



I.Bb.01 a.2.07

ISSN : 0215-0824

buletin

PENELITIAN TANAMAN REMPAH DAN OBAT

Volume 23 No. 1, 2012

Krediasi LIPI No. 191/AU1/P2MBI/08/2009 dengan nilai B

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mengemukakan sumber.
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penerbitan dan penyusunan buku.
b. Pengutipan tidak mengizinkan pengutipan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor) Bogor Agricultural University

Penyimpanan dan Pelapisan (<i>Coating</i>) Benih dengan Pestisida Nabati	
Mutu Buah Rimpang Jahe	Sukarman dan Deliah Seswita
Perakaran dan Aklimatisasi Tanaman Tabat Barito Setelah Konservasi <i>In Vitro</i>	
.....	Natalini Nova Kristina dan Sitti Fatimah Syahid
Pertumbuhan Semai Dua Spesies Gaharu terhadap Intensitas Cahaya dan	
Tanam	Albert Husein Wawo dan Ning Wikan Utami
Defisit Air terhadap Pembentukan Bahan Aktif pada Purwoceng	
.....	Octivia Trisilawati dan Joko Pitono
Kompatibilitas Ekstrak Biji Mimba untuk Mengendalikan Kompleks	
.....	Nurindah, Dwi Adi Sunarto, dan Sujak
Manfaat Limbah Tanaman Aromatik sebagai Mulsa dan Daya Repelensinya	
.....	Wiratno, Sondang Suriati, Muhamad Djazuli, dan Siswanto
Tanaman dan Trips Berasosiasi dengan Tanaman Daun Ungu dan Tingkat	
.....	Tri Lestari Mardiningsih, Dewi Sartiami, Nurul Khumaida, Natalini Nova Kristina, dan Cucu Sukmana
Pengaruh Pemupukan terhadap Intensitas Serangan Penyakit Budok dan Pertumbuhan	
.....	Burhanuddin dan Nurmansyah
Pengaruh Infeksi Virus Mosaik terhadap Produksi dan Kadar Minyak Tiga Varietas Nilam	
.....	Rita Noveriza, Gede Suastika, Sri Hendrastuti Hidayat dan Utomo Kartosuwondo
Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda <i>Pratylenchus brachyurus</i>	
.....	Rita Harni, Supramana, Meity S. Sinaga, Giyanto, dan Supriadi



PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERKEBUNAN

Jenderalentara Pelajar No. 1 Cimanggu, Bogor 16111
Telp. (0251) 8336194, 8313083 – Fax (0251) 8336194
E-mail : criec@indo.net.id



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak Cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Volume 23 No. 1, 2012

Penanggung Jawab :

M. Syakir

Dewan Redaksi :

I Wayan Laha (Entomologi)
Syah Manohara (Fitopatologi)
Otih Rostina (Pemuliaan dan Bioteknologi)
M. Januwati (Ekofisiologi)
Usman Daras (Ekofisiologi)
Ekwasita Rini Pribadi (Sosial Ekonomi)

Redaksi Pelaksana :

Dono Wahyuno
Eko Hamidi
Efiana
Miftahudin

Alamat Redaksi :

Jalan Tentara Pelajar No. 3
Cimanggu, Bogor 16111
Telp. (0251) 8321879 - Fax. (0251) 8327010
E-mail : balitro@litbang.deptan.go.id
balitro@telkom.net

Dapat diakses di :

<http://balitro.litbang.deptan.go.id>

CARA MERUJUK YANG DIANJURKAN

Contoh : Sukarman dan D. Seswita. 2012. Pengaruh Lokasi Penyimpanan dan Pelapisan (*Coating*) Benih Dengan Pestisida Nabati terhadap Mutu Benih Rimpang Jahe. Bul. Littro. 23 : 1-10.

Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat memuat karya tulis ilmiah hasil penelitian tanaman rempah dan obat untuk disebarluaskan kepada para ilmuwan, pengambil kebijakan, penyuluh, dan petani. Terbit 2 nomor setahun. Jenis naskah berupa karya tulis hasil penelitian. Redaksi menerima sumbangan tulisan dari luar. Naskah yang diterima adalah yang belum pernah dipublikasikan di media cetak lain dan hendaknya mengacu pada **Pedoman Bagi Penulis** yang terdapat pada sampul belakang di bagian dalam. Redaksi berhak untuk menyunting naskah tanpa mengubah isi dan makna tulisan atau menolak suatu naskah. Naskah yang tidak diterbitkan tidak akan dikembalikan kepada penulis.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan artikel, dan publikasi ilmiah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Bogor Agricultural University



buletin PENELITIAN TANAMAN REMPAH DAN OBAT

Volume 23 Nomor 1, 2012

Akreditasi LIPI No. 191/AU1/P2MBI/08/2009 dengan nilai B

DAFTAR ISI

Pengaruh Lokasi Penyimpanan dan Pelapisan (<i>Coating</i>) Benih dengan Pestisida Nabati terhadap Mutu Benih Rimpang Jahe	Sukarman dan Deliah Seswita	1-10
Induksi Perakaran dan Aklimatisasi Tanaman Tabat Barito Setelah Konservasi <i>In Vitro</i> Jangka Panjang	Natalini Nova Kristina dan Sitti Fatimah Syahid	11-20
Tanggap Pertumbuhan Semai Dua Spesies Gaharu terhadap Intensitas Cahaya dan Media Tanam	Albert Husein Wawo dan Ning Wikan Utami	21-33
Pengaruh Cekaman Defisit Air terhadap Pembentukan Bahan Aktif pada Purwoceng	Octivia Trisilawati dan Joko Pitono	34-47
Efektivitas dan Kompatibilitas Ekstrak Biji Mimba untuk Mengendalikan Kompleks Penggerek Buah Kapas	Nurindah, Dwi Adi Sunarto, dan Sujak	48-60
Pemanfaatan Limbah Tanaman Aromatik sebagai Mulsa dan Daya Repelensinya terhadap <i>Dolechallia polibete</i>	Wiratno, Sondang Suriati, Muhamad Djazuli, dan Siswanto	61-69
Kutu Tanaman dan Trips Berasosiasi dengan Tanaman Daun Ungu dan Tingkat Kerusakan Tanaman	Tri Lestari Mardiningsih, Dewi Sartiami, Nurul Khumaida, Natalini Nova Kristina, dan Cucu Sukmana	70-82
Pengaruh Pupukan terhadap Intensitas Serangan Penyakit Budok dan Pertumbuhan Tanaman Nilam	Burhanuddin dan Nurmansyah	83-92
Pengaruh Infeksi Virus Mosaik terhadap Produksi dan Kadar Minyak Tiga Varietas Nilam	Rita Noveriza, Gede Suastika, Sri Hendrastuti Hidayat dan Utomo Kartosuwondo	93-101
Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda <i>Pratylenchus brachyurus</i> pada Tanaman Nilam	Rita Harni, Supramana, Meity S. Sinaga, Giyanto, dan Supriadi	102-114

PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERKEBUNAN

Jl. Tentara Pelajar No. 1 Cimanggu, Bogor 16111
Telp. (0251) 8336194, 8313083 – Fax (0251) 8336194
E-mail : criec@indo.net.id

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak cipta dilindungi undang-undang (Institut Pertanian Bogor)
Bogor Agricultural University

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 umur satu bulan diperlakukan dengan bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans* TT2, *Bacillus subtilis* NJ57, *Caligenes faecalis* NJ16, *Bacillus cereus* MSK, dan *Pseudomonas putida* EH11 dengan metode *split root system* (bagian akar diinokulasi dengan bakteri endofit (populasi 10^9 /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 nematicidal substances. The study was conducted to analyze the selected characters associated with the control mechanisms of endophytic bacteria on *P. brachyurus*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mengutip sumbernya.
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak cipta milik Institut Pertanian Bogor (IPB) for Agriculture University

One-month-old patchouli cuttings were treated with endophytic bacterium i.e. *A. baumannii* TT2, *B. subtilis* NJ57, *A. faecalis* NJ16, *B. cereus* MSK, and *P. fluorescens* EH11 with split root method. The metabolites analyzed were salicylic acid, phenol, indole acetic acid and peroxidase using HPLC and spectrophotometer. The results showed that the mechanism of endophytic bacteria in controlling *P. brachyurus* was induce resistance of plant. Increased salicylic acid, peroxidase and phenol activities were detected on path plants inoculated with *A. baumannii* TT2, *A. faecalis* NJ16 and *B. 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 metabolik. Induksi ketahanan tanaman terhadap nematoda dapat melalui peningkatan asam salisilat, peroksidase, fitoaleksin, *pathogenesis 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

2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

gan tempat makan nematoda.

