Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri
ISSN: 2085-6717, e-ISSN: 2406-8853 Vol. 9(2), Oktober 2017:53 –62
Versi on-line: http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/bultas DOI: .....

# Pengaruh Rizobakteri dalam Meningkatkan Kandungan Asam Salisilat dan Total Fenol Tanaman Terhadap Penekanan Nematoda Puru Akar

**Kristiana Sri Wijayanti[1], Bambang Tri Rahardjo[2], dan Toto Himawan[2]**
[1)] Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat
Jln. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang, Indonesia
[2)] Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Universitas Brawijaya, Indonesia
E-mail: anna_wkf@yahoo.com
*Diterima: 14 Maret 2017; direvisi: 19 Oktober 2017; disetujui: 23 Oktober 2017*

## ABSTRAK

Penyakit puru akar pada tanaman kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) yang disebabkan oleh nematoda *Meloidogyne* spp. mengakibatkan penurunan kualitas dan kuantitas serat. Kolonisasi rizobakteri dalam rizosfer berperan sebagai antagonis yang dapat dimanfaatkan dalam ketahanan tanaman terhadap patogen. Peran rizobakteri sebagai bioprotektan dapat menurunkan populasi nematoda yang akan mempengaruhi perkembangan patogen penyebab penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi rizobakteri yang potensial dalam meningkatkan ketahanan tanaman kenaf terhadap infeksi nematoda *Meloidogyne* spp. melalui pembentukan metabolit sekunder diantaranya kandungan total fenol dan asam salisilat. Aplikasi rizobakteri dengan cara perendaman dan tanpa perendaman baik secara tunggal maupun konsorsium. Rizobakteri yang digunakan terdiri dari 3 jenis yaitu *Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis,* dan *Azotobacter* sp. Pengamatan kandungan total fenol dan asam salisilat diamati pada 15 dan 25 hari setelah inokulasi dengan menggunakan alat spektrofotometer. Peningkatan total fenol dan asam salisilat tertinggi diperoleh ketika benih kenaf direndam dengan bakteri *P. fluorescens* berturut-turut sebesar 513,45% dan 235,99%. Terdapat peningkatan bobot kering tanaman kenaf dengan aplikasi rizobakteri dibandingkan dengan kontrol.

Kata kunci: Fenol, asam salisilat, rizobakteri, nematoda, kenaf

## *Effect of Rhizobacteria in Content of Salicylic Acid and Total Phenol of Kenaf Against Nematodes Infections*

## *ABSTRACT*

*Root knoot disease of kenaf caused by nematodes Meloidogyne spp. is an important disease since it lowers quality and quantity of the fiber. Colonization of rhizobacteria in rhizosphere acts as an antagonist that can be utilized in plant resistance to pathogens. The role of rhizobacteria as a bioprotectan could reduce nematode population, and thus affect development of the disease. This study aimed to evaluate the potency of rhizobacteria in improving kenaf resistance against root knot nematode by inhibiting the production of total phenols and salicylic acid. Application of rhizobacteria was done by soaking or without soaking kenaf seeds either singly or in consortium. There were three rhizobacteria used in this study, i.e: Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis, and Azotobacter sp. The content of total phenols and salicylic acid was observed at 15 and 25 days after inoculation using a spectrophotometer. The highest elevation level of total phenols and salicylic acid was obtained when kenaf seeds were soaked in P. fluorescens 513,45% and 235,99% respectively. There is an increase dry weight of kenaf with aplication of rhizobacteria compared with controls.*

*Keywords: Phenol, salicylic acid, rhizobacteria, nematode, kenaf*

## PENDAHULUAN

Tanaman berinteraksi dengan lingkungan melalui metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang terbentuk diantaranya berupa fenol. Istilah fenolat tanaman merupakan metabolit sekunder tanaman yang beragam secara struktural. Kelompok ini mencakup metabolit yang berasal dari kondensasi unit asetat (terpenoid, flavonoid, isoflavonoid dan tanin). Terjadinya metabolisme zat fenolik pada tanaman adalah sebagai respon terhadap luka ataupun invasi oleh patogen (Ohri & Pannu, 2010). Terjadinya akumulasi senyawa fenolik dapat meningkatkan enzim *phenylalanine ammonium lyase* (PAL) dan mensintesis enzim kitinase yang secara fungsional berfungsi dalam sifat ketahanan tanaman (Shaul *et al.* 2001).

Asam salisilat (SA) merupakan salah satu faktor utama hormonal yang menentukan nasib tanaman yang terkena kondisi stres. Secara alami SA ditemukan pada tanaman dan terbukti terlibat dalam pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Vlot *et al.* 2009). SA terlibat dalam aktifasi respon fisiologis, misalnya penutupan stomata dan pembungaan. Peran terpenting yang diketahui adalah sebagai sinyal dalam aktivasi respon pertahanan terhadap patogen. SA diinduksi setelah infeksi oleh patogen atau stres karena faktor biotik dan abiotik (Fragniere *et al.* 2011). SA beroperasi bersama dengan fitohormon yang lain seperti jasmonic acid atau etilen dan merupakan bagian dari sinyal yang sinergi untuk merespon terhadap satu kondisi tekanan dari faktor lingkungan. Fu *et al.* (2012), menjelaskan bahwa SA dan aspirin menginduksi ketahanan sistemik (SAR) yang ditunjukkan dengan akumulasi patogenesis yang terkait dengan (PR gen) pada tanaman.

