-914.
- HALLMANN, J., A. QUADT-HALLMANN, W.G. MILLER, R.A., SIKORA, and S.E. LINDOW. 2001. Endophytic coloni-  
zation of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. Phytopathology. 91:415-422.
- HALLMANN, J. and G. BERG 2006. Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. In: Schulz B, Boyle C & Sieber T. (Eds). Soil biology Microbial root endophytes, Berlin, Heidelberg, Germany, Springer-Verlag. 9:15-31.
- HARNI, R., A. MUNIF, SUPRAMANA, dan I. MUSTIKA. 2007. Pemanfaatan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. Jurnal Hayati. 14 (1): 7-12
- HARNI, R., SUPRAMANA, M.S. SINAGA, GIYANTO, dan SUPRIADI. 2010. Pengaruh filtrat bakteri endofit terhadap mortalitas, penetasan telur dan populasi *Pratylenchus brachyurus* pada nilam. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 16(1): 43-47.
- HARNI, R. 2010. Bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. Disertasi Program Doktor IPB. Bogor.118p.
- HERGARTEN, S.H., K. HASKI, M.M.K REIZ, dan R.A. SIKORA 1997. Induced systemic resistance by rhizobacteria toward the cyst nematode *Globodera pallida* on potato. Jurnal of Plant Disease and Protec. 105:348-358
- MEKETE, T., J. HALLMANN, K. SEBASTIAN, and R.A. SIKORA 2009. Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. Nematology. 11(1):117-127.
- MUNIF, A. 2001. Studies on the importance of endophytic bacteria for the biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. Inaugural-Dissertation. Institut fur Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universitat Bonn. 120p.
- PADGHAM, J. and R.A. SIKORA. 2006. The potential for *Meloidogyne graminicola* biological control in rice under oxic and anoxic soil environments. IOBC Bulletin. 29: 111-116.
- RACKE, J. and R.A. SIKORA. 1992. Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*. Soil Biology and Biochemistry. 24:521-526.
- SIKORA, R.A., K. SCHAFER, and A.A. DABABAT. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. Australasian Plant Pathology. 36:124-134
- SCHAFER, K. 2007. Dissecting rhizobacteria-induced systemic resistance in tomato against *Meloidogyne incognita*: the first step using molecular tools. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universitat Bonn, Germany.