

Potensi Bakteri Endofit Pengendali Nematoda Peluka Akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada Nilam

Potential of Endophytic Bacterial to Control Lesion Nematode (Pratylenchus brachyurus) on Patchouli

RITA HARNI¹*, ABDUL MUNIF², SUPRAMANA², IKA MUSTIKA¹

¹Research Institute of Medicinal and Aromatic Crop, Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111, Indonesia

²Department of Plant Protection, Bogor Agricultural University, Darmaga Campus, Bogor 16680, Indonesia

Received May 2, 2006/Accepted March 12, 2007

Root lesion nematode (*Pratylenchus brachyurus*) is one of the most important pathogens of patchouli that caused significant losses. Studies on the potential of endophytic bacterial to control *P. brachyurus* on patchouli had been conducted. To evaluate the effectiveness of endophytic bacterial against to *P. brachyurus* on patchouli, nine isolates of bacteria (NJ2, NJ25, NJ41, NJ46, NJ57, NA22, ERB21, ES32, and E26) were applied by deeping root seedling into bacterial suspension. A study of the physiological characteristics of nine isolates was conducted by using specific medium. The results showed that endophytic bacterial was significantly reduced the population of *P. brachyurus* and all isolates bacterial promoted growth of patchouli (shoot weight, root weight, and root length). Four isolates, i.e. *Bacillus* NJ46, *Bacillus* Na22, *Bacillus* NJ2, and *Bacillus* NJ57 were among the potential control agents that reduced nematode populations as much as 68.1-73.9%. Almost all of the isolated bacteria from patchouli roots were able to solubilizing phosphate, while some of them had the ability to produce chitinase, cellulase, protease, HCN, and fluorescency.

Key words: endophytic bacterial, *Pratylenchus brachyurus*, *Pogostemon cablin*, patchouli, nematode, biological control

PENDAHULUAN

Nilam (*Pogostemon cablin* Bent.) merupakan salah satu komoditas penghasil minyak atsiri dengan nilai ekonomi tinggi baik sebagai penghasil devisa negara maupun sebagai sumber pendapatan petani. Sebagai komoditas ekspor, minyak nilam memberikan sumbangan terbesar terhadap perolehan devisa dari komoditas atsiri. Pada tahun 2003, Indonesia mengekspor sekitar 3190 ton minyak nilam dengan nilai sekitar 23.14 juta US\$ (BPS 2003).

Masalah utama yang dihadapi petani nilam adalah menurunnya produksi setelah 3-4 kali panen, sehingga petani memindahkan lokasi tanam ke tempat lain. Menurunnya produksi nilam antara lain disebabkan oleh adanya serangan nematoda parasit tanaman yang dikenal dengan penyakit daun merah atau kuning.

Hasil penelitian di beberapa daerah sentra pertanaman nilam ditemukan beberapa jenis nematoda di antaranya, *P. brachyurus*, *Rotylenchulus*, *Meloidogyne incognita*, *M. hapla*, *Radopholus similis*, *Scutellonema*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, dan *Xiphinema* (Djiwanti & Momota 1991). Di antara jenis nematoda tersebut *P. brachyurus* sangat luas penyebarannya dan berperan dalam menimbulkan penyakit pada tanaman nilam (Harni & Mustika 2000).

Pratylenchus brachyurus merupakan nematoda endoparasit yang tersebar luas di daerah pertanaman nilam di

Indonesia. Serangan nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat, warna daun merah atau kekuning-kuningan dan menyebabkan luka nekrosis pada akar rambut dan kadang-kadang akar membusuk (Mustika *et al.* 1995; Harni & Mustika 2000). Selain menghambat pertumbuhan tanaman, infeksi *P. brachyurus* juga mampu menurunkan kandungan klorofil dan kadar minyak, baik pada kultivar rentan maupun agak tahan (Sriwati 1999). Kerusakan akibat serangan nematoda tersebut pada tanaman nilam dapat menurunkan hasil sampai 85% (Mustika *et al.* 1995).

Beberapa teknik pengendalian nematoda telah dilakukan seperti penggunaan nematisida, bahan organik, kultur teknis, dan kultivar yang resisten, tetapi belum memberikan hasil yang memuaskan. Penggunaan nematisida untuk mengendalikan nematoda pada tanaman nilam, dapat meningkatkan produktivitas tanaman hingga 25% (Mustika *et al.* 1995). Meskipun demikian, penggunaan nematisida dapat memberikan dampak negatif terhadap mutu minyak nilam, kualitas lingkungan, keseimbangan ekosistem, dan kesehatan manusia.

