

AKTIFITAS ACTINOMYCETES ENDOFIT SEBAGAI BIONEMATISIDA TERHADAP *MELOIDOGYNE JAVANICA*

Activity of Endophytic Actinomycetes as Bionematicide against Meloidogyne javanica

Oleh: Dwi Ratna Anugrahwati¹

ABSTRAK

Peranan actinomycetes endofit sebagai agen pengendali hayati telah banyak diketahui, terutama dalam menghambat jamur patogen tanaman, tetapi perannya dalam menekan infestasi nematode masih sedikit diketahui. Tujuan penelitian ini untuk mengamati potensi actinomycetes endofit dalam menghambat nematoda parasit tanaman *Meloidogyne javanica*. Ekstrak methanol dari 42 strain actinomycetes endofit diuji secara *in vitro* untuk mengamati efeknya sebagai nematisida pada *root-knot nematode* (Nematoda puru akar) *M. javanica*. Metabolit dari 84% strain-strain yang diuji secara signifikan menurunkan motilitas nematoda, sedangkan 21% menyebabkan kematian juvenile. Metabolit dari *Streptomyces somaliensis* PM143 dan *Streptomyces peruviansis* EN26 menunjukkan efek *nematostatic* tertinggi dengan tingkat penurunan motilitas *M. javanica* yang signifikan, berturut-turut 54% dan 44%. Evaluasi selanjutnya dilakukan *in planta* untuk menguji aktifitas nematisida dari 8 strain terpilih representasi dari berbagai tingkat aktifitas nematisida secara *in vitro* pada tanaman mentimun (*Cucumis sativus* L.) sebagai *crop model*. Walaupun jumlah nematode yang memasuki system perakaran tidak terpengaruhi, tetapi *S. somaliensis* PM143 dan *S. peruviansis* EN26, juga *S. somaliensis* PM349 mampu menghambat perkembangan stadia nematode dan menurunkan jumlah puru akar (*root galls*) pada tanaman mentimun.

Kata kunci: aktifitas nematisida, actinomycetes endofit, *Meloidogyne javanica*.

ABSTRACT

The role of endophytic actinomycetes as biocontrol agents has been studied, especially in inhibiting fungal plant pathogens. However, little is known on their role in suppressing nematode infestation. Therefore, the main aim of this study was to observe the potential of endophytic actinomycetes in suppressing plant-parasitic nematodes Meloidogyne javanica. Methanol extracts of 42 strains of endophytic actinomycetes were screened in vitro to determine their nematicidal effects on the root-knot nematode M. javanica. Metabolites from 84% of the strains tested significantly reduced the motility of nematodes, while 21% caused juvenile mortality. Metabolites of Streptomyces somaliensis PM143 and Streptomyces peruviansis EN26 showed the highest nematostatic effect in vitro, with a significant reduction in motility of M. javanica by 54% and 44%, respectively. Further evaluation was carried out in planta to test the nematicidal activity of eight strains representing various level of nematicidal activity in vitro using cucumber (Cucumis sativus L.) as crop model. Even though the number of nematodes invading the root system was not affected, S. somaliensis PM143 and S. peruviansis EN26, as well as S. somaliensis PM349, were able to inhibit nematode growth and reduce the number of root galls in cucumber plants.

Keywords: nematicidal activity, endophytic actinomycetes, Meloidogyne javanica.

¹PS Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Mataram

PENDAHULUAN

Nematoda parasit tanaman dikenal sebagai pengganggu utama berbagai tanaman penting yang penyebarannya luas dan dikenal sebagai pengganggu yang paling sulit diidentifikasi, didiagnosa dan dikontrol (Whitehead, 1997). Nematoda ini menyebabkan hilangnya hasil lebih dari 2 milyar dollar per tahun di seluruh dunia (Stirling, 1991). Sebagian besar nematoda parasite tanaman, diantaranya nematoda puru akar (*root-knot nematode*) menyerang bagian tanaman di bawah permukaan tanah, merusak jaringan akar dan mempengaruhi kemampuan transport air dan penyerapan hara, yang akhirnya menyebabkan tanaman mengalami stress air dan defisiensi hara (Whitehead, 1997).

Pengendalian nematoda pada tanaman pertanian selama ini dilakukan melalui aplikasi langsung dari nematisida kimiawi pada tanah. Metode ini telah banyak dikritik karena fumigasi tanah menyebabkan kontaminasi pada air tanah (Calvet *et al.*, 2001). Polusi air tanah dan toksisitas yang tinggi dari nematisida kimiawi dan kenyataan bahwa nematisida ini tidak ekonomis bagi banyak tanaman menyebabkan penghentian pemasaran beberapa nematisida di negara-negara berkembang (Aksoy dan Menan, 2004). Hal tersebut yang mendorong berkembangnya perhatian orang pada metode pengendalian alternatif yang aman dan efisien.

