

**Pengujian *Bacillus spp* dan *pseudomonad fluoresen* dalam Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri Nilam Secara *in planta* di Rumah Kaca**

*(The Study of Bacillus spp. and Pseudomonad Fluoresen to Controll Patchouli Wilt Disease In Planta at Green House)*

**oleh:**  
Chrisnawati<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Fakultas Pertanian Universitas Mahaputra Muhammad Yamin Solok

---

**ABSTRACT**

The study of controlling bacterial wilt disease on patchouli plant (*Rasltonia solanaceraum*) in Laboratory and Green house of KP Balitro Laing Solok from Mart to Juny 2006. The aims of the study were to find out the effective combination form product of *Bacillus spp* and Fluorescent pseudomonad. Isolate of *Bacillus sp.* and Fluorescent pseudomonad in separation and combination as treatments were isolated from the rhizosphere of healthy patchouli plant, and selected based on antagonistic activity against *Ralstonia solanacearum* screening *in vitro*, for three months. Further isolates of *Bacillus spp.* and fluorescent pseudomonads best of the test results are taken for testing the combination in the same way with the previous test. Treatment was arranged in a completely randomized design (CRD) with six replications. The assessment parameters were incubation period of symptoms disease and disease intensity. The results showed that *Bacillus sp.* Bc26; Bc80 and Bc81 and Fluorescent pseudomonad Pf101; Pf146 and Pf170 could control the bacterial wilt disease better than the others. In addition, the combination of *Bacillus spp* (Bc26; Bc80; Bc81) and Fluorescent pseudomonad (Pf101; Pf146; Pf170) could control the bacterial wilt disease better than separately. The combination of *Bacillus sp.* Bc26 with Fluorescent pseudomonad Pf101; Bc26 with Pf 146; and Bc80 with Pf101 could control the bacterial wilt disease better than other combinations that delayed the incubation period of symptom disease from 14 to 50-55 DAI and decreased the disease intensity of bacterial wilt from 69,6 to 4,2-9,9%. The results of the experiment showed that *Bacillus sp.* Bc26 and Fluorescent pseudomonad Pf101, Pf146 and Pf147 isolates have the highest activity on controlling the bacterial wilt disease either in combination or separation.

*Key word* : *Bacillus sp.*, Fluorescent pseudomonad, *Rasltonia solanaceraum*, wilt disease, disease intensity

**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; Hernani dan Resfaheri, 1989). Di tingkat Internasional permintaan minyak nilam cukup besar, ini dapat dilihat dari ekspor

minyak nilam mencapai 1.295 ton dengan nilai ekspor US\$ 22,5 juta (Ditjen Bina Produksi, 2004). Indonesia sebagai salah satu negara pengekspor minyak nilam terbesar di dunia mensuplai hampir 90% dari kebutuhan minyak dunia (Asman, 1996), dan nilam diharapkan dapat meningkatkan sumber pendapatan Negara dari sektor nonmigas.

Hampir seluruh pertanaman nilam di Indonesia diusahakan oleh petani yang melibatkan 36.461 kepala keluarga. Daerah pertanaman nilam tersebar di daerah Nangro Aceh Darusallam (NAD), Sumatera Utara, Sumatera Barat, Bengkulu, Lampung, Jawa Barat, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta, dan Jawa Timur. Pada tahun 2002, luas areal pertanaman nilam mencapai 21.602 ha, namun rata-rata produktifitas masih rendah yaitu 97,53 kg/ha/ tahun (Nuryani, 2005). Rendahnya produktifitas dan mutu minyak nilam salah satunya disebabkan oleh berkembangnya penyakit tanaman, terutama penyakit layu bakteri yang dapat menurunkan produksi 60-80% pada pertanaman nilam seperti yang dijumpai di Sumatera pada tahun 1991 (Asman *et al.*, 1993). Penyakit ini disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith (Sitepu dan Asman., 1989; Radhakrishnan *et al.*, 1997; Asman *et al.*, 1998; Supriadi., 2000; Nasrun *et al.*, 2004).