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

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis beberapa karakter yang berkaitan 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, 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 di masukkan 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* method

Asam salisilat dan peroksidase

1. Diambil 100 gram akar tanaman nilam yang telah dibersihkan dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 24 jam. Kemudian ditumbuk halus dan dituangkan ke dalam blender. Ditambahkan 100 ml air suling dan dihaluskan. Hasilnya dituangkan ke dalam botol dan disimpan di suhu 4°C. Untuk analisis kadar asam salisilat dan peroksidase dilakukan dengan metode spektrofotometri. Akar ditimbang sebanyak 1 g kemudian dihaluskan dengan mortar dalam buffer fosfat 0,01 M, pH enam dengan perbandingan 1:4. Ekstrak akar disentrifugasi 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 memasukkan 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 H₂O₂ 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 = A OD x sediaan enzim (ml)/bobot basah kontrol (g)

2. Diambil 100 gram akar tanaman nilam yang telah dibersihkan dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 24 jam. Kemudian ditumbuk halus dan dituangkan ke dalam blender. Ditambahkan 100 ml air suling dan dihaluskan. Hasilnya dituangkan ke dalam botol dan disimpan di suhu 4°C. Untuk analisis kadar asam salisilat dan peroksidase dilakukan dengan metode spektrofotometri. Akar ditimbang sebanyak 1 g kemudian dihaluskan dengan mortar dalam buffer fosfat 0,01 M, pH enam dengan perbandingan 1:4. Ekstrak akar disentrifugasi 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 memasukkan 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 H₂O₂ 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 = A OD x sediaan enzim (ml)/bobot basah kontrol (g)

3. Diambil 100 gram akar tanaman nilam yang telah dibersihkan dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 24 jam. Kemudian ditumbuk halus dan dituangkan ke dalam blender. Ditambahkan 100 ml air suling dan dihaluskan. Hasilnya dituangkan ke dalam botol dan disimpan di suhu 4°C. Untuk analisis kadar asam salisilat dan peroksidase dilakukan dengan metode spektrofotometri. Akar ditimbang sebanyak 1 g kemudian dihaluskan dengan mortar dalam buffer fosfat 0,01 M, pH enam dengan perbandingan 1:4. Ekstrak akar disentrifugasi 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 memasukkan 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 H₂O₂ 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 = A OD x sediaan enzim (ml)/bobot basah kontrol (g)

4. Diambil 100 gram akar tanaman nilam yang telah dibersihkan dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 24 jam. Kemudian ditumbuk halus dan dituangkan ke dalam blender. Ditambahkan 100 ml air suling dan dihaluskan. Hasilnya dituangkan ke dalam botol dan disimpan di suhu 4°C. Untuk analisis kadar asam salisilat dan peroksidase dilakukan dengan metode spektrofotometri. Akar ditimbang sebanyak 1 g kemudian dihaluskan dengan mortar dalam buffer fosfat 0,01 M, pH enam dengan perbandingan 1:4. Ekstrak akar disentrifugasi 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 memasukkan 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 H₂O₂ 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 = A OD x sediaan enzim (ml)/bobot basah kontrol (g)

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.*

Bogor Agricultural University

xylosoxidans TT2, *B. subtilis* NJ57, *A. faecalis* NJ16, *B. cereus* MSK, dan *P. putida* EH11) selanjutnya diinokulasi dengan nematoda. Kemudian diamati pengaruh 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 No. 10, kemudian disuntikkan ke dalam HPLC.