Pengendalian biologi menggunakan bakteri endofit merupakan salah satu alternatif pengendalian nematoda parasit tanaman. Keunggulan bakteri endofit sebagai agens pengendali hayati yaitu mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan, dan mengendalikan penyakit tumbuhan (Kloepper *et al.* 1992), serta dapat menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann 2001).

*Corresponding author. Phone: +62-251-321879,
Fax: +62-251-327010, E-mail: balitro@telkom.net

Pemanfaatan bakteri endofit untuk pengendalian penyakit tanaman oleh nematoda, belum banyak dilakukan tetapi memberikan harapan yang menggembirakan. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan bakteri endofit yang diisolasi dari mentimun dan kapas seperti *Aerococcus viridans*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Pseudomonas chlororaphis*, *P. vasicularis*, *Serratia marcescens*, dan *Spingomonas pancimobilis* dapat mengurangi populasi *M. incognita* pada mentimun sampai 50% (Hallmann *et al.* 1997). Aplikasi bakteri endofit melalui perlakuan benih dapat mengurangi 30-50% jumlah puru (*gall*) *M. incognita* pada tanaman kapas (Hallmann *et al.* 1997) dan *P. chlororaphis* galur Sm3 pada stroberi dapat mengurangi populasi nematoda peluka akar *Pratylenchus penetrans* sebesar 41-61% serta mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman (Hackenberg *et al.* 2000). Untuk itu, penelitian ini dilakukan guna mengetahui efektivitas beberapa isolat bakteri endofit terhadap nematoda peluka akar (*P. brachyurus*) pada tanaman nilam.

BAHAN DAN METODE

Koleksi dan Perbanyakan Isolat Bakteri Endofit. Isolat bakteri endofit yang digunakan (NJ2, NJ25, NJ41, NJ46, NJ57, dan NA22) diisolasi dari akar tanaman nilam dengan metode sterilisasi permukaan (Hallmann *et al.* 1997). Selain itu, dua isolat berasal dari koleksi Laboratorium Mikologi, Departemen Proteksi Tanaman, IPB (ERB21, ES32) yang diisolasi dari akar Gramineae dan satu isolat koleksi Laboratorium Bakteriologi Balitbiogen (E26) diisolasi dari akar Gramineae. Isolat bakteri endofit tersebut terdiri atas kelompok *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp.

Bakteri endofit yang digunakan diperbanyak pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) selama 48 jam pada suhu kamar. Koloni bakteri yang terbentuk disuspensikan dalam air steril untuk mendapatkan suspensi bakteri dengan kerapatan 10^9 cfu/ml. Pengukuran nilai absorban menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai absorban 0.164 mempunyai kerapatan sel bakteri sekitar 10^9 cfu/ml.

Perbanyakan Nematoda dan Bahan Tanaman. *Pratylenchus brachyurus* diisolasi dari akar nilam, kemudian diperbanyak pada media wortel steril. Teknik perbanyakan menggunakan metode Huettel (1985). Wortel segar dibersihkan dengan natrium hipoklorit 5.25%, kemudian dicuci dengan air mengalir. Wortel dipotong setebal 3 cm dan direndam dalam natrium hipoklorit (NaOCl) 1.5% selama 15 menit. Selanjutnya potongan wortel direndam dan dibilas dengan akuades steril sebanyak dua kali masing-masing selama 30 menit. Wortel yang telah steril ditempatkan pada botol kultur atau cawan petri. Nematoda *P. brachyurus* yang telah diisolasi, disterilisasi dengan larutan HgCl₂ 0.01% dan streptomisin sulfat 0.1% selama 30 detik kemudian dibilas dengan air steril dan diinokulasikan menggunakan pipet steril pada potongan wortel. Biakan diinkubasi pada suhu 27 °C selama dua bulan. Biakan ini digunakan sebagai sumber inokulum.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilam Aceh Tapaktuan yang rentan terhadap *P. brachyurus* (Mustika & Rostiana 1992). Bahan tanaman yang seragam

diperoleh dengan cara tanaman nilam dikultur secara *in vitro* melalui perbanyakan pada media *Murashige dan Skoog* (MS) + vitamin + sukrosa (Mariska & Husni 1994). Untuk mendapatkan biakan dalam jumlah yang banyak dilakukan subkultur yang berulang pada media yang sama.