Penyakit ini telah menyebar ke daerah sentra produksi di Sumatera Barat, Sumatera Utara dan Aceh. Akhir-akhir ini penyakit layu bakteri nilam telah menyebar luas dan merupakan ancaman terhadap pertanaman nilam, terutama di daerah sentra produksi nilam. Pengendalian penyakit yang dilakukan adalah pemakaian mulsa jerami padi, ampas nilam, antibiotik, pemupukkan, dan abu sekam, tetapi hasil yang dicapai masih kurang memuaskan (Asman, 1996).

Pengendalian hayati menggunakan agens hayati adalah salah satu alternatif pengendalian yang diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut. Di antara antagonis yang telah dikembangkan adalah *Bacillus spp* dan *Pseudomonad fluoresen*.

*Bacillus spp* seperti *Bacillus spp* strain 1324-92 mempunyai kemampuan mengendalikan penyakit akar gandum, yaitu *take-all* disebabkan oleh *Gaeumannomyces graminis* dan busuk akar yang disebabkan *P. irregulare* dan *P. ultimum* (Dai-Soo Kim *et al.*, 1997). Menurut Arwiyanto (1997) *Bacillus sp* yang ditemukan dari putri malu mempunyai kemampuan menghambat *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tembakau secara *in vitro*. Menurut Arwiyanto dan Hartana (1999), perendaman akar tembakau dalam suspensi *Bacillus sp* ( $10^8$  cfu/ml) selama 30 menit mampu menekan perkembangan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum*.

Begitu pula *Pseudomonad fluoresen* dapat menekan perkembangan penyakit layu bakteri pada tomat (Aspiras dan de la Cruz, 1985), kentang (Gunawan, 1995), tembakau (Arwiyanto, 1998), dan jahe (Mulya *et al.*, 2000) yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*.

Pemanfaatan kombinasi antagonis dalam pengendalian penyakit tanaman merupakan langkah perbaikan pendekatan pengendalian hayati (Duffy dan Weller, 1995). 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).

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 pengujian Agensia hayati *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen diharapkan dapat meningkatkan mekanisme pengendalian hayati kedua agensia hayati tersebut dalam mengendalikan penyakit layu bakteri nilam. Melalui penelitian pengujian isolat *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen pada bibit nilam di rumah kaca akan didapatkan kombinasi agensia hayati yang dapat mengendalikan penyakit layu bakteri nilam secara efektif dan efisien sehingga masalah penyakit layu bakteri nilam dapat diatasi dan produksi nilam dapat ditingkatkan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium dan rumah kaca KP. Balitro Laing Solok, Sumatera Barat pada bulan Februari sampai Juli 2006

Penelitian ini menggunakan agensia hayati *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen terbaik sebagai hasil penelitian terdahulu yang diisolasi dari nilam sehat pada daerah endemik penyakit layu bakteri nilam dan diseleksi secara *in vitro* di laboratorium. Isolat bakteri patogen (*Ralstonia solanacearum*)

diisolasi dari nilam terserang penyakit layu bakteri di daerah endemik.

Pengujian dilakukan terhadap *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen terpilih masing-masing sepuluh isolat dalam bentuk terpisah sebagai perlakuan untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada bibit nilam di rumah kaca. Selanjutnya isolat *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen terbaik hasil pengujian terpisah diambil untuk pengujian kombinasi untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada bibit nilam di rumah kaca. Nilam yang tidak diperlakukan dengan *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen digunakan sebagai kontrol. Perlakuan yang diuji disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan masing-masing perlakuan diulang 6 kali.

Isolat *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen masing-masing ditumbuhkan dan diperbanyak pada medium *Tryptic Soy Agar (TSA)* dan *King's B* pada temperatur 30°C selama 48 jam. Isolat tersebut selanjutnya disuspensikan pada aquades steril dengan tingkat kerapatan populasi 10<sup>9</sup> CFU/ml (Arwiyanto, 1998)

Bakteri patogen (*Ralstonia solanacearum* Rs Ps 11) di tumbuhkan pada medium *Yeast Pepton Cair*, diinkubasikan pada suhu 30°C selama 48 jam. Selanjutnya disuspensikan dalam akuades steril. Inokulum siap digunakan untuk inokulasi pada bibit nilam.