Selama beberapa dekade terakhir, berbagai penelitian dilakukan untuk mengamati potensi mikroorganisme sebagai agen pengendali hayati

terhadap berbagai organisme patogen tanaman, tetapi masih sedikit perhatian pada potensinya terhadap nematoda parasit tanaman. Penggunaan mikroorganisme sebagai agen pengendali hayati berbagai hama dan penyakit tanaman disebabkan terutama karena kemampuannya memproduksi metabolit seperti antibiotik, kolonisasinya pada rhizosphere tanaman dan induksi resistensi sistemik pada tanaman (Handelsmann dan Stabb, 1996; Kerry, 2000).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beberapa rhizobacteria seperti *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. dan *Agrobacterium* spp. yang dikenal mempunyai aktifitas antagonis terhadap berbagai penyakit juga menunjukkan aktifitas nematisida dengan menekan infeksi nematoda dan mengurangi populasi nematoda pada kondisi *glass house* dan di lapang (Kerry, 2000; Siddiqui *et al.*, 2000; Sturz dan Kimpinsky, 2004). Sementara itu, beberapa jamur juga menunjukkan aktifitas nematisida (Anke *et al.*, 1995; Hallman dan Sikora, 1996; Sharon *et al.*, 2001) melalui kolonisasinya pada telur, juvenile dan nematoda dewasa (Kerry, 2000) dan produksi metabolit yang bersifat nematisida (Mayer *et al.*, 1999; Khambay *et al.*, 2000 dan Nitao *et al.*, 2002).

Actinomycetes dikenal memiliki potensi yang sangat baik sebagai agen pengendali hayati dalam pertanian terutama disebabkan kemampuannya mengkolonisasi niche yang sama dengan patogen di dalam jaringan tanaman dan memproduksi metabolit dengan aktifitas anti jamur dan nematisida. Penggunaan actinomycetes sebagai agen pengendali hayati juga karena kemampuannya menghasilkan metabolit sekunder yang secara langsung mempengaruhi patogen atau menginduksi system pertahanan tanaman (Coombs *et al.*, 2004).

Penggunaan actinomycetes endofit sebagai agen pengendali hayati mempunyai keuntungan yaitu kemampuannya untuk menghindari persaingan dengan sebagian besar mikroorganisme tanah dan rhizosphere, karena actinomycetes ini hidup di dalam jaringan akar tanaman (Coombs dan Franco, 2003). Keberadaannya di dalam jaringan hidup tanaman selama pertumbuhan tanaman memungkinkan induksi resistensi sistemik yang dapat memberikan perlindungan tanaman lebih baik (Sturz *et al.*, 2000; Siddiqui and Shaukat, 2002).

METODE PENELITIAN

MATERIAL:

Actinomycetes endofit

Actinomycetes endofit yang digunakan dipilih dari koleksi kultur di Departemen Biotechnology, Flinders University, South Australia representasi dari berbagai

spesies yang ada (Tabel 1). Sub kultur dilakukan pada media agar mannitol soy (MS) atau ½ potato dextrose agar (PDA), diinkubasi pada 27°C selama 2 minggu.

Inokulum Nematoda

Nematoda puru akar (RKN) *Meloidogyne javanica* dipelihara dengan menginkubasikan 500 juvenile pada bibit tanaman tomat berumur 2 minggu di pot, kemudian tanaman terinfeksi ditumbuhkan sampai 6 minggu untuk diambil telurnya. Pengumpulan telur *M. javanica* mengikuti metode yang dilakukan oleh Hussey dan Barker (1973). Akar tomat terinfeksi dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dikocok dengan kuat dalam larutan 1% sodium hypochlorite (NaOCl). Larutan ini kemudian disaring melalui 3 tingkat ayakan (ukuran 250 µm, 90 µm dan 20 µm). Telur yang terkumpul pada ayakan 20 µm dibilas bersih dengan air, kemudian diinkubasi dalam petridish pada 25°C sampai menetas. Juvenile dikumpulkan dan disesuaikan menurut kerapatan populasi yang diperlukan dalam uji *in vitro* dan *in planta*.

In Vitro:

Ekstraksi metabolit actinomycetes endofit.