Efektivitas Bakteri Endofit. *Plantlet* nilam berumur dua bulan diaklimatisasi sebagai berikut: tanaman dikeluarkan dari botol kultur, lalu akar dicuci dengan air untuk dibersihkan dari media tumbuh yang masih melekat. Selanjutnya, akar diperlakukan dengan bakteri endofit dengan cara merendamnya di dalam suspensi bakteri selama 60 menit, kemudian ditanam dalam pot yang berisi tanah steril (tanah:pasir; v/v = 2:1) sebanyak 2 kg/pot. Sebagai kontrol, tanaman direndam dengan air. *Plantlet* yang sudah ditanam, ditutup dengan gelas plastik dan disiram setiap hari. Tutup dibuka dua minggu setelah tanam.

Inokulasi nematoda dilakukan dua minggu setelah perlakuan bakteri. Inokulasi dilakukan dengan cara menuangkan suspensi nematoda di sekeliling tanaman pada kedalaman 1 cm. Populasi nematoda yang diinokulasikan adalah 500 ekor/tanaman yang terdiri atas nematoda betina dan juvenil.

Pemeliharaan tanaman dilakukan sesuai dengan petunjuk pemeliharaan tanaman nilam di rumah kaca. Dua bulan setelah inokulasi, tanaman dibongkar, akar dicuci, dan dikering anginkan. Pengamatan dilakukan terhadap daya antagonis bakteri terhadap nematoda dan pertumbuhan tanaman. Daya antagonis diamati dengan menghitung faktor reproduksi (pf/pi) nematoda. Faktor reproduksi adalah perbandingan antara populasi akhir dengan populasi awal nematoda. Ekstraksi nematoda dilakukan dengan metode *Funnel spray method* untuk akar dan metode corong Baerman untuk nematoda dari tanah. Data pertumbuhan tanaman yang diamati adalah berat basah tajuk tanaman, berat akar, dan panjang akar.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan sembilan perlakuan dengan enam ulangan. Perlakuannya adalah isolat bakteri [NJ2, NJ25, NJ41, NJ46, NJ57, NA22, ERB21, ES32, E26, kontrol dengan nematoda (K+), dan kontrol tanpa nematoda (K-)]. Untuk menguji pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati, dilakukan analisis ragam dan bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5%.

Kerapatan Populasi Bakteri Endofit. Uji ini dilakukan untuk memastikan apakah bakteri yang diuji telah masuk ke dalam jaringan tanaman. Isolasi kembali ini dilakukan sebelum inokulasi nematoda (dua minggu setelah perlakuan bakteri) dan minggu ke-6 setelah inokulasi. Akar tanaman nilam dicuci bersih, ditimbang, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan menggunakan NaOCl. Akar tanaman digerus, selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^3 . Sebanyak 0.1 ml suspensi digores ke dalam cawan petri yang telah berisi media TSA, diinkubasi selama 48 jam, kemudian koloni bakteri yang tumbuh dihitung.

Karakter Fisiologis Bakteri Endofit. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui mekanisme kerja bakteri dalam menekan populasi nematoda. Karakter fisiologis yang diuji

adalah ekspresi enzim ekstraselular dengan menggunakan media spesifik, yaitu enzim kitinase dengan metode Lingappa dan Lockwood (1962), selulase metode Andro (1984), dan protease metode Hankin dan Anagnostakis (1975), produksi sianida menggunakan metode Wei *et al.* (1991), pelarut fosfat metode Thakuria *et al.* (2004) dan aktivitas fluoresensi.

HASIL

Efektivitas Bakteri Endofit terhadap Populasi *P. brachyurus*. Gejala serangan *P. brachyurus* pada tanaman nilam nyata terlihat pada perlakuan K+ (tanaman hanya dinokulasi dengan nematoda). Gejala awal pertumbuhan tanaman terhambat atau kerdil, terjadi klorosis pada pinggir daun, kemudian daun berubah warna menjadi kekuning-kuningan, gejala lanjut tanaman mati. Apabila akar dibongkar, terlihat luka-luka nekrotik yang berwarna coklat kehitam-hitaman, pada serangan berat, seluruh permukaan akar luka dan berwarna kehitam-hitaman. Bila akar dilakukan pewarnaan dengan *acid fuchsin* ditemukan nematoda di dalamnya.

Hasil penelitian efektivitas bakteri endofit terhadap *P. brachyurus* pada tanaman nilam menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji dapat menekan secara nyata populasi *P. brachyurus* dibandingkan K+ (tanaman diinokulasi nematoda) (Tabel 1). Pengaruh tertinggi pada *Bacillus* NJ46, *Bacillus* NA22, *Bacillus* NJ2, dan *Bacillus* NJ57 nyata ($P = 0.05$) lebih baik dibandingkan dengan isolat-isolat lain. Populasi tertinggi terdapat pada perlakuan K+ dengan $pf/pi = 7.46$ dan terendah pada perlakuan *Bacillus* NJ46 dengan $pf/pi = 2$. Perlakuan bakteri endofit terbukti dapat mengurangi populasi nematoda di akar dibandingkan dengan kontrol.