Pengujian dilakukan dengan cara mencelupkan akar bibit nilam berumur 2 bulan ke dalam suspensi isolat *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen baik secara terpisah maupun kombinasi selama 30 menit. Selanjutnya bibit nilam tersebut ditanam di dalam polibag berdiameter 10 cm berisi media tanam yang telah di inokulasi dengan bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* (10<sup>8</sup> CFU/ml).

Bibit nilam yang telah diperlakukan tersebut diinkubasikan di rumah kaca pada suhu kamar selama 3 bulan sampai terlihat gejala penyakit layu bakteri. Sebagai parameter pengamatan diamati masa inkubasi menunjukkan gejala penyakit layu bakteri (hari setelah inokulasi " HSI") dan intensitas penyakit (%).

Untuk penentuan intensitas penyakit digunakan 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

Selama inkubasi dirumah kaca dilakukan pemeliharaan tanaman yang meliputi penyiraman, penyiangan, pemberian insektisida dan pemupukan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penekanan Penyakit Layu Bakteri Nilam oleh *Bacillus spp* di rumah kaca

Bibit nilam setelah diperlakukan dengan 10 isolat strain *Bacillus spp*

terpilih yaitu *Bacillus spp* Bc 5; Bc 19; Bc 20; Bc 26; Bc 39; Bc 80; Bc 81; Bc 89; Bc 98; dan Bc 99 dan diinokulasi dengan bakteri patogen di rumah kaca, menunjukkan bahwa isolat *Bacillus spp* dapat mengendalikan penyakit layu bakteri nilam dengan menunda munculnya gejala penyakit dari 16 HSI menjadi 17-54 HSI dengan penekanan intensitas penyakit dari 73,9% menjadi 9,5 – 60,6 % (Tabel 1).

Dari strain *Bacillus sp* yang dapat mengendalikan penyakit layu bakteri nilam di dapatkan tiga strain yang mempunyai kemampuan yang tinggi, yaitu strain *Bacillus spp* Bc26, Bc 80 dan Bc 81 dengan penundaan masa inkubasi gejala penyakit dari 16 HSI menjadi 40-54 HSI dan menekan intensitas penyakit dari 73,9% menjadi 9,5-16,4% (Tabel 1).

Sebaliknya isolat Bc 20 dan Bc 99 memperlihatkan penekanan perkembangan penyakit sangat rendah dan bahkan tidak berbeda nyata dengan bibit nilam yang tidak diperlakukan dengan *Bacillus sp* (kontrol).

Tabel 1. Hari Setelah Inokulasi "HSI" dan intensitas penyakit layu bakteri pada bibit nilam (%) di rumah kaca pada 48 HSI

<i>Bacillus spp</i>	Masa inkubasi gejala penyakit (hari setelah inokulasi "HSI")	Intensitas penyakit (%)
Bc 26	56	9,5 a
Bc 80	48	11,4 a
Bc 81	42	16,4 ab
Bc 89	37	21,1 b
Bc 98	28	22,2 b
Bc 19	24	47,8 c
Bc 39	21	50,6 cd
Bc 5	27	51,7 d
Bc 99	19	66,7 de
Bc 20	17	70,6 e
Kontrol (K)	16	73,9 e

<sup>a,b,c,d,e</sup>Angka-angka diikuti huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata pada taraf uji p=0,05 menurut Duncan's New Multiple Range Test