Nematoda parasit tanaman *Meloidogyne* spp. merupakan penyebab puru akar pada tanaman. Gejala yang khas akibat serangan nematoda adalah terdapatnya puru pada akar. Gejala yang lebih parah akan menyebabkan tanaman kerdil, layu, dan akhirnya mati (Adegbite *et al*. 2005). Pada tanaman kenaf kerusakan akibat serangan nematoda bisa mencapai 60% karena tanaman kenaf yang terserang akan mengalami ganguan fisiologis yang mengakibatkan penurunan fungsi akar (Zhang & Noe 1999).

Salah satu cara pengendalian secara preventif terhadap infeksi nematoda yaitu dengan aplikasi rizobakteri. Aplikasi rizobakteri sangat menguntungan bagi tanaman karena selain memacu terbentuknya fitohormon juga berperan dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen. Rizobakteri mempengaruhi pertumbuhan tanaman dalam dua cara yang berbeda, yaitu secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung rizobakteri menyediakan tanaman dengan senyawa yang disintesis langsung oleh bakteri, misalnya fitohormon atau memfasilitasi penyerapan nutrisi tertentu dari lingkungan (Glick 1995). Pengaruh secara tidak langsung atau ketahanan terimbas sebagai pengaruh induksi ketahanan dicirikan dengan adanya akumulasi asam salisilat dan *pathogenesis related-protein* (PR-protein) (Chen *et al*. 2000). Akhtar (2012) menyatakan bahwa dengan aplikasi Rhizobakteri jenis *P. fluorescens* mampu meningkatkan panjang akar dan batang serta menghasilkan hormon sitokinin dalam perakaran tanaman.

Ketahanan tanaman dapat terjadi secara genetik maupun secara terinduksi. Ketahanan terinduksi dapat melalui proses SAR (*Systemic Aquired Resistance*) dan ISR (*Induced Systemic Resistance*). Baik SAR maupun ISR memiliki peranan yang sangat penting dalam peningkatan ketahanan tanaman. Vanloon (2001) menjelaskan bahwa ketahanan melalui SAR menyebabkan reaksi hipersensitif, yang terjadi setelah ada infeksi patogen. Tanaman yang terinfeksi kemudian mengaktifkan gen-gen yang berperan dalam ketahanan (PR gen). Asam salisilat (SA) berperan penting dalam aktivasi gen-gen yang mengendalikan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen dengan menginduksi protein yang terhubung dengan patogenesis yang berhubungan dengan anti patogen. Pada ketahanan yang terinduksi secara ISR, induksi ketahanan

terjadi bukan disebabkan oleh adanya infeksi patogen, tetapi adanya infeksi mikroba non patogenik. Dalam proses ISR aktivasi senyawa pertahanan tidak terhubung dengan peran gen-gen pertahanan dan senyawa-senyawa pertahanan yang terbentuk antara lain adalah asam jasmonat dan senyawa etilen (Pieters *el al.* 2009).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kemampuan rizobakteri dalam meningkatkan kandungan total fenol dan asam salisilat dalam menginduksi ketahanan tanaman kenaf terhadap penekanan infeksi nematoda puru akar.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di rumah kaca dan Laboratorium Fitopatologi Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas), Malang pada bulan Januari–Juni 2015.

Media tanam yang digunakan adalah tanah dan kompos dengan perbandingan (1:1). Tanah yang digunakan adalah tanah yang sudah disterilkan. Tanah dimasukkan pada pot tanam sekitar 5 kg yang akan ditanami satu benih tanaman kenaf

Rizobakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *P. fluorescens, B. subtilis,* dan *Azotobacter* sp., ketiga bakteri tersebut berasal dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Perbanyakan bakteri dilakukan pada media nutrient broth (NB) yang diinkubasikan dan *dishaker* dengan *incubator shaker* IKA KS 4000i dengan kecepatan 125 rpm selama 2 x 24 jam. Pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer ($OD_{600}$ = 1), OD: *Optical Dencity*. Setelah mendapatkan nilai $OD_{600}$ =1 dilakukan penghitungan konsentrasi kerapatan koloni bakteri $10^9$ cfu/ml (Burkett-Cadena *et al.* 2008).

Sumber inokulum menggunakan telur nematoda *Meloidogyne* spp. yang didapatkan dari kantung telur nematoda yang diektraksi dari akar kenaf. Kantong telur berasal dari nematoda betina. Nematoda betina selanjutnya diambil dan diperbanyak pada tanaman tomat dengan cara menginokulasi dengan satu nematoda betina. Selanjutnya tanaman dipeihara sampai 1 bulan atau sampai tanaman menunjukkan gejala puru akar. Setelah tanaman tomat bergejala puru akar selanjutnya dilakukan ekstrasksi telur nematoda dari akar tomat. Ekstraksi telur dilakukan dengan cara mencuci akar tomat sampai bersih, kemudian dipotong-potong sepanjang 1 cm dan dimasukkan ke dalam larutan 200 ml NaOCl 1,05%, nematoda yang terdapat di dalam akar dikeluarkan dengan cara mengocok botol secara manual selama 4 menit, kemudian cairan dalam botol dituang ke atas saringan uji yang bersusun 200 mesh, 300 mesh dan 400 mesh. Telur-telur pada saringan 300 mesh dan 400 mesh dimasukkan ke dalam air bersih. Kemudian disuspensikan di dalam air dan konsentrasinya disesuaikan untuk pengujian. Pengujian dilakukan dengan menghitung telur di bawah mikroskop dengan konsentrasi telur sebanyak 500 telur/20 ml suspensi.