Kultur actinomycetes ditumbuhkan selama 10 hari pada agar yeast malt extract (YME) suhu 27°C. Agar berisi kultur ini kemudian dipotong kecil-kecil, dimasukkan tube falcon, diekstrak dengan methanol dikocok selama 30 menit pada shaker. Ekstrak disaring melalui Whatman no.1, kemudian filtrat di kering vacuum menggunakan Lab Conco selama 3 jam untuk menghilangkan methanol dan dikering bekukan (*freeze-dried*) semalam. Agar tanpa kultur juga diperlakukan sama dan digunakan sebagai kontrol. Ekstrak powder kemudian ditimbang dan disimpan pada -20°C sampai digunakan.

Nematicidal assay (*in vitro*). Assay ini dilakukan untuk melihat aktifitas filtrat kultur dari actinomycetes endofit terpilih melawan juvenile *M. javanica*. Bioassay dilakukan menggunakan 24 multiwell dishes (Nunc™) dengan menambahkan 200 µl suspensi berisi 3 mg ekstrak powder, ditambahkan 200 µl streptomycin sulfat (3 mg/ml) berisi 30-40 juvenil per perlakuan, dengan 3 ulangan, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25°C. Aktifitas nematisida diamati berdasarkan persentase keaktifan (motilitas) dan kematian (mortalitas) juvenile menggunakan *inverted microscope*. Juvenil dianggap tidak motil jika tidak bergerak ketika disentuh dengan jarum. Nematoda dikatakan mati jika tetap lurus kaku tidak bergerak ketika ditambahkan 20 µl 1 M NaOH ke dalam suspensi (Chen dan Dickson, 2000).

Tabel 1: Actinomycetes endofit yang dipergunakan dalam penelitian ini.
 Table 1: *Endophytic actinomycetes strains used in this study*

Species	Strains
<i>Acrobacter xylooxidans</i>	PM 136
<i>Microbispora amethystogenes</i>	EN 2
<i>Micromonospora peucetica</i>	EN 42
<i>Streptomyces roseoflavus</i>	PM 160
<i>Streptomyces argenteolus</i>	EN 30, 60
<i>Streptomyces caviscabies</i>	EN 18, 23, 27, 28, 35
<i>Streptomyces fimbriatus</i>	EN 10
<i>Streptomyces galilaeus</i>	EN 3, 39, 45, 49
<i>Streptomyces griseus</i>	PM 45
<i>Streptomyces lincolnensis</i>	EN 7
<i>Streptomyces lipmanii</i>	AB 2b
<i>Streptomyces lividans</i>	EN 11, AB 14a
<i>Streptomyces maritimus</i>	EN 61
<i>Streptomyces peruviansis</i>	EN 26
<i>Streptomyces platensis</i>	PM 1, 49
<i>Streptomyces sampsonii</i>	PM 224
<i>Streptomyces scabies</i>	EN 15, AB 8
<i>Streptomyces sp.</i>	EN 33, 38, PM 19
<i>Streptomyces tendae</i>	EN 24, 37, AB 10
<i>Streptomyces tumescens</i>	AB 16
<i>Streptomyces turgidiscabies</i>	AB 11
<i>Streptomyces violaceusniger</i>	EN 13
<i>Streptomycetaceae</i>	PM 62
<i>Tsukamurella tyrosinovorans</i>	PM 35
<i>Tsukamurella pulmonis</i>	PM 124
<i>Streptomyces somaliensis</i>	PM 143, 349

In planta

Pelapisan biji (seed coating). Sebelum ditanam, benih mentimun dilapisi dengan inokulum actinomycetes. Suspensi spora setiap strain dihitung menurut metoda Miles dan Misra (1938) dan diatur hingga mencapai konsentrasi 10^8 cfu/g biji. Suspensi spora ini (300 ml) setelah ditambah 0.3% xanthan gum diaplikasikan pada 1 gram biji steril dan dibiarkan semalam di dalam laminar flow hingga kering. Sebagai kontrol benih dilapisi air steril berisi 0.3% xanthan gum.

Nematicidal assay (in planta). Tanaman mentimun diinokulasi dengan 375 juvenil pada umur 2 minggu setelah tanam. Invasi nematoda ke dalam sistem perakaran diamati 2 minggu setelah inokulasi nematoda atau 4 mst, sementara pengamatan root gall dilakukan 5 minggu setelah inokulasi (7 mst). Masing-masing perlakuan diulang 3 kali.