Kemampuan pengendalian penyakit merupakan ekspresi produksi antibiosis sebagai hasil uji pada medium TSA dan PDA secara *in vitro*. Seperti dilaporkan Sastrosuwigno (1988) bahwa *Bacillus sp* dapat menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan patogen diantaranya polipeptida-subtilin, gramisidin, bacitracin, polimiksin, fitoaktin dan bulbiformin. Hal ini terlihat dari hasil pengujian strain *Bacillus spp* tersebut secara *in vitro* di laboratorium yang memperlihatkan diameter zona penghambatan koloni bakteri patogen secara *in vitro* di laboratorium lebih besar dibandingkan isolat lainnya (Chrisnawati, 2006). Disamping itu *Bacillus sp* dapat bertahan lama di dalam tanah dengan membentuk spora dalam kondisi ekstrim, sehingga mempunyai daya tahan yang cukup lama. Spora tahan ini akan segera berkecambah dan berkembang apabila ada perubahan kondisi yang menguntungkan dan selanjutnya siap untuk berkompetisi dengan bakteri patogen (Cook dan Baker, 1983). Di antaranya kompetisi ruang dan nutrisi di rizosfer (Sakthivel dan Gnanamickam, 1987), sehingga mengakibatkan terjadinya keterbatasan tempat tumbuh patogen dan jumlah nutrisi tersedia (Bull *et al.*, 1991). Selanjutnya Arwiyanto (1997) melaporkan bahwa *Bacillus sp* yang diisolasi dari tanaman putri malu mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *R.solanaceraum* penyebab penyakit layu bakteri pada tembakau secara *in vitro*. Begitu pula menurut Arwiyanto dan Hartana (1999) bahwa *Bacillus sp* tersebut dapat menekan perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca.

Dari hasil pengujian ini terlihat kemampuan *Bacillus sp* secara *in vitro* tidak sama dengan kemampuan mengendalikan penyakit di rumah kaca.

Hal ini disebabkan *Bacillus sp* disamping menghasilkan antibiosis untuk mengendalikan patogen, juga harus dapat bertahan lama di dalam tanah secara optimal (Raaijmakers *et al.*, 1997). Perbedaan penekanan ini untuk setiap strain *Bacillus sp* dapat disebabkan variabilitas kemampuan, pembatasan dan ketidakstabilan produksi antibiosis oleh *Bacillus sp* akibat pengaruh faktor lingkungan yang berbeda (Weller, 1988). Untuk memperbesar kemungkinan ditemukan strain yang efektif sebagai antagonis dalam mengendalikan penyakit tanaman, seleksi strain *Bacillus sp* secara *in vitro* dan *in vivo* perlu dilakukan (Xu dan Gross, 1986b). Menurut Reddy *et al.* (1993 *cit.* Khan *et al.*, 2001) metode ini adalah cara yang efisien digunakan untuk seleksi strain *Bacillus sp*.

Selanjutnya ketiga strain *Bacillus spp* Bc 26; Bc80 dan Bc 81 tersebut akan digunakan untuk pengujian kombinasi *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen dalam mengendalikan penyakit layu bakteri pada bibit nilam di rumah kaca.

#### **Penekanan Penyakit Layu Bakteri Nilam oleh Pseudomonad fluoresen di rumah kaca**

Bibit nilam setelah diperlakukan dengan 10 isolat strain pseudomonad fluoresen terpilih yaitu Pseudomonad fluoresen Pf 79, Pf 100, Pf 101, Pf 117, Pf 128, Pf 145, Pf 146, Pf 170, Pf 191 dan Pf 196 dan diinokulasi dengan bakteri patogen di rumah kaca, menunjukkan bahwa isolat Pseudomonad fluoresen dapat mengendalikan penyakit layu bakteri nilam dengan menunda munculnya gejala penyakit dari 16 HSI menjadi 18-56 HSI dengan penekanan intensitas penyakit dari 73,9 menjadi 7,6 – 67,2 % (Tabel 2).