Analisa kandungan total fenol dan asam salisilat dilakukan pada akar tanaman berumur 15 hari setelah tanam (HST) dan 25 HST dengan menggunakan spektrofotometer (Merck Spectroquant pharo 300). Analisa kandungan total fenol menggunakan metode folin-ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm (Paurmorad *el al.* 2006). Standar asam galad dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang akar tanaman kenaf sebanyak 0,2 gr kemudian ditambahkan 2 ml etanol 80%. Sampel yang sudah ditambah etanol diambil sebanyak 0,1 ml kemudian ditambah aquadest steril 1,2 ml kemudian dihomogenkan. Setelah itu ditambah dengan 0,1 ml reagen folin ciacalteau. Setelah didiamkan selama 5 menit dilakukan penambahan 0,4 ml $Na_2CO_3$ 20% dan diinkubasikan 30 menit. Sampel yang telah

melalui proses inkubasi siap dianalisis kandungan total fenol.

Analisa Asam salisilat dengan menggunakan metode Vijay *et al.* (2012) yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 278 nm. Larutan induk asam salisilat dibuat dengan konsentrasi 0,1 mg/ml dan selanjutnya digunakan untuk membuat larutan standart asam salisilat 0,001%. Pengukuran asam salisilat dilakukan dengan menimbang akar tanaman kenaf sebanyak 0,50 g yang dihaluskan dengan menambahkan klorofom. Setelah itu ditambahkan dengan aquadest hingga 100 ml. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 278 nm.

Hasil total fenol dan asam salisilat dihitung persentase kenaikannya dari pengamatan 15 HST dan 25 HST dengan rumus :

$$Peningkatan = \frac{a-b}{b} x100\%$$

Keterangan :
a= kandungan total fenol 25 HST
b= kandunga total fenol 15 HST

$$Peningkatan = \frac{c-d}{d} x100\%$$

Keterangan :
c= kandungan asam salisilat 25 HST
d=kandungan asam salisilat 15

Dari hasil analisa total fenol dan asam salisilat, maka kita bisa menghubungan keduanya dengan intensitas penyakit dengan menggunakan analisa regresi. Analisis regresi digunakan sebagai kajian terhadap dua variabel. Variabel yang pertama disebut sebagai variabel tergantung (Intensitas Penyakit) dan variabel kedua disebut variabel bebas (kadar total fenol dan asam salisilat). Penghitungan intensitas peyakit dengan rumus

$$I = \frac{\Sigma(n \times v)}{N \times Z} \text{ x100\%}$$

Keterangan :
I: intensitas penyakit (%)
N: Jumlah tanaman untuk setiap tingkat kerusakan (skor) pada nilai skoring (berdasarkan skor yang ditentukan oleh Coyne *el al.* 2007)
V: Harga numerik dari setiap skor
Z: Nilai tingkat kerusakan tertinggi
N: Jumlah sampel yang diamati

Pengujian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah aplikasi rhizobakteri yaitu dengan perendaman (C1) dan tanpa perendaman (C2). Faktor kedua pemberian Rizobakteri: dilakukan secara tunggal dan gabungan (konsorsium). Perlakuan perendaman dengan merendam benih kenaf ke dalam suspensi rizobakteri selama 5 jam, kemudian benih kenaf ditanam pada pot tanam berdiameter 30 cm yang berisi media tanah steril, sedangkan perlakuan tanpa perendaman (kontrol) adalah benih langsung dalam pot. Aplikasi rizobakteri selanjutnya dilakukan pada 10 dan 20 hari setelah tanam dengan menyiramkan suspensi sebanyak 20 ml per tanaman. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali, satu unit perlakuan terdiri dari 3 pot.

Pengamatan distribusi bahan kering meliputi akar dan batang tanaman diamati pada tanaman berumur 60 hari. Pengambilan sampel destruktif dilakukan dengan mencabut tanaman pada masing-masing perlakuan. Masing-masing bagian batang dan akar dipisahkan kemudian dioven pada suhu 70 derajat Celcius sampai berat konstan

Data hasil pengamatan dianalisa dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) berdasarkan model RAK faktorial. Apabila hasil analisis ragam menunjukkan beda nyata maka data kemudian diuji lanjut menggunakan BNT.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa total fenol pada pengamatan umur 15 hari dan 25 hari menunjukkan adanya perbedaan nyata (Tabel 1). Rata-rata total fenol menunjukkan kenaikan dari penga-