Metode yang digunakan untuk mengamati invasi nematoda mengikuti Bridge *et al* (1982) dengan sedikit modifikasi. Setelah panen, akar dicuci bersih kemudian direndam dalam 1,5% NaOCl selama 4 menit, dibilas air mengalir 30 detik dan direndam air 15 menit untuk menghilangkan NaOCl. Nematoda di dalam akar kemudian diwarnai dengan cara merebus akar dalam lactoglycerol berisi 0,5% aniline blue

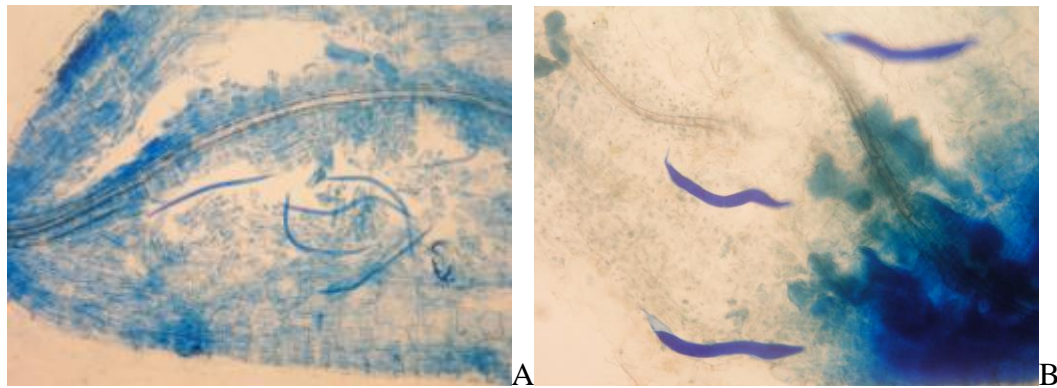
selama 3 menit. Setelah dingin, dicuci dan direndam air selama 15 menit, kemudian akar dibersihkan dari kelebihan pewarna dengan perendaman dalam 50% glycerol selama 2 hari. Jumlah nematoda dalam akar dalam berbagai stadia diamati dan dihitung dibawah stereo microscope.

Pengamatan terhadap root gall dilakukan setelah seluruh akar dari setiap sampel akar tanaman diawetkan dalam 50% ethanol. Dalam percobaan ini pengamatan root gall dilakukan terhadap jumlah total gall yang ditemukan pada seluruh sistem perakaran dari tiap tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktifitas nematisida *in vitro*:

Dalam penelitian ini aktifitas nematisida dari filtrat kultur 42 strain actinomycetes endofit yang diuji berbeda nyata dalam mempengaruhi motilitas dan mortalitas nematoda *Meloidogyne javanica* dibandingkan dengan kontrol ($P \leq 0.05$). Dari 42 strain yang diuji, 83,3% secara signifikan mempengaruhi keaktifan (motilitas), sementara 21,4% menyebabkan kematian (mortalitas) juvenile nematoda.



Gambar 1 Invasi nematode ke akar mentimun 2 minggu setelah inokulasi; (A) infective J2 dan (B) J3
Figure 1. Nematode invasion to the root system of cucumber plants at 2 weeks after inoculation; (A) infective J2 and (B) J3.

Penurunan motilitas terbanyak ditunjukkan oleh perlakuan filtrat kultur dari starin PM143 (53,6%) dan EN26 (43,2%), sementara mortalitas tertinggi adalah 15% dan 8,5% diperoleh ketika juvenile diperlakukan dengan strain yang sama, PM143 dan EN26 (Tabel 2). Dengan demikian efek dari metabolit actinomycetes pada *M. javanica* terutama sebagai nematostatic karena kemampuannya membuat juvenile ini tidak aktif melebihi dari kemampuannya mematikan juvenile.

Beberapa faktor mempengaruhi efektifitas metabolit mikrobia dalam pengujian aktifitasnya terhadap nematoda secara *in vitro*. Medium yang digunakan untuk kultur mikrobia dan metode ekstraksi bahan aktif merupakan faktor yang mempengaruhi produksi metabolit. Menurut Srinivasan *et al.* (1991) komposisi medium pertumbuhan, temperatur dan lamanya inkubasi mempengaruhi produksi bahan aktif anti jamur secara *in vitro*. Untuk itu, pemaksimalan produktifitas dari strain adalah penting untuk mendapatkan bahan aktif nematisida yang cukup. Siddiqui *et al.* (2000) menyatakan bahwa ekstraksi ethyl acetate dari *Paecilomyces lilacinus* dan *Pseudomonas aeruginosa* lebih efektif dibandingkan ekstraksi hexane dalam menekan juvenile *M. javanica*. Faktor-faktor tersebut mungkin penyebab rendahnya aktifitas nematisida *in vitro* dalam penelitian ini. Strain berbeda dari spesies actinomycetes yang sama, dalam penelitian ini, mempunyai efek yang bervariasi pada juvenile *M. javanica*, seperti yang ditunjukkan oleh Chao (1990) pada rhizobia dan Siddiqui *et al.* (2000) pada rhizobacteria.