Nilai faktor reproduksi nematoda (pf/pi) pada tanaman nilam yang diinokulasi nematoda setelah diberi perlakuan bakteri endofit terutama dengan isolat *Bacillus* NJ25, *B. subtilis* ERB21, *Pseudomonas* E26, *Bacillus* NJ41, dan *P. fluorescens* ES32 masih tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa populasi nematoda di dalam jaringan akar masih tinggi. Walaupun demikian respons pertumbuhan seperti berat tajuk tanaman, berat akar, dan panjang akar jauh lebih baik dibandingkan dengan tanaman nilam yang tidak diperlakukan

dengan bakteri endofit. Hal tersebut membuktikan bahwa tanaman yang telah diberi perlakuan bakteri endofit mampu meningkatkan ketahanan tanaman nilam sehingga pertumbuhan tidak terlalu terganggu.

Penurunan persentase populasi nematoda oleh bakteri endofit sangat nyata pada tanaman nilam dibandingkan dengan kontrol. Penurunan persentase populasi tertinggi pada penggunaan isolat *Bacillus* NJ46, *Bacillus* NA22, *Bacillus* NJ2, dan *Bacillus* NJ57 yaitu sebesar 73.9, 72.1, 71.4, dan 68.1% (Tabel 1). Tingginya penurunan populasi kadang-kadang tidak selalu sejalan dengan peningkatan pertumbuhan tanaman (berat tajuk tanaman, berat akar, dan panjang akar). Isolat *Bacillus* NA22 dapat menekan populasi *P. brachyurus* cukup tinggi (Tabel 1) tetapi tidak diikuti dengan tingginya berat tajuk tanaman dan panjang akar jika dibandingkan dengan K- (kontrol tanpa nematoda) (Tabel 2).

Pengaruh Bakteri Endofit terhadap Pertumbuhan Tanaman. Perlakuan bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman nilam sangat nyata ($P = 0.05$) pengaruhnya, baik terhadap berat tajuk, berat akar, dan panjang akar. Infeksi *P. brachyurus* pada tanaman nilam menyebabkan penghambatan terhadap pertambahan berat tajuk tanaman (K+) dibandingkan dengan perlakuan menggunakan bakteri endofit. Perlakuan bakteri endofit terbukti dapat mengurangi pengaruh infeksi nematoda sehingga berat tajuk tanaman tidak berbeda nyata dengan berat tajuk tanaman yang tidak diinokulasi dengan nematoda (K-) atau tanaman sehat.

Perlakuan isolat bakteri endofit memberikan pengaruh yang beragam pada tanaman nilam yang terinfeksi *P. brachyurus*. Hasil analisis menggunakan DNMRT ($P \leq 0.05$) menunjukkan berat tajuk isolat *Bacillus* NJ57 tidak berbeda nyata dengan isolat-isolat lain hanya berbeda dengan *P. fluorescens* ES32, *Bacillus* NJ41, *B. subtilis* ERB21, *Bacillus* NA22, dan K+ (Tabel 2). Hal ini disebabkan oleh kemampuan yang berbeda dari isolat-isolat tersebut dalam menekan infeksi *P. brachyurus*. Perlakuan bakteri endofit *Bacillus* NJ57, *Bacillus* NJ46, *Bacillus* NJ25, *Bacillus* NJ2, dan *Pseudomonas* E26 sangat kuat pengaruhnya sehingga dapat menghalangi infeksi *P. brachyurus* ke dalam akar. Hal itu mengakibatkan berat basah tajuk, berat akar, dan panjang akar setara dengan berat dan panjang akar tanaman sehat (tidak diperlakukan).

Tabel 1. Pengaruh bakteri endofit terhadap populasi nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam delapan minggu setelah inokulasi.

| Perlakuan | Populasi nematoda | Pf/pi | Pengurangan populasi nematoda (%) |
|----------------------------|-------------------|-------|-----------------------------------|
| Kontrol (K+) | 3732.5a* | 7.46 | |
| <i>Bacillus</i> NA22 | 1039.1cd | 2.10 | 72.1 |
| <i>Bacillus</i> NJ2 | 1065.0cd | 2.10 | 71.4 |
| <i>Bacillus</i> NJ25 | 2205.0b | 4.41 | 40.9 |
| <i>Bacillus</i> NJ41 | 1390.8b | 2.78 | 62.7 |
| <i>Bacillus</i> NJ46 | 973.3d | 2.00 | 73.9 |
| <i>Bacillus</i> NJ57 | 1150.0cd | 2.30 | 68.1 |
| <i>B. subtilis</i> ERB21 | 1701.6b | 3.40 | 54.4 |
| <i>Pseudomonas</i> E26 | 1492.5b | 2.98 | 60.0 |
| <i>P. fluorescens</i> ES32 | 1293.3b | 2.58 | 65.3 |

*Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan, $\alpha = 0.05$. pf/pi : faktor reproduksi

Tabel 2. Pengaruh bakteri endofit terhadap berat tajuk, berat akar, dan panjang akar tanaman nilam yang diinokulasi nematoda *P. brachyurus* delapan minggu setelah inokulasi

| Perlakuan | Berat tajuk (g) | Berat akar (g) | Panjang akar (cm) |
|----------------------------|-----------------|----------------|-------------------|
| Kontrol + | 5.03d* | 0.53b | 14.22e |
| Kontrol - | 9.81ab | 1.05a | 23.53bc |
| <i>Bacillus</i> NA22 | 8.20c | 0.96a | 18.38d |
| <i>Bacillus</i> NJ2 | 10.32ab | 1.15a | 24.10ab |
| <i>Bacillus</i> NJ25 | 12.15ab | 1.35a | 26.35ab |
| <i>Bacillus</i> NJ41 | 9.65bc | 1.02a | 20.35cd |
| <i>Bacillus</i> NJ46 | 12.15ab | 1.40a | 27.10ab |
| <i>Bacillus</i> NJ57 | 13.18a | 1.72a | 27.98a |
| <i>B. subtilis</i> ERB21 | 9.13bc | 1.00a | 18.67d |
| <i>Pseudomonas</i> E26 | 11.22ab | 1.15a | 24.61ab |
| <i>P. fluorescens</i> ES32 | 9.68bc | 1.05a | 20.87cd |

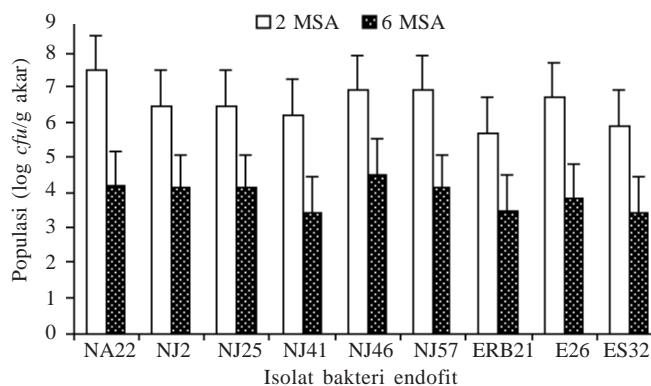
*Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan, $\alpha = 0.05$

Kerapatan Populasi Bakteri Endofit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan dapat mengkolonisasi jaringan internal akar nilam (Gambar 1). Kerapatan populasi pada minggu ke-2 setelah aplikasi lebih tinggi kemudian menurun pada minggu ke-6. Kerapatan populasi bakteri di dalam jaringan akar sangat bervariasi bergantung pada isolat yang digunakan. Kerapatan populasi tertinggi pada isolat *Bacillus* NA22 sebesar $\log 7.5-4.2$ cfu/g akar dan terendah pada *Bacillus subtilis* ERB21 yaitu $\log 5.7-3.4$ cfu/g akar.

Karakter Fisiologis Bakteri Endofit. Pengujian karakter fisiologis ini dapat dihubungkan dengan mekanisme bakteri dalam menekan populasi nematoda. Berdasarkan hasil uji karakter fisiologis bakteri, *P. fluorescent* ES32 mampu memproduksi (protease, HCN, pelarut posfat, dan fluoresensi), *Pseudomonas* E26 (protease, selulase, pelarut posfat, dan kitinase), *B. subtilis* ERB21 (protease, selulase, dan pelarut posfat), *Bacillus* NA22 (protease, pelarut posfat), *Bacillus* NJ41 (selulase, pelarut posfat), *Bacillus* NJ46 (pelarut posfat, kitinase), *Bacillus* NJ57 (pelarut posfat, kitinase) *Bacillus* NJ2 (pelarut posfat) (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Perendaman akar tanaman nilam dengan bakteri endofit sebelum ditanam nyata menekan populasi *P. brachyurus* di akar. Pengamatan visual menunjukkan bahwa tanaman yang diberi perlakuan bakteri endofit tidak memperlihatkan gejala terserang nematoda, seperti pertumbuhan terhambat, pinggir daun klorosis, dan daun berwarna kuning. Tanaman tanpa



Gambar 1. Kerapatan populasi bakteri endofit pada akar nilam dua minggu dan enam minggu setelah aplikasi.