Tabel 1. Rata-rata total fenol 15 HST dan 25 HST pada akar tanaman kenaf

| Perlakuan | Total Fenol (mg/g) | | Peningkatan total fenol (%) |
|---|---|---|---|
| | 15 HST | 25 HST | |
| *P. fluorescens* (Pf) (C1) | 0,116 fg | 0,731 b | 513,130 a |
| *B. subtilis* (Bs) (C1) | 0,190 b | 0,439 f | 131,363 e |
| *Azotobacter* sp. (Az) (C1) | 0,221 a | 0,485 e | 119,806 e |
| Pf + Bs (C1) | 0,140 cd | 0,614 c | 341,126 c |
| Pf + Az (C1) | 0,150 c | 0,765 ab | 408,724 b |
| Bs + Az (C1) | 0,181 b | 0,787 a | 335,039 c |
| Pf + Bs + Az (C1) | 0,149 c | 0,554 d | 272,203 d |
| *P. fluorescens* (Pf) (C2) | 0,113 f | 0,542 d | 381,957 bc |
| *B. subtilis* (Bs) (C2) | 0,139 cd | 0,329 h | 137,324 e |
| *Azotobacter* sp (Az) (C2) | 0,137 ed | 0,395 g | 162,197 e |
| Pf + Bs (C2) | 0,169 ef | 0,383 h | 145,881 e |
| Pf + Az (C2) | 0,144 cd | 0,466 ef | 223,379 d |
| Bs + Az (C2) | 0,098 h | 0,472 ef | 383,792 bc |
| Pf + Bs + Az (C2) | 0,118 fg | 0,399 ef | 237,871 d |
| Kontrol | 0,090 h | 0,121 i | 34,089 k |
| KK | 4,18 | 4,38 | |

Keterangan: Bilangan yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak nyata pada uji BNT 5%, C1: perlakuan perendaman benih; C2: perlakuan tanpa perendaman benih.

matan pada 15 HST dan 25 HST. Pada umumnya kandungan total pada 15 HST dan 25 HST meningkat tetapi ada perbedaan persentase peningkatannya. Kenaikan kandungan total fenol tertinggi terjadi pada perlakuan perendaman benih dengan *P. fluorescens* yaitu sebesar 513,130% dan persantase terendah pada kontrol yaitu 34,089%.

Rata-rata hasil analisis asam salisilat pada 15 HST dan 25 HST disajikan pada Tabel 2. Rata-rata asam salisilat menunjukkan kenaikan dari pengamatan pada 15 HST dan 25 HST. Ada perbedaan peningkatan kandungan asam salisilat pada 15 HST dan 25 HST. Kenaikan kandungan asam salisilat dengan persentase kenaikan tertinggi dengan perlakuan perendaman benih dengan *P. fluorescens* yaitu sebesar 236,344% dan terendah pada kontrol dengan kenaikan sebesar 38,541%.

Aplikasi rizobakteri baik tunggal maupun konsorsium mempengaruhi kandungan total fenol dan asam salisilat pada 15 dan 25 HST. Persentase peningkatkan kandungan total fenol dan asam salisilat dengan perlakuan aplikasi rizobakteri signifikan bila dibandingkan dengan kontrol. Persentase kenaikan total fenol dan asam salisilat tertinggi terjadi pada aplikasi perendaman benih kenaf dengan bakteri *P. fluorescens.* Peningkatan metabolit sekunder seperti fenol dan asam salisilat akibat aplikasi rizobakteri memberikan dampak positif terhadap tanaman baik langsung maupun tidak langsung. Reaksi yang positif diantaranya sebagai penyedia hormon bagi tanaman, produksi antibiotik yang akan berdampak negatif terhadap patogen di daerah perakaran. Hasil penelitian Anita *et al.* (2004) menyebutkan bahwa terjadi akumulasi senyawa fenol setelah tanaman diinokulasi dengan bakteri *P. fluorescens* yang mana bakteri tersebut bisa dikategorikan sebagai agensia biokontrol untuk *M. incognita.* Metabolit sekunder yang terbentuk akibat sinergisme antara rizobakteria dimanfaatkan tanaman dalam beberapa mekanisme dalam pertumbuhan dan ketahanan terhadap patogen. Verma *et al*. (2010) menjelaskan bahwa PGPR memberikan efek yang menguntungkan baik secara langsung atau tidak langsung pada tanaman, sebagai pemacu pertumbuhan dan perlindungan tanaman dari patogen melalui aktivitas di daerah perakaran tanaman. Aktivitas tersebut meliputi penyediaan unsur NPK, hormon pertumbuhan, produksi antibiotik yang dapat berpengaruh negatif terhadap patogen.

Tabel 2. Rata-rata asam salisilat 15 HST dan 25 HST pada akar tanaman kenaf

| Perlakuan | Total Asam salisilat mg/g | | Peningkatan total Asam salisilat (%) |
|---|---|---|---|
| | 15 HST | 25 HST | |
| Kontrol | 0,162 j | 0,224 o | 38,514 i |
| *P. fluorescens* (Pf) (C1) | 0,414 cd | 1,391 a | 236,344 a |
| *B. subtilis* (Bs) (C1) | 0,413 cd | 0,901 g | 117,993 fg |
| *Azotobacter* sp. (Az) (C1) | 0,432 b | 0,908 f | 110,201 g |
| Pf + Bs (C1) | 0,392 e | 1,119 e | 185,262 c |
| Pf + Az (C1) | 0,422 bc | 1,221 b | 189,566 c |
| Bs + Az (C1) | 0,367 f | 1,155 c | 214,909 b |
| Pf + Bs + Az (C1) | 0,478 a | 1,132 d | 136,725 e |
| *P. fluorescens* (Pf) (C2) | 0,322 g | 0,693 k | 115,017 fg |
| *B. subtilis* (Bs) (C2) | 0,402 de | 0,736 i | 83,024 h |
| *Azotobacter* sp (Az) (C2) | 0,311 gh | 0,665 n | 114,132 fg |
| Pf + Bs (C2) | 0,365 f | 0,703 j | 92,396 h |
| Pf + Az (C2) | 0,305 h | 0,672 m | 120,987 f |
| Bs + Az (C2) | 0,260 i | 0,682 l | 161,912 d |
| Pf + Bs + Az (C2) | 0,403 ed | 0,880 h | 118,305 fg |
| KK | 2,59 | 0.39 | |