Tabel 2. masa inkubasi (HSI) dan intensitas penyakit (%) layu bakteri pada bibit nilam di rumah kaca pada 48 HSI

<i>Pseudomonad fluoresen (Pf)</i>	Masa inkubasi gejala penyakit (hari setelah inokulasi “HSI”)	Intensitas penyakit (%)
Pf 101	56	5,6 a
Pf 146	48	8,2 a
Pf 170	42	11,1 a
Pf 191	27	22,2 b
Pf 117	32	23,4 b
Pf 128	24	27,0 b
Pf 100	24	30,3 b
Pf 79	22	53,6 c
Pf 145	20	54,4 c
Pf 196	18	67,2 cd
Kontrol (K)	16	73,9 d

<sup>a,b,c,d</sup>Angka-angka diikuti huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata pada taraf uji p=0,05 menurut Duncan's New Multiple Range Test

Dari strain Pf yang menunjukkan penekanan perkembangan penyakit, didapatkan tiga strain yang menunjukkan penekanan perkembangan penyakit sangat nyata yaitu Pf 101, Pf 146 dan Pf 170 dengan penundaan muncul gejala penyakit dari 16 HSI menjadi 42-56 HSI, penekanan penyakit dari intensitas 73,9% menjadi 7,6 - 18,1% (Tabel 2). Dilihat dari hasil pengujian ini ternyata ada korelasi positif antara penekanan bakteri patogen secara *in vitro* di laboratorium dengan penekanan penyakit pada bibit nilam di rumah kaca. Ketiga strain ini juga memperlihatkan zona penghambatan koloni bakteri patogen yang besar secara *in vitro* (Chrisnawati, 2006).

Sebaliknya strain Pf 79, Pf 145 dan Pf 196 menunjukkan kemampuan paling rendah dalam menekan perkembangan penyakit dengan memperpanjang masa inkubasi dari 16 HSI menjadi 18 – 22 HSI dan menekan perkembangan penyakit dari intensitas penyakit dari 73,9 % menjadi 53,6- 67,2 %, bahkan Pf 196 memperlihatkan intensitas penyakit yang sama dengan bibit nilam yang

tidak diperlakukan dengan pseudomonad fluoresen (kontrol) (Tabel 2).

Kemampuan pengendalian penyakit oleh isolat tersebut merupakan ekspresi produksi siderofor sebagai hasil uji antagonistik pada medium *King's B* secara *in vitro* (Nasrun *et al.*, 2004). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Xu dan Gross (1986a) bahwa strain Pf yang mempunyai kemampuan menghasilkan siderofor secara *in vitro*, terlihat juga mempunyai kemampuan menekan perkembangan penyakit busuk lunak kentang yang disebabkan oleh *Erwinia carotovora* di rumah kaca. Disamping itu mekanisme antibiotik yang dihasilkan oleh Pf (*Pf Q 2-87*) seperti antibiotik *2-4-diacetyl phloroglucinol* yang dihasilkan oleh dapat menghambat pertumbuhan *Pythium ultimum* penyebab penyakit rebah kecambah tebu (Rosales *et al.*, 1995 *cit.* Dwivedi dan Johry, 2003).

*Phenazine* yang dihasilkan oleh *P. fluorescens 2-79* dapat menghambat pertumbuhan *Gaeummanomyces graminis tritici* (Ggt) penyebab penyakit puso pada gandul (Mavrodi *et al.*, 1998 *cit.* Dwivedi dan Johry, 2003).

Dari 200 strain *Bacillus spp* dan pseudomonad fluoresen yang didapatkan ternyata diketahui ada tiga strain dari masing-masingnya yang mempunyai daya antagonistik yang tinggi dalam mengendalikan penyakit layu bakteri nilam. Berarti hanya 1,5 % isolat yang mampu mengendalikan penyakit layu bakteri nilam di rumah kaca. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Montensinos *et al.* (1996) bahwa dari 410 strain *Pseudomonas fluorescens* yang diisolasi dari akar *pear*, diketahui 7% dari isolat tersebut dapat mengendalikan penyakit *brown spot* pada *pear* yang disebabkan oleh *Stemphylium versicarium* (Weller) E. Simmons.