Tabel 3. Karakter fisiologis bakteri endofit dari tanaman nilam

| Bakteri | Aktivitas proteolitik | Aktivitas selulolitik | HCN | Pelarutan posfat | Aktivitas floresensi | Aktivitas kitinolitik |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----|------------------|----------------------|-----------------------|
| <i>Bacillus</i> NA22 | + | - | - | + | - | - |
| <i>Bacillus</i> NJ2 | - | - | - | + | - | - |
| <i>Bacillus</i> NJ25 | - | - | - | + | - | - |
| <i>Bacillus</i> NJ41 | - | - | - | + | - | - |
| <i>Bacillus</i> NJ46 | - | - | - | + | - | + |
| <i>Bacillus</i> NJ57 | - | - | - | + | - | + |
| <i>B. subtilis</i> ERB21 | + | + | - | + | - | - |
| <i>Pseudomonas</i> E26 | + | + | - | + | - | + |
| <i>P. fluorescens</i> ES32 | + | - | + | + | + | - |

+: reaksi positif, -: reaksi negatif, HCN: asam sianida

diperlakukan bakteri endofit memperlihatkan semua gejala tersebut.

Terjadinya penurunan populasi nematoda disebabkan bakteri endofit memiliki kemampuan sebagai agens antagonis dalam menekan perkembangan *P. brachyurus*. Mekanisme penekanan di antaranya mengkolonisasi jaringan internal inang dan menempati relung ekologi yang dibutuhkan oleh patogen, mengkolonisasi jaringan korteks dan menghasilkan metabolit yang dapat menekan perkembangan patogen serta menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann 2001).

Pada percobaan ini semua bakteri endofit yang digunakan baik yang berasal dari perakaran nilam, maupun perakaran Gramineae dapat mengkolonisasi jaringan akar (Gambar 1). Kemampuan bakteri mengkolonisasi jaringan merupakan faktor penting dalam menekan perkembangan patogen. Proses kolonisasi akar oleh bakteri endofit sama dengan proses patogenesis bakteri patogen mengkolonisasi inang, yaitu kontak dengan permukaan akar, pengenalan, penetrasi, multiplikasi, dan kolonisasi (Hallmann 2001).

Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa bakteri endofit dan rizosfer seperti *Pseudomonas*, *Brevundimons*, *Serratia*, *Bacillus*, dan *Agrobacterium* dapat menekan jumlah puru (*gall*) *Meloidogyne* pada tanaman kapas dan mentimun (Becker *et al.* 1988; Hallmann *et al.* 1998), *H. glycines* pada kedelai (Kloepper *et al.* 1992), dan *G. pallida* pada kentang (Hasky-Gunther *et al.* 1998). *Pseudomonas chlororaphis* galur Sm3 pada stroberi dapat mengurangi populasi nematoda peluka akar *Pratylenchus penetrans* sebesar 41-61% serta mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman (Hackenberg *et al.* 2000).

Kemampuan *Bacillus* NJ46, *Bacillus* NA22, dan *Bacillus* NJ2 dalam menekan populasi *P. brachyurus* cukup tinggi. Terjadinya penekanan populasi nematoda yang tinggi oleh isolat-isolat tersebut, diduga disebabkan oleh metabolit sekunder, enzim kitinase, dan protease yang dihasilkannya (Tabel 3). Enzim ini dapat digunakan langsung oleh bakteri untuk mendegradasi dinding sel patogen. Enzim kitinase merupakan enzim penting yang dihasilkan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda karena enzim ini dapat mendegradasi lapisan tengah telur nematoda seperti *M. javanica*, *R. reniformis*, *Tylenchulus semipenetrans*, dan *Pratylenchus minyus* (Tian *et al.* 2000) dan lapisan luar telur *Heterodera schachtii* dan *H. glycines* (Perry & Trett 1986). Cronin *et al.* (1997) menambahkan bahwa kitinase dapat menghambat penetasan telur *Globodera rostochiensis* sampai 70%, sedangkan *Pseudomonas chitinolytica*, dengan aktivitas

kitinolitik yang tinggi dapat mengurangi infeksi *M. javanica* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat.