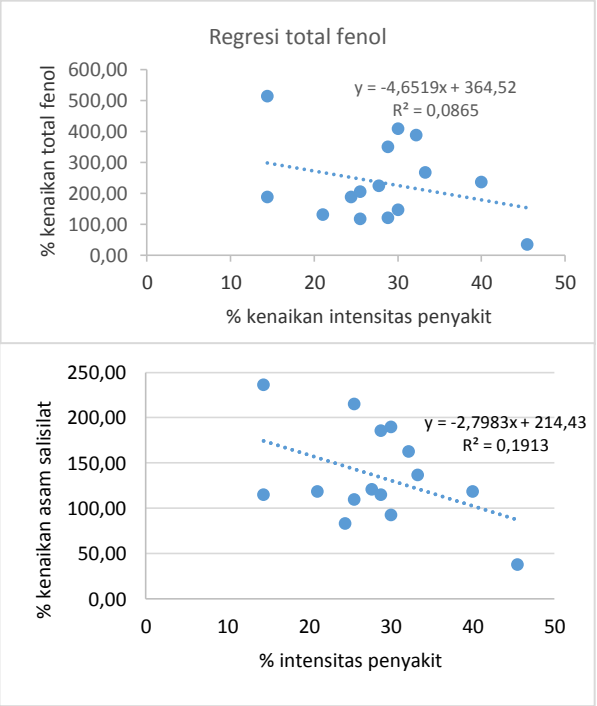
Keterangan: Bilangan yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak nyata pada uji BNT 5%, C1: perlakuan perendaman benih; C2: perlakuan tanpa perendaman benih.

Perbedaan nyata pada persentase kenaikan total fenol dan asam salisilat terjadi pada perlakuan bakteri *P. fluorescens* yang diaplikasikan dengan cara perendaman benih. Kemungkinan hal tersebut terjadi dikarenakan bahwa bakteri *P. fluorescens* lebih cepat beradaptasi di daerah perakaran. Perlakuan perendaman benih bertujuan untuk meningkatkan vigor benih dan peningkatan daya berkecambah benih kenaf, sehingga diharapkan mempercepat pertumbuhan tanaman. Pertumbuhan yang cepat dan optimal diharapkan akan lebih peka terhadap serangan patogen. Ramamoorthy *et al*. (2001) menyatakan bahwa aplikasi rizobakteri pada benih akan menyebabkan reaksi pada dinding sel tanaman, dinding sel akan memodifikasi srtuktur dan biokimia yang akan digunakan dalam sintesa protein dan bahan kimia lainnya yang akan dimanfaatkan dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen.

## Hubungan antara peningkatan kadar total fenol dan asam salisilat terhadap intensitas penyakit

Intensitas penyakit yang ditimbulkan oleh patogen (nematoda) dinyatakan dalam kejadian penyakit atau keparahan penyakit. Intensitas penyakit yang disebabkan oleh nematoda bisa dilihat dari terbentuknya *gall* atau puru yang terjadi pada akar. Rata-rata intensitas penyakit dan peningkatan total fenol dan asam salisilat disajikan pada Tabel 3.

Grafik regresi pengaruh antara intensitas penyakit dan kadar total fenol dan asam salisilat disajikan pada Gambar 1.




Gambar 1. Hubungan antara kadar total fenol dan asam salisilat terhadap intensitas penyakit

Analisa regresi pada Gambar 1 menunjukkan bahwa persentase kenaikan total fenol dan asam salisilat berkorelasi negatif secara

Tabel 3. Rata-rata intensitas penyakit dan peningkatan total fenol dan asam salisilat

| Perlakuan | Peningkatan | | Intensitas Penyakit (%) |
|---|---|---|---|
| | Total Fenol | Asam Salisilat | |
| *P. fluorescens* (Pf) (C1) | 513,130 a | 236,344 a | 14,4 |
| *B. subtilis* (Bs) (C1) | 131,363 e | 117,993 fg | 21,0 |
| *Azotobacter* sp. (Az) (C1) | 119,806 e | 110,201 g | 25,5 |
| Pf + Bs (C1) | 341,126 c | 185,262 c | 28,8 |
| Pf + Az (C1) | 408,724 b | 189,566 c | 30 |
| Bs + Az (C1) | 335,039 c | 214,909 b | 25,5 |
| Pf + Bs + Az (C1) | 272,203 d | 136,725 e | 33,3 |
| *P. fluorescens* (Pf) (C2) | 381,957 bc | 115,017 fg | 14,4 |
| *B. subtilis* (Bs) (C2) | 137,324 e | 83,024 h | 24,4 |
| *Azotobacter* sp (Az) (C2) | 162,197 e | 114,132 fg | 28,8 |
| Pf + Bs (C2) | 145,881 e | 92,396 h | 30 |
| Pf + Az (C2) | 223,379 d | 120,987 f | 27,7 |
| Bs + Az (C2) | 383,792 bc | 161,912 d | 32,2 |
| Pf + Bs + Az (C2) | 237,871 d | 118,305 fg | 36,66 |
| Kontrol | 34,089 k | 38,514 i | 45,5 |

Keterangan = Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%, C1 = perlakuan perendaman benih; C2 = perlakuan tanpa perendaman benih.