Hasil pengujian ini menunjukkan, bahwa tidak semua pseudomonad fluoresen yang mampu menekan bakteri patogen secara *in vitro* dapat menekan bakteri patogen pada bibit nilam di rumah kaca. Hal ini disebabkan Pf di samping menghasilkan antibiotik dan siderofor untuk mengendalikan patogen, juga harus dapat mengkolonisasi akar dan rizosfer serta menyebar di dalam tanah secara optimal (Raaijmakers *et al.*, 1997). Kemampuan setiap strain Pf mengkolonisasi akar tidak sama, dan pola kolonisasi akar bervariasi tergantung pada strain (Xu dan Gross, 1986b; Woeng *et al.*, 1997 dalam Marschner *et al.*, 1997). Hal ini berarti, kemampuan antagonistik secara *in vitro* di laboratorium tidak menjamin kemampuan kolonisasi akar yang sama (Sakthivel dan Ganamanikham, 1987). Kemampuan pengendalian penyakit oleh strain tersebut dapat diekspresikan sebagai mekanisme produksi siderofor dan antibiosis sebagai hasil uji antagonistik pada medium *King's B* dan *PDA* secara *in vitro* dan kemampuan kolonisasi yang muncul menunjukkan penekanan perkembangan penyakit dari

nisasi akar dan rizosfer (Xu dan Gross, 1986a).

Untuk memperbesar kemungkinan ditemukan strain yang efektif sebagai antagonis dalam mengendalikan penyakit tanaman, seleksi strain secara *in vitro* di laboratorium dan *in vivo* di rumah kaca perlu dilakukan (Xu dan Gross, 1986b). Menurut Reddy *et al.* (1993 *cit.* Khan *et al.*, 2001) metode ini adalah cara yang efisien digunakan untuk seleksi strain Pf.

### **Penekanan Penyakit Layu Bakteri Nilam oleh Kombinasi *Bacillus sp* dan Pseudomonad fluoresen di rumah kaca**

Untuk mengetahui pengaruh interaksi antara strain pseudomonad fluoresen dan *Bacillus sp* secara *in planta*, perlu dilakukan pengujian interaksi kedua agens hayati tersebut secara kombinasi (1:1) pada bibit nilam di rumah kaca.

Pemilihan 3 strain *Bacillus sp* dan 3 strain pseudomonad fluoresen untuk pengujian kombinasi kedua agens hayati tersebut pada bibit nilam di rumah kaca, dilakukan berdasarkan penekanan penyakit layu bakteri nilam terbaik dari hasil pengujian kedua agens hayati tersebut di rumah kaca. Strain tersebut adalah *Bacillus sp* Bc 26; Bc 80; dan Bc 81 dan Pseudomonad fluoresen Pf 101, Pf 146; dan Pf 170.

Hasil pengujian kombinasi kedua agens hayati *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen tersebut dengan perbandingan volume 1:1, menunjukkan bahwa kombinasi kedua agens hayati tersebut mampu menekan perkembangan penyakit layu bakteri nilam. Hal ini dapat dilihat dari masa inkubasi gejala penyakit layu bakteri intensitas 69,6 % menjadi 7,2 - 13,1% (Tabel 3).

Dari pengujian kombinasi tersebut terlihat kombinasi Bc 26 dengan Pf 101, Pf 146 dan Pf 170, menunjukkan intensitas penyakit lebih rendah (Tabel 3) dibandingkan dengan Bc 80 dan Bc 81 baik untuk Pf 101, Pf 146 maupun Pf 170. Semua perlakuan kombinasi Pf dan *Bacillus sp* yang diuji menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kontrol (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa antara *Bacillus sp* dengan Pf tidak terjadi interaksi dalam kemampuan antagonistik terhadap bakteri patogen.