Tingginya penurunan populasi tidak selalu sejalan dengan peningkatan pertumbuhan tanaman (berat tajuk tanaman, berat akar, dan panjang akar). Isolat *Bacillus* NA22 dapat menekan populasi *P. brachyurus* cukup tinggi tetapi tidak diikuti dengan tingginya berat tajuk tanaman dan panjang akar. Hal ini mungkin disebabkan oleh metabolit yang dihasilkan *Bacillus* NA22 bersifat toksik terhadap akar, sehingga menghambat pertumbuhannya. Schippers *et al.* (1987) melaporkan bahwa beberapa metabolit yang dihasilkan mikroorganisme rizosfer di antaranya antibiotik dapat bersifat toksik terhadap akar, sehingga menghambat pertumbuhan akar dan berat tajuk tanaman.

Secara umum dapat dilaporkan bahwa perlakuan bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman nilam (berat tajuk tanaman, berat akar, dan panjang akar). Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Kloepper *et al.* (1991), bahwa bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, bakteri ini dapat menyediakan nutrisi bagi tanaman, seperti nitrogen, fosfat, dan mineral lainnya serta menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auksin, dan sitokinin. Mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri endofit dapat terjadi dengan beberapa proses di antaranya melarutkan senyawa fosfat, fiksasi nitrogen (Thakuria *et al.* 2004), merangsang pertumbuhan akar lateral, dan menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auksin, dan sitokinin (Salamone *et al.* 2001). Secara tidak langsung, bakteri terlebih dahulu menekan pertumbuhan mikroorganisme pengganggu, yaitu *deleterious microorganisms* (DMO) melalui mekanisme kompetisi, predasi, dan antibiotik yang dihasilkannya (Kloepper *et al.* 1991). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Hackenberg *et al.* (2000) bahwa perlakuan bakteri endofit *P. chlororaphis* galur Sm3 pada stroberi dapat mengurangi populasi nematoda peluka akar *P. penetrans* sebesar 41-61% serta mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hampir seluruh isolat bakteri endofit dapat meningkatkan berat tajuk tanaman walaupun terinfeksi *P. brachyurus* setara dengan tanaman sehat.

Hasil pengujian karakter fisiologis menunjukkan bahwa hampir semua isolat yang digunakan dapat melarutkan fosfat (Tabel 3). Fosfat merupakan unsur makro penting yang dibutuhkan tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Beberapa bakteri endofit diketahui dapat melarutkan fosfat, sehingga fosfat menjadi tersedia dan mudah diserap oleh tanaman. Thakuria *et al.* (2004) melaporkan bahwa bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari rizosfer padi dapat meningkatkan produksi padi 5.4-21.6%. Disamping dapat meningkatkan ketersediaan beberapa nutrisi, bakteri endofit dapat meningkatkan hormon pertumbuhan seperti auksin (*indol acetic acid*/IAA) (Thakuria *et al.* 2004) dan sitokinin (Salamone *et al.* 2001). Pengaruh IAA yang dihasilkan bakteri telah dilaporkan oleh Asghar *et al.* (2002), IAA yang dihasilkan bakteri yang diisolasi dari rizosfer *Brassica* dapat meningkatkan tinggi tanaman 56.5%, diameter batang 11%, dan jumlah cabang 35.7% dibandingkan dengan kontrol.

Bakteri endofit yang diisolasi dari perakaran Gramineae dapat menghasilkan hormon pertumbuhan IAA yang dapat meningkatkan berat basah tajuk dan akar sebesar 48.7 dan 94.8% pada tanaman pisang (Eliza 2004).