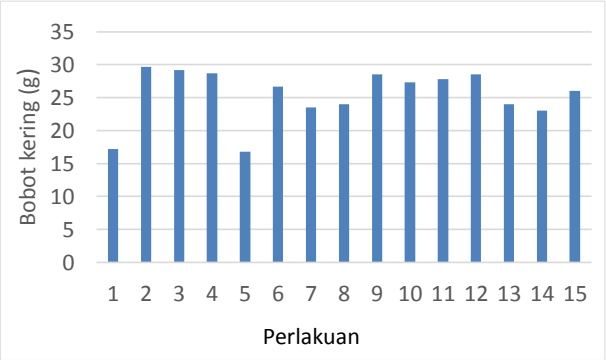
linier terhadap intensitas penyakit puru akar pada tanaman kenaf. Setiap peningkatan pesentase total fenol 5% akan menurunkan intensitas penyakit sebesar 4,6519% dengan mengikuti persamaan Y= -4,6519x + 364,52; $R^2$ = 0,0865* (nyata). Hal yang sama juga terjadi pada kenaikan asam salisilat, bahwa dengan adanya persentase kenaikan asam salisilat berkorelasi negatif dengan persentase intensitas penyakit. Setiap kenaikan persentase asam salisilat 5% akan menurunkan intensitas penyakit 2,7983% dengan mengikuti persamaan Y = -2,7983x + 214,43; $R^2$ = 0,1913*(nyata).

Hasil percobaan menunjukkan bahwa persentase kenaikan total fenol dan asam salisilat dengan aplikasi rizobakteri satu dengan yang lain berbeda, sehingga juga mempengaruhi intensitas penyakit yang disebabkan oleh nematoda. Aktifitas metabolit sekunder diantaranya kandungan fenol dan asam salisilat merupakan salah satu indikator bahwa tanaman terjadi induksi ketahanan secara sistemik. Pada perlakuan kontrol persentase kandungan fenol dan asam salisilat lebih kecil daripada perlakuan rizobakteri sehingga mempengaruhi intensitas penyakit yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan rizobakteria. Hasil penelitian Widnyana *et al.* (2013) menyatakan bahwa kandungan total fenol 0,8% akan mempengaruhi penekanan penyakit hingga 100%, dan juga kandungan asam salisilat sebanyak 47,2% akan mempengaruhi ketahanan tanaman, disebutkan bahwa apabila kandungan asam salisilat bisa mencapai 1% maka peluang persentase penyakit yang tejadi sekitar 10,2%. De Meyer & Hofte (1997), menyatakan bahwa asam salisilat merupakan metabolit sekunder yang dimanfaatkan tanaman untuk ketahanan terhadap patogen. Kawano & Bouteau (2013), menyatakan bahwa asam salisilat secara alami ditemukan pada tanaman dan terbukti terlibat dalam sistem yang berhubungan dengan pertahanan terhadap infeksi patogen. Ketahanan tanaman terhadap serangan patogen ditentukan oleh dua faktor, dari tanaman itu sendiri maupun dari lingkungan. Beberapa respon pertahanan biokimia pada tanaman terhadap patogen adalah terbentuknya senyawa fenol dan asam salisilat. Lattanzio *et al.* (2006) menyatakan bahwa senyawa fenol pada tanaman merupakan hasil dari metabolit sekunder. Senyawa ini digunakan untuk pigmentasi, pertumbuhan, reproduksi dan ketahanan tanaman terhadap patogen. Harni *et al.* (2012) menyatakan bahwa aktivitas fenol merupakan satu dari beberapa mekanisme tanaman untuk menghindar dari infeksi nematoda.

Salah satu pengedalian tanaman terhadap nematoda patogen yang ramah lingkungan adalah dengan pemanfaatan agensia hayati. Mekanisme rizobakteri dalam pengendalian nematoda parasasit antara lain dengan menginduksi ketahanan tanaman. Induksi ketahanan tanaman terjadi akibat adanya perubahan metabolit pada tanaman. Indikator induksi ketahanan bisa dilihat melalui peningkatan asam salisilat, fitoaleksin, peroksidase, PR protein, serta senyawa fenolik (Tian *et al*. 2007).

## Hubungan aplikasi Rhizobacteria terhadap bobot kering tanaman

Penyajian data bobot kering tanaman disajikan dalam grafik batang (bar) dengan menampilkan semua perlakuan pada Gambar 2. Perlakuan dengan rizobakteri meningkatkan bobot kering pada tanaman yang diperlakukan dengan rizobakteri. Perlakuan perendaman benih dan tanpa perendaman benih memberikan pengaruh peningkatan bobot kering yang hampir sama. Bobot kering tertinggi terlihat pada perlakuan *P. fluorescens* (Pf) (C1) sebesar 29,7 g dan bobot kering terendah terlihat pada perlakuan kontrol sebesar 17,2 g.