Hal ini lebih jelas terlihat bila dibandingkan dengan nilam yang tidak

diperlakukan dengan kombinasi *Bacillus sp* dan Pf (kontrol) yang menunjukkan perkembangan penyakit sangat besar yaitu 79% dengan masa inkubasi 16 HSI (Tabel 3). Hal ini menunjukkan kedua agens hayati tersebut mempunyai sifat simbiosis dalam menghambat bakteri patogen, sama seperti yang dilaporkan oleh Arwiyanto (1998). bahwa Pf yang dikombinasi dengan *Bacillus sp* dapat mengendalikan *Ralstonia solanacarium* yang menyebabkan penyakit layu bakteri pada tembakau.

Tabel 3. Masa inkubasi (HSI) dan intensitas penyakit (%) pada bibit nilam di rumah kaca pada 42 HSI.

<i>Bacillus sp</i> (Bc) + Pseudomonad fluoresen (Pf)	Masa inkubasi gejala penyakit (hari setelah inokulasi "HSI")	Intensitas penyakit (%)
Bc 26 + Pf 101	55 c	7,2 a
Bc 26 + Pf 146	50 bc	8,8 a
Bc 26 + Pf 170	47 b	10,2 a
Bc 80 + Pf 101	51 bc	9,9 a
Bc 80 + Pf 146	46 b	11,3 a
Bc 80 + Pf 170	43 b	12,0 a
Bc 81 + Pf 101	48 b	10,8 a
Bc 81 + Pf 146	44 b	13,1 a
Bc 81 + Pf 170	41 b	11,6 a
Kontrol (K)	14 a	69,6 b

<sup>a,b,c</sup>Angka-angka diikuti huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata pada taraf uji p=0,05 menurut Duncan's New Multiple Range Test

## KESIMPULAN

Hasil pengujian pengendalian penyakit layu bakteri nilam pada bibit nilam di rumah kaca menunjukkan bahwa strain *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen mempunyai kemampuan antagonistik dalam mengendalikan penyakit layu bakteri nilam. Terutama untuk strain *Bacillus spp* Bc 26; Bc 80 dan Bc 81 dan Pseudomonad fluoresen Pf 101; Pf 146 dan Pf 170 yang mempunyai kemampuan

antagonistik lebih baik dalam mengendalikan penyakit layu bakteri nilam dibandingkan dengan strain *Bacillus spp* dan Pseudomonad fluoresen lainnya dengan penundaan masa inkubasi gejala penyakit dari 16 HSI menjadi 45-56 HSI (*Bacillus spp*) dan 48-66 HSI (Pseudomonad fluoresen) dan menekan intensitas penyakit dari 73,9 % menjadi 5,6 – 12,4 % untuk *Bacillus spp* dan 6,6-24% untuk Pseudomonad fluoresen.



Kombinasi ketiga strain *Bacillus spp* dan *Pseudomonad fluoresen* tersebut mempunyai pengaruh yang berbeda nyata dibanding kontrol dan lebih baik dibandingkan secara terpisah dalam mengendalikan penyakit layu bakteri nilam dengan penundaan masa inkubasi gejala penyakit dari 14 HSI menjadi 41-55 HSI dan penekanan intensitas penyakit dari 69,6 menjadi 4,2-12,0 %.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto, T., 1997. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 5(1): 54-60
- 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.
- Arwiyanto, T., dan Hartana, I. 1999. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau, Percobaan rumah kaca. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 5 (1): 50-59
- Asman.A., Nasrun, A. Nurawan, dan D. Sitepu. 1993. Penelitian penyakit Nilam. *Risalah Konggres 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.
- Asman.A., M.A. Esther, dan D. Sitepu. 1998. Penyakit layu, budok dan penyakit lainnya serta strategi pengendaliannya. *Monograf Nilam*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor. 5, 84-88.
- Asnawi.R. dan M.P. Putra. 1990. Pengaruh bentuk torehan dan zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan stek nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Buletin Littro*. 5(1), 46-53.
- Aspiras. R.B. and A.R. de la.Cruz, 1985. Potential biological control of bacterial wilt in tomato and potato with *Bacillus polymyxa* FU6 and *Pseudomonas fluorescens*. *Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Banos, Philippines* 8-10 October 1985. 89-92.
- 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.
- Boer, M.D., Bom, P., Kindt,F., Keurentjes, J.J.B., Sluis, L.V.D., Loon, L.C.V 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.
- Campbell, R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*, Cambridge University Press, Cambridge, p 218.