Pengujian aktifitas agen pengendali hayati langsung pada tanaman merupakan metode yang lebih dapat dipercaya dan efisien, tetapi seleksi antagonisme berdasarkan aktifitasnya secara *in vitro* sangat penting dalam uji awal, lagipula hal ini penting untuk melihat adanya hubungan antara 2 metode pengujian tersebut.

Aktifitas Nematisida *in planta*

Dari 42 strain yang diuji secara *in vitro*, delapan strain dipilih untuk uji *in planta* mewakili 3 tingkat aktifitas nematisida: tinggi, sedang dan rendah (Tabel 3).

Invasi Nematoda. Dalam penelitian ini tidak terdapat perbedaan signifikan pada jumlah nematoda yang memasuki sistem perakaran antara perlakuan dan kontrol, tetapi perbedaan nyata ditemukan pada perkembangan stadia nematoda pada akar mentimun, yang ditunjukkan dengan persentase nematoda dalam stadia J2 (stadia juvenile 2) dan J3 (stadia juvenile 3). Gambar 1 menunjukkan stadia RKN berbeda di dalam akar mentimun. Strain-strain EN26, PM143 dan PM349 mampu secara nyata menghambat perkembangan siklus hidup nematoda dalam akar dibandingkan kontrol dan perlakuan lain ($P \leq 0.05$).

Dalam penelitian ini ditemukan 42,7% nematoda tetap dalam stadia J2 setelah 14 hari tanaman diperlakukan dengan EN26, sementara 37,9% dan 35,2% ditemukan pada tanaman dengan perlakuan PM143 dan PM349, dibandingkan dengan hanya 14,1% pada tanaman kontrol (Tabel 4). Hasil ini sesuai dengan hasil pada percobaan *in vitro*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa actinomycetes endofit tidak dapat menghalangi kerusakan awal akibat nematoda, tetapi dapat menunda siklus hidupnya, sehingga dalam jangka panjang mungkin dapat menurunkan populasi nematoda. Pada tanaman berumur 2 minggu, populasi actinomycetes endofit dan tingkat produksi metabolitnya mungkin belum cukup untuk menghambat penetrasi nematoda ke dalam jaringan perakaran. Akan tetapi dengan tumbuhnya tanaman, populasi actinomycetes akan meningkat dan produksi metabolit akan lebih tersedia (Listiana, 2004). Karena sifatnya yang endofit,

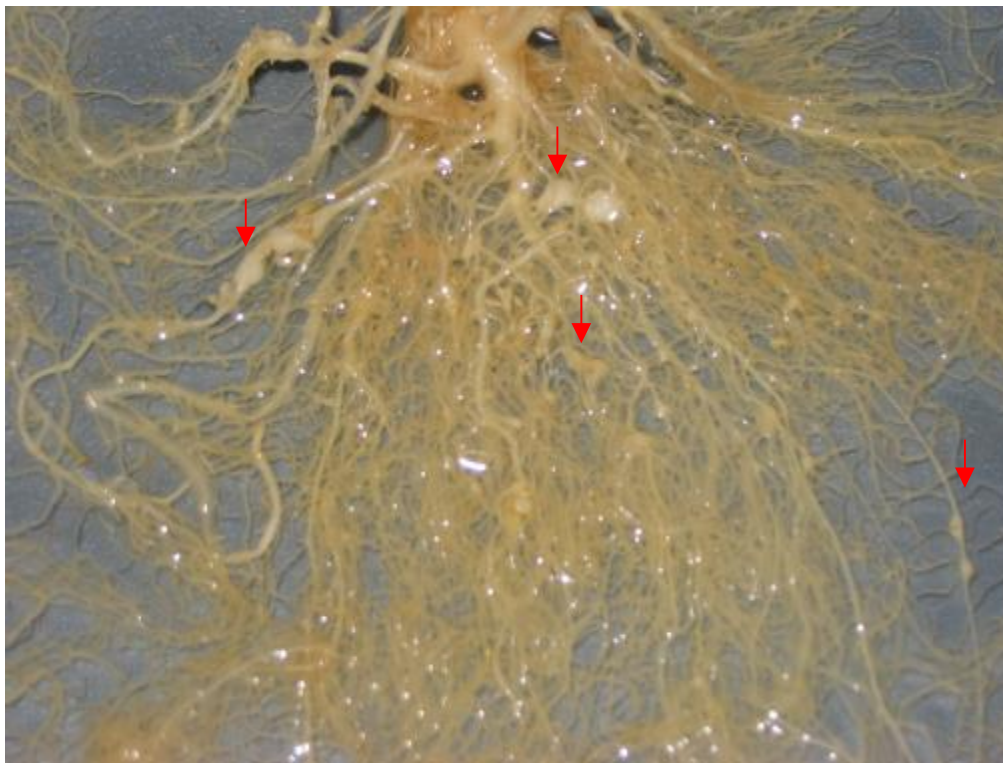
populasi actinomycetes tidak banyak ditemukan pada tanah sekitar perakaran, sehingga kemampuan untuk menghalangi masuknya nematoda melalui pengaruhnya langsung di luar jaringan tanaman tidak diharapkan.