Akar yang diberi perlakuan dengan bakteri endofit, nyata ($P = 0.05$) lebih berat dibandingkan dengan akar yang diinokulasi dengan nematoda (Tabel 2). Rendahnya berat akar yang diinokulasi nematoda, disebabkan oleh kerusakan akibat penusukan stilet dan sekresi enzim yang dikeluarkan nematoda sewaktu nematoda makan. Agrios (1997) melaporkan bahwa nematoda yang mengkonsumsi sel akar mampu menurunkan kemampuan tumbuhan menyerap air dan hara dari tanah sehingga menyebabkan gejala seperti kekurangan air dan hara. Disamping itu, nematoda juga menyebabkan berkurangnya konsentrasi zat pengatur tumbuh tanaman seperti auksin, sitokinin, dan giberelin yang banyak terdapat di ujung akar. Berkurangnya zat pengatur tumbuh dapat terjadi karena nematoda mengeluarkan enzim selulase dan pektinase yang mampu mendegradasi sel sehingga ujung akar luka dan pecah, hal ini menyebabkan auksin tidak aktif. Tidak aktifnya auksin menyebabkan pertumbuhan akar terhambat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Widodo dan Karden Mulya yang telah memberikan isolat bakteri endofit untuk digunakan dalam penelitian ini dan kepada Proyek Pengendalian Hama Terpadu Perkebunan Rakyat (PHTPR) sebagai penyandang dana.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 1997. *Plant Pathology*. Ed ke-4. San Diego: Academic Pr.
- Andro. 1984. Mutants of *Erwinia chrysanthemi* defective in secretion of pectinase and cellulase. *J Bacteriol* 160:1119-1203.
- Asghar H, Zahir Z, Arshad M, Khaliq A. 2002. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. *Biol Fertil Soils* 35:231-237.
- Becker JO *et al.* 1988. Effect of rhizobacteria on root knot nematodes and gall formation. *Phytopathology* 78:1488-1469.
- [BPS] Biro Pusat Statistik. 2003. *Ekspor*. Vol I. Biro Pusat Statistik Jakarta.
- Cronin D, Moenne-Loccoz Y, Dunne C, O'gara F. 1997. Inhibition of egg hatch of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* by chitinase producing bacteria. *European J Plant Pathol* 103:433-440.
- Djiwanti SR, Momota Y. 1991. Parasitic nematodes associated with patchouli disease in West Java. *Indust Crops Res J* 3:31-34.
- Eliza. 2004. Pengendalian layu *Fusarium* pada pisang dengan bakteri endofit perakaran Gramineae [Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hackenberg G, Muehlchen A, Forge T, Vrain T. 2000. *Pseudomonas chlororaphis* strain Sm3, bacterial antagonist of *Pratylenchus penetrans*. *J Nematol* 32:183-189.
- Hallmann J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. In: Jeger MJ, Spence NJ (ed). *Biotic Interaction in Plant-Pathogen Associations*. CAB International. p 87-119.
- Hallmann J, Hallmann AQ, Mahaffee WF, Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol* 43:895-914.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann, Rodriguez-Kabana R, Kloepper JW. 1998. Interaction between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. *Soil Biol Biochem* 30:925-937.

- Hankin L, Anagnostakis SL. 1975. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia* 67:597-607.
- Harni R, Mustika I. 2000. Pengaruh infestasi *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita*, dan *Radopholus similis* pada tanaman nilam. *Buletin Balitro* XI:47-54.
- Hasky-Gunther K, Hoffmann-Hergarten S, Sikora RA. 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.
- Huetzel RN. 1985. Carrot disc culture. In: Zukermant BM, Mai WF, Harrison (ed). *Plant Nematology Laboratory Manual*. Massachusetts: The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station. p 153-154.
- Klopper JW, Rodriguez-Kabana R, McInroy JA, Young RW. 1992. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: identification by fatty acid analysis and foliar diseases. *Australasian Plant Pathol* 28:21-26.
- Klopper JW, Zablutowicz RM, Tipping EM, Lifshitz R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: Keister DL, Cregan PB (ed). *The Rhizosphere and Plant Growth*. Netherlands. Kluwer Acad Publ. p 315-326.
- Lingappa Y, Lockwood JL. 1962. Chitin medium for selective isolation and culture of actinomycetes. *Phytopathology* 52:317-323.
- Mariska I, Husni A. 1994. Peranan humics acids pada pertumbuhan nilam secara *in vitro*. *Medkom Litri* 14:67-71.
- Mustika I, Rahmat A, Suyanto. 1995. Pengaruh pupuk, pestisida, dan bahan organik terhadap pH tanah, populasi nematoda, dan produksi nilam. *Medkom Penelit Pengembangan Tantri* 15:70-74.
- Mustika I, Rostiana O. 1992. The growth of four patchouli cultivars infected with *Pratylenchus brachyurus*. *Spice Medicinal Crops J* 1:5-9.
- Perry RN, Trett MW. 1986. Ultrastructure of the eggshell of *Heterodera schachtii* and *Heterodera glycines* (Nematoda: Tylenchida). *J Nematol* 18:129-135.
- Salamone IEG, Hynes RK, Nelson LM. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can J Microbiol* 47:404-411.
- Schippers B, Bakker AW, Bakker PAHM. 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu Rev Phytopathol* 25:339-358.
- Sriwati R. 1999. Ketahanan beberapa kultivar nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) terhadap *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev. & Stekhoven [Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Thakuria D, Talukdar NC, Goswami C, Hazarika S, Boro RC. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Curr Sci* 86:978-985.
- Tian H, Riggs RD, Crippen DL. 2000. Control of soybean cyst nematode by chitinolytic bacteria with chitin substrate. *J Nematology* 32:370-376.
- Wei G, Klopper JW, Tuzun S. 1991. Induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbicularae* by select strain of plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81:1508-1512.