Produksi hormon pertumbuhan dan 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 sinitium, 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

2. Dilarang mengumumikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini untuk dicantumkan dan diperlihatkan dalam publikasi ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

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

*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>Gees faecalis</i> NJ16	6,16 ± 2,13 a	75,84
<i>Bacter xylooxidans</i> TT2	8,00 ± 1,67 a	68,62
<i>Putidans putida</i> EH11	8,00 ± 3,76 a	68,62
<i>tereus</i> MK	15,20 ± 2,04 b	40,39
<i>subtilis</i> N57	17,80 ± 4,32 b	30,07
Bakteri endofit <i>Without</i> <i>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 *Meloidogyne sphaerica* (B43) untuk mengendalikan *G. pallida*, kedua strain bakteri secara nyata mengurangi larva tua *G. pallida* yang menembus tetras akar kentang hingga 60% dibanding kontrol.

Analisis peroksidase

Hasil analisis peroksidase menunjukkan bahwa bakteri endofit *P. putida* EH11, *A. xylooxidans* 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. xylooxidans* 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



2014) mengemukakan bahwa senyawa salisilat yang diproduksi oleh bakteri endofit dapat meningkatkan ketahanan sistemik tanaman terhadap serangan nematoda. Senyawa salisilat juga dapat meningkatkan ketahanan sistemik tanaman terhadap serangan nematoda. Senyawa salisilat juga dapat meningkatkan ketahanan sistemik tanaman terhadap serangan nematoda.

NJ57, *B. cereus* MSK dan *P. EH11*. Hal ini membuktikan mekanisme kerja dari bakteri tidak sama untuk setiap tanaman. Peningkatan biosintesis asam salisilat pada tanaman yang diinokulasi dengan bakteri endofit telah dilaporkan oleh Sidani dan Shariat (2004). *Pseudomonas fluorescens* mendorong ketahanan sistemik terhadap nematoda puru akar melalui transduksi independen dari salisilat yang terakumulasi di jaringan akar (Hasky-Gurber *et al.* (1998) mempelajari ekspresi protein pada ketahanan sistemik yang diinduksi bakteri pada kentang yang diserang nematoda sista *G. pallida*. Hasky-Gurber *et al.* (1998) mempelajari 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 terbakau dan puncis yang diperlakukan dengan bakteri *P. aeruginosa* 7N1K2, 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.*

xylooxidans 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. xylooxidans* 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

Bogor Agricultural University



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

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

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

Key : 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 jandum 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.

Hal ini dapat Dilindungi Undang-undang Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mengutip sumbernya.
2. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
3. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mengutip sumbernya.
2. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
3. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Tabel 2. Mekanisme kerja bakteri endofit dalam mengendalikan *P. brachyurus* pada nilam
 The Mechanism of action of endophytic bacterial in controlling *P. brachyurus* on patchouli

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

Keterangan : - tidak menghasilkan, + menghasilkan, IAA = indole acetic acid
 Does not produce, + produce, IAA = indole acetic acid
 * Hariyanto (2008)

KESIMPULAN

Mekanisme keefektifan bakteri endofit *A. xylooxidans* TT2, *A. xylooxidans* EH11, *B. 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. xylooxidans* NJ16 dan *A. xylooxidans* TT2. Sedangkan peningkatan aktivitas asam salisilat dan senyawa fenol ditunjukkan oleh *A. xylooxidans* 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.

1. Diarahkan mengutip sebagian atau seluruhnya sebagai kutipan dengan menyebutkan nama penulis dan tahun terbit.
 2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan artikel atau surat kabar.
 3. Pengutipan tidak mengizinkan dan memperbolehkan untuk disebarluaskan atau diperjualbelikan secara komersial.
 4. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.
 5. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.
 6. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.
 7. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.
 8. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.
 9. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.
 10. Pengutipan harus mencantumkan dan mengutip dengan benar sumber aslinya.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor) / Institut Pertanian Bogor / Bogor Agricultural University

Compan, S., B. Reiter, J. Nowak, dan E. Ait Barka. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera*. *Applied Enviromental Microbiology*. 71 : 1685-1693.

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 peluca 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 peluca akar *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. *Hayati*. 14 :8-12.

Harni, R. 2009. Pengaruh beberapa isolat bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluca 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 peluca 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 peluca 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.

Bogor Agricultural University



Von 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.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University