Gambar 2. Bobot kering tanaman kenaf. (1) Kontrol; (2) *P. fluorescens* (Pf) (C1); (3) *B. subtilis* (Bs) (C1) (C1); (4) *Azotobacter* sp (Az) (C1); (5) Pf + Bs (C1); (6) Pf + Az (C1); (7) Bs + Az (C1); (8) Pf + Bs + Az (C1); (9) *P. fluorescens* (Pf) (C2); (10) *B. subtilis* (Bs) (C2); (11) *Azotobacter* sp (Az) (C2); (12) Pf + Bs (C2); (13) Pf + Az (C2); (14) Bs + Az (C2) (15) Pf + Bs + Az (C2); C1 perlakuan perendaman benih; C2: perlakuan tanpa perendaman benih.

Aplikasi rizobakteri dapat berpengaruh dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, dengan merangsang hormon pertumbuhan. Hasil penelitian Nasaruddin (2012) menyatakan bahwa penggunaan rizobakteri *A. chroococcum* dapat memperbaiki perkembangan akar pada bibit kakao serta berpengaruh secara linier terhadap jumlah daun, luas daun, tinggi tanaman, serta bobot segar dan bobot kering tanaman.

Secara mandiri jenis rhizobakteri berpengaruh secara nyata terhadap berat kering tanaman. Terlihat pada perlakuan tunggal rizobakteri baik secara perendaman dan tanpa perendaman benih menunjukkan bobot kering yang lebih tinggi dibandingkan aplikasi bakteri secara konsorsium. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Mia *et al,* (2009) yang menyatakan bahwa pemberian *B. subtilis* tanpa penambahan pupuk N yang dilakukan pada tanaman hidroponik bisa meningkatkan berat kering akar tanaman dibandingkan dengan kontrol hingga 22,3%.

Pengaruh yang ditimbulkan oleh bakteri yang berperan sebagai rizobakteri ialah dengan memproduksi *indole-3-acetic acid* (IAA), giberelin dan sitokinin (Bottini *et al.* 2004). Jumlah proporsi yang besar mencapai 80% dari bakteri pengkoloni akar positif menghasilkan IAA (Loper & Schroth, 1986). Substansi yang diproduksi oleh bakteri seperti auxin (IAA) merupakan hasil aktifitas dari bakteri dengan strain *B. subtilis, B. amyloliquefaciens*. Bakteri juga memproduksi triptopan yang telah diidentifikasi merupakan molekul perkusor yang mensistesis IAA, yang mana IAA berperan dalam mengontrol beragam kegunaan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, serta bertindak sebagai komponen kunci dalam arsitektur akar tanaman, membentuk seperti akar vaskuler, diferensiasi jaringan pembuluh akar, inisiasi pengaturan akar lateral, grafitropisme akar (gerak akar mengikuti grafitasi) serta memposisikan rambut akar yang bersifat polar (Aloni *et al.* 2006).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukan bahwa aplikasi rizobakteri *P. fluorescens, B. subtilis* dan *Azotobacter* sp. secara tunggal dan konsorsium mampu meningkatkan kandungan total fenol dan asam salisilat secara signifikan. Peningkatan kandungan total fenol dan asam salisilat tertinggi ditunjukkan oleh aplikasi bakteri *P. fluorescens* yang direndam pada benih kenaf, masing-masing sebesar 513,45% dan 235,99%. Peningkatan total fenol dan asam salisilat juga mempengaruhi penurunan intensitas penyakit puru akar. Selain sebagai salah satu alternatif pengendalian nematoda yang ramah lingkungan, aplikasi rizobakteri juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman salah satunya peningkatan bobot keringnya.

## UCAPAN TERIMAKSIH

Penulis mengucapkan terimaksih kepada Istaniyah Huda atas bantuanya dalam pelaksanaan penelitian, terutama dalam analisa kimianya. Kepada seluruh penelaah yang memberikan masukan dan sarannya untuk kesempurnaan makalah ini kami sampaikan terimakasih.

## DAFTAR PUSTAKA

Agrios, G.N 2005, Plant Pathology, Fifth Edition. Academic Press. New York. 948 p.

Adegbite, GO, Agbaje, MO, Akande, NA, Adetumbi AJ & Adeyeye OO 2005, Expression of Resistance to *Meloidogyne incognita* in conditions. *World Journal of Agricultural Science* 1(1):14–17.

Akhtar, A, Hisamuddin, MI, Robab, Abbasi and Sharf R 2012, Plant Growth Promoting Rhizobacteria: An Overview. *Journal of Natural Product and Plant Resources,* 2(1):19–31.

Aloni, R., Aloni, E, Langhans, M & Ullrich, CI, 2006, Role of cytokinin and Auxin in Shaping root Architecture: Regulating Vassculer Differentiation, Lateral Root Initiation, Root Apical Dominance and Root Gravitropism. *Annals of Botany,* 97:883–893.

Anita, B, Rajendran, G & Samiyappan, R 2004, . Induction of systemic resistance in tomato against root-knot nematode, meloidogwe incognita by *Pseudomonas fluorescens*. *Nematologia Mediterranea,* 32:47-51.