- Cook, R.J., and K.F. Baker, 1989. The Nature and practice of biological control of plant pathogens. *American Phytopathological Society Press, St.Paul Minnesota* p 505.
- Dai-Soo Kim, . Cook, R.J., and Weller, D.M., 1997. *Bacillus sp L324-92* for biological control of three root disease of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology* 87: 551-558
- Ditjen Bina Produksi Perkebunan. 2004. Nilam. *Stistik Perkebunan Indonesia*. 23 hal.
- Dufy, B.K., and Weller, D.M., 1995. Use of *Gaeumannomyces graminis* var *graminis*. alone and in combination with fluorescent *Pseudomonas spp* to suppress take-all of wheat. *Plant Disease* 79: 907-911.
- Gunawan.O.S. 1995. Pengaruh mikroorganisme antagonis dalam mengendalikan bakteri layu *Pseudomonas solanacearum* pada tanaman kentang. *Risalah Kongres Nasional XII dan Seminar Ilmiah PFI, Mataram*. 473-479.
- Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., and Dinooor,A.. 2001. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. *Phytopatology* 91 : 621-627 (No 43).
- Hernani dan Resfaheri, 1989. Pengaruh perlakuan bahan sebelum penyulingan terhadap rendemen dan karekteristik minyak nilam. *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri*. Bogor XV (2), 54-61.
- Khan. N.I., D.A. Schisler., M.J. Boehm., P.J. Slininger., and R.J. Bothast. 2001. Aelection and evaluation of microorganisms for biocontrol of Fusarium head blight of wheat. Incited by *Gibberella zae*. *Plant Dis*.85: 1.253-1.258.
- Marschner, P., D.E. Crowley., and B. Sattelmacher. 1997. Root Colonization and Iron Nutritional Status of a *Pseudomonas fluorescens* in different Plant species. *Plant and soil* 196: 311 – 316.
- Montensinos.E., A.Bonnatera., Y.Ophir., and S.V.Beer. 1996. Antagonism of selected bacterial strains to *Stemphylium vesicarium* and biological control of brown spot of pear under controlled environment conditions. *Phytopathology* 86: 856-863.
- 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., Arwiyanto,T., dan Mariska,I., 2004a. Seleksi antagonistic pseudomonad fluoresen terhadap *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam secara *in vitro*. *Jurnal Stigma* 12 (2)224-227.

- Nasrun, Y. Nuryani., Horbir dan R.Anyo., 2004 b. Seleksi ketahanan varian nilam terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) secara in planta. *Jurnal Stigma*. 12 (4) 471- 473.
- Radhakrishan,S.K., Mathew and J. Mathew. 1997. Influence of shade intensities and varietal reactions of Patchouli (*Pogestemon patchouli*) to bacterial wilt incited by *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* E.F. Smith. Bacterial wilt Newsletter. *Publication of the Australian Centre for International Agricultural research*
- Raaijmakers, J.M., D.M. Weller., and L.S. Thomashow. 1997. Frequency of antibiotic producing *Pseudomonas* spp, in Natural Environments. *Applied and Environmental Microbiology*. Mar 1997 p. 881-887. American Society for Microbiology.
- Sakthivel,N., and S.S.Gnanamanicham. 1987. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for Suppression of Sheath Rot Disease and for Enhancement of Grain Yield in Rice (*Oryza sativa.L.*). *Applied and Environmental Microbiology*, 2056-2059.
- Sitepu.D., and A. Asman., 1989. *Laporan penelitian penyakit nilam di D.I. Aceh*. Kerjasama PT.Pupuk Iskandar Muda (Persero) dan Balittro, p. 20.
- 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.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407.
- Xu.G.W., and D.C.Gross, 1986. Selection of Fluorescens *Pseudomonads* antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. *Phytopathology* 76, 414-422