Pembentukan puru akar

Pembentukan puru akar yang merupakan gejala visual utama dari RKN diamati 5 minggu setelah inokulasi nematoda (Gambar 2). Dalam penelitian ini ditemukan perbedaan nyata antar perlakuan ($P \leq 0.05$) dalam pembentukan puru akar. Jumlah puru akar secara nyata menurun 29,6%, 28% dan 20,1% berturut-turut pada EN35, EN26 dan PM349 dibandingkan kontrol. Sebagian besar dari perlakuan lain juga menunjukkan kecenderungan menurunnya jumlah puru akar dibandingkan kontrol, tetapi secara statistik tidak berbeda (Tabel 4).

Streptomyces caviscabies EN35 yang menunjukkan aktifitas sedang pada *invitro* dan tidak menunjukkan efek nyata dalam menghambat perkembangan juvenile, tetapi jumlah puru akar yang

terbentuk rendah, tidak berbeda nyata dengan efek yang ditunjukkan oleh *Streptomyces peruviansis* EN26. Hal ini menunjukkan faktor lain juga mempengaruhi aktifitas ini. Hasil yang serupa juga ditemukan oleh Samac dan Kinkel (2001), mutant dari *Streptomyces* spp. yang tidak memproduksi antibiotik *in vitro*, mampu menurunkan populasi *Pratylenchus penetrans* pada akar tanaman lucerne (*Medicago sativa*). Sebaliknya, walaupun mempunyai aktifitas nematisida *in vitro* yang tinggi, flavipin – metabolit yang dihasilkan *Chaetomium globosum* tidak menekan populasi RKN dan jumlah puru akar pada tanaman muskmelon (Nitao *et al.*, 2002).



Gambar 2: RKN menginfeksi akar mentimun ditunjukkan dengan gejala root gall (panah) 5 minggu setelah perlakuan.

Figure 2: Root knot nematodes infect cucumber roots showed by root gall symptom (arrows) at 5 weeks after inoculation.

Tabel 2: Efek *invitro* ekstrak actinomycetes endofit terhadap motilitas dan mortalitas *Meloidogyne javanica*.

Table 2: *In vitro* effects of endophytic actinomycetes extracts on motility and mortality of *Meloidogyne javanica*.

	Strain	Motalitas (%)	Mortalitas (%)
EN 2	<i>Microbispora amethystogenes</i>	93.3*	0.0
EN 3	<i>Streptomyces galilaeus</i>	91.0*	0.0
EN 7	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	92.3*	0.0
EN 10	<i>Streptomyces fimbriatus</i>	88.0*	0.0
EN 11	<i>Streptomyces lividans</i>	89.3*	0.0
EN 13	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	94.7	0.0
EN 15	<i>Streptomyces scabies</i>	84.3*	0.0
EN 16	<i>Streptomyces caviscabies</i>	86.0*	0.7
EN 23	<i>Streptomyces caviscabies</i>	83.7*	1.3
EN 24	<i>Streptomyces tendae</i>	96.3	1.0
EN 26	<i>Streptomyces peruviansis</i>	56.5*	8.5*
EN 27	<i>Streptomyces caviscabies</i>	89.0*	0.0
EN 28	<i>Streptomyces caviscabies</i>	86.0*	0.7
EN 30	<i>Streptomyces argenteolus</i>	80.0*	1.0
EN 33	<i>Streptomyces</i> sp.	84.3*	0.7
EN 35	<i>Streptomyces caviscabies</i>	63.7*	3.7*
EN 37	<i>Streptomyces</i> sp.	90.3*	4.3*
EN 38	<i>Streptomyces</i> sp.	85.3*	0.0
EN 39	<i>Streptomyces galilaeus</i>	95.0	0.0
EN 42	<i>Micromonospora peucetica</i>	95.7	0.0
EN 45	<i>Streptomyces galilaeus</i>	79.7*	2.3*
EN 49	<i>Streptomyces galilaeus</i>	87.3*	0.0
EN 60	<i>Streptomyces argenteolus</i>	79.0*	0.4
EN 61	<i>Streptomyces maritimus</i>	83.0*	2.0*
PM 1	<i>Streptomyces platensis</i>	86.0*	0.0
PM 19	<i>Streptomyces</i> sp.	91.7*	0.0
PM 35	<i>Tsukamurella tyrosinovorans</i>	76.0*	2.7*
PM 45	<i>Streptomyces griseus</i>	81.0*	0.0
PM 49	<i>Streptomyces platensis</i>	94.3	0.0
PM 62	<i>Streptomycetaceae</i>	83.7*	1.0
PM 124	<i>Tsukamurella pulmonis</i>	96.7	0.0
PM 136	<i>Aerobacter xylosoxidans</i>	95.7	0.0
PM 143	<i>Streptomyces somaliensis</i>	46.3*	15.0*
PM 160	<i>Streptomyces roseoflavus</i>	87.7*	0.7
PM 224	<i>Streptomyces sampsonii</i>	91.7*	0.0
PM 349	<i>Streptomyces somaliensis</i>	71.7*	4.7*
AB 2b	<i>Streptomyces lipmanii</i>	93.7*	0.0
AB 8	<i>Streptomyces scabies</i>	86.3*	0.0
AB 10	<i>Streptomyces tendae</i>	86.3*	0.7
AB 11	<i>Streptomyces turgidiscabies</i>	93.3*	0.0
AB 14a	<i>Streptomyces lividans</i>	75.3*	5.7*
AB 16	<i>Streptomyces tumescens</i>	94.3	0.0
	Control (YME media)	100.0	0.0

Keterangan Tabel 2:

Nilai merupakan rata-rata 3 ulangan diambil 24 jam setelah inkubasi.

Motilitas (%) adalah persentase dari juvenile yang motil (aktif) dari total jumlah juvenile yang diuji.

Mortalitas (%) adalah persentase juvenile yang mati dari total jumlah juvenil yang diuji. menunjukkan berbeda nyata dibandingkan control (ekstrak yeast malt agar tanpa kultur) pada $P \leq 0.05$, menggunakan uji LSD.

Tabel 3: Aktivitas nematisida secara invitro dari starin actinomycetes endofit yang kemudian dipergunakan pada percobaan inplanta.

Table 3: *In vitro* nematicidal activity of selected endophytic actinomycetes strains used for in planta experiment

Strains	Mortalitas (%)	Mortalitas (%)	Aktivitas nematisida
EN 26	56.5	8.5	tinggi
PM 143	46.3	15.0	tinggi
EN 35	63.7	3.7	sedang
PM 349	71.7	4.7	sedang
AB 14a	75.3	5.7	sedang
EN 27	89.0	0.0	rendah
PM 62	83.7	1.0	rendah
PM 124	96.7	0.0	rendah

Tabel 4 Aktivitas nematisida dari starin actinomycetes endofit pada sistem perakaran mentimun terserang RKN yang ditanam pada tanah pasiran.

Table 4: *Nematicidal activity of endophytic actinomycetes strains in root system of RKN-infested cucumber plants grown in sandy-soil.*

Strain	Populasi Nematode	J2 (%)	Puru akar
EN 26	128 ± 14	42.7 ± 3.6 a	112 ± 6 c
PM 143	98 ± 12	37.9 ± 2.6 a	136 ± 6 abc
EN 35	117 ± 15	21.1 ± 3.4 bc	112 ± 8 c
PM 349	118 ± 5	35.2 ± 3.8 a	128 ± 4 bc
AB 14a	147 ± 18	18.8 ± 2.4 bc	160 ± 14 a
EN 27	145 ± 11	18.8 ± 3.6 b	158 ± 4 a
PM 62	123 ± 12	24.7 ± 2.6 b	141 ± 15 ab
PM 124	134 ± 23	23.9 ± 2.9 b	151 ± 7 ab
Control	153 ± 13	14.1 ± 0.9 c	163 ± 9 a

Angka menunjukkan rata-rata ± standard error dari 4 ulangan yang diambil dari seluruh system perakaran pada 2 minggu setelah inokulasi untuk jumlah nematoda dan jumlah nematoda juvenile pd fase kedua (J2). Jumlah puru akar diobservasi 5 minggu setelah inokulasi.

J2% adalah persentase jumlah J2 terhadap total nematoda menginfeksi system perakaran.

Angka yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda-nyata

Dari hasil penelitian ini tidak cukup kuat untuk mengatakan bahwa antibiosis adalah satu-satunya faktor dalam menghambat perkembangan stadia nematode dan menurunkan pembentukan puru akar. Raaijmakers *et al.* (2002) menyatakan bahwa mikroorganisme pada tanaman dapat memproduksi antibiotik seperti yang dihasilkan *in vitro*, tetapi tidak

dapat dijamin jumlahnya mencukupi untuk menghambat aktifitas metabolik pathogen, karena eksudat dari tanaman dan kondisi lingkungan merupakan faktor yang mempengaruhi produksi metabolit. Mekanisme lain seperti kolonisasi niche yang sama, blokade fisik daerah infeksi dan kompetisi nutrisi yang berasal dari eksudat akar (Samac dan

Kinkel, 2001) juga memungkinkan. Karena nematode menggunakan eksudat akar sebagai makanan, maka perubahan jumlah dan komposisi eksudat juga mempengaruhi penekanan terhadap nematode. Selain antibiosis, induksi resistensi sistemik dapat bekerja sinergis dengan bahan aktif yang diproduksi actinomycetes dalam menekan perkembangan nematode (Conn, 2005).

Efektifitas agen pengendali hayati dalam menekan perkembangan nematode juga dipengaruhi oleh kerapatan populasi inokulan, dimana kerapatan optimum untuk setiap strain perlu diidentifikasi pada kondisi lingkungan tertentu. Pada penelitian ini, setiap strain actinomycetes diaplikasikan pada konsentrasi 10^8 cfu/g biji sebagai selaput biji (*seed coat*). Setiap strain mungkin memerlukan kerapatan spora berbeda agar efektif dalam menekan perkembangan nematoda. Oostendorp dan Sikora (1989) menunjukkan bahwa beberapa isolat rhizobacteria pada konsentrasi tinggi menurunkan aktifitas nematisidanya, sedangkan isolat lainnya yang efektif pada konsentrasi tinggi, menurun aktifitasnya pada kelembaban yang tinggi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa actinomycetes endofit mempunyai potensi sebagai agen pengendali hayati melawan nematode *Meloidogyne javanica*. Ekstrak dari *Streptomyces peruviansis* EN26 dan *Streptomyces somaliensis* PM143 mempunyai efek *nematostatic in vitro*. Dua strain ini juga mempunyai aktifitas nematisida *in planta*. Walaupun jumlah nematode yang masuk ke dalam jaringan akar tidak terpengaruh, tetapi strain-strain tersebut dapat menghambat perkembangan stadia nematoda dan menurunkan jumlah *root gall* terbentuk pada tanaman mentimun.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksoy, H. M. and Mennan, S., 2004. Biological control of *Heterodera cruciferae* (Tylenchida: Heteroderidae) Franklin 1945 with fluorescent *Pseudomonas* spp. *Journal of Phytopathology* 152: 514-518.
- Anke, H., Stadler, M., Mayer, A. and Sterner, O., 1995. Secondary metabolites with nematocidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. *Canadian Journal of Botany* 73: S932-S939.
- Bridge, J., Page, S. and Jordan, S., 1982. An improved method for staining nematode in roots. Rothamsted Experimental Station Report 1981. Part 1. Rothamsted.
- Calvet, C., Pinochet, J., Camprubi, A., Estaun, V. and Rodriguez-Kabana, R., 2001. Evaluation of natural chemical compounds against root-lesion and root-knot nematodes and side-effects on the infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi. *European Journal of Plant Pathology* 107: 601-605.
- Chao, W. L., 1990. Antagonistic activity of *Rhizobium* spp., against beneficial and plant pathogenic fungi. *Letters in Applied Microbiology* 10: 213-215.
- Chen, S. Y. and Dickson, D. W., 2000. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 32: 117-121.
- Conn, V. M., 2005. Molecular interactions of endophytic actinobacteria in wheat and arabidopsis. PhD thesis. Flinders University of South Australia.
- Coombs, J. T. and Franco, C. M. M., 2003. Isolation and identification of actinobacteria isolated from surface-sterilised wheat roots. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 5603-5608
- Coombs, J. T., Michelsen, P. P. and Franco, C. M. M., 2004. Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biological Control* 29: 359-366
- Hallmann, J., and Sikora, R. A., 1996. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soil borne plant pathogenic fungi. *European Journal of Plant Pathology* 