Burkett-Cadena, M, Kokalis-burelle, N, Lawrence, KS, Santen EV & Kloepper, JW 2008, Suppessiveness of Root-knot Nematodes Mediated by Rhizobacteria. *Journal of Biological Control,* 47:55-59.

Bottini, RS, F Cassan & Picolli, P 2004, Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology,* 65:497–503.

Chen, C, Belanger RR, Benhamou, N & Paulitz TC, 2000, Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and Pythium aphanidermantum, *Physiological and Molecular Plant Pathology,* 56:13–23.

Coyne, DL, Nicol, JM & Claudius-cole B 2007, Practical Plant Nematology: A Field and Laboratory Guide. International Institute of Tropical Agriculture. 93p

De Meyer & Hofte 1997, Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology*, 87:588–593.

Fragniere, C, Serrano, M, Abou-Mansour, E, Metraux, JP, L'Haridon, F 2011, Salicylic acid and its location in response to biotic and abiotic stress. *FEBS Lett*, 585:1847–1852

Fu, ZQ, Yan, S, Saleh, A, Wang, W, Ruble, J, Oka, N, Mohan, R, Spoel, SH, Tada, Y, Zheng, N 2012, NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature*, 486:228–232.

Glick, BR 1995, The enhancement of plant growth by free-living bacteria, *Canadian Journal of Microbiology,* 41:109–117.

Harni, R, Supramana, MS, Giyanto, S & Supriadi 2012, Mekanisme bakteri endofit mengendalikan nematoda *Pratylenchus brachyrus* pada tanaman nilam. *Buletin Tanaman Rempah dan Obat,* 23 (1):102–114.

Kawano, T, Bouteau, F 2013, Crosstalk between intracellular and extracellular salicylic acid

signaling events leading to long-distance spread of signals, *Plant Cell Reports*, 32: 1125–1138.

Lattanzio, V, Lattanzio VMT & Cardinalia A 2006, Role of phenolics in the resistance mechanism of plant against fungal pathogens and insect. phytochemistry: Advance in Research. *Research Signpost,* 23–67.

Luna, E, Toby, JAB, Roberts, MR, Flors V & Ton, J, 2012, Next-generation systemic acquired resistance, *Plant Physyology* 158:844-853.

Loper, JE & Schroth, MN, 1986, Influence of Bacteria sources of indol-3-acetic acid biosynthetic on root ellongation of sugar beet. *Journal of Phytopathology*, 76:386–389.

Mia, M, Baset, A, Shamsuddin, ZH, Wahab, Z & Marziah, M 2009, The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue cultured banana plantlets under low N-fertilizer regime. *African Journal of Biotechnology*, 8(21):5855–5866

Nasaruddin 2012, Respon pertumbuhan bibit kakao terhadap inokulasi azotobacter dan mikoriza, *Jurnal Agrivigor* 11(2):300–315.

Ohri, P, Pannu, SK 2010, Effect of phenolic compounds on nematodes-A review. *Journal of Applied & Natural Science,* 2:344–50.

Pourmorad, F, Hossenimehr, SJ, Shahabimajd, N 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicial plants. *African Journal of Biotechnology,* 5(11):1142–1145.

Pieterse, CMJ, Lenon Rayes, A, Van der Ent, S & Van Wees, SCM 2009, Networking by Small-molecule hormones in plant immunity, *Nature Chemical Biology,* 5:305–316.

Ramamoorthy V, Viswanathan, R, Raguchander, T, Prakasam, V & Samiyappan, R 2001, Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plant againts pest and diseases, *Crop Protection,* 20:73-79.

Sikora, RA, Schafer K & Dababat, AA 2007, Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant-parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology*, 36: 124–134.

Shaul, O, David, R, Sinvani, G, Ginzberg, Ganon, D, Wininger, S, Badani, H, Ovdat, N & Kapulnik, Y 2001, Plant defence response during arbuscular mycorriza symbiosis. Current advances in mycorrhizae research. The American Phytopathological Society St Paul Minnesota. p.61–68.

Tian, B, Yamg, J & Zhang, K 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbial Ecology* 61:197–213.

Vlot, AC, Demsay, DM & Klessing, DF 2009, Salicylic Acid, a multifaceted hormone to combat disease, *Annual Review of Phytopathology*, 47:177–206.

Vanloon, LC, 2001, Systemic induced resistance. Kluwer Academic Publisher, USA. 521–574.

Vijay, D, Godavariya, B, Prajapati, Pintu, P, Bhavin, Marolia & Sailesh, AS 2012, Development rovustatin calcium and aspirin in marketed formulation, *International Research Journal of Pharmacy*, 3(8):173-175.

Verma, JP, Yadav, J, Tiwari, KN, Lavakush & Singh, V 2010, Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production. *International Journal of Agricultural Research,* 5(11):954–983.

Widnyana, IK, Suprapta DN, Sudana, IM, Temaja, IGRM, 2011, Pseudomonas alcaligenes, potential antagonist against *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersicum* the cause of fusarium wilt disease on tomato. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 3 (7):163–169.

Zhang, F & Noe, JP 1999, Damage potential and reproduction of *Meloidogyne incognita* Race 3 and *M. arenaria* Race 1 on Kenaf. *Journal of Nematology,* 28(4S):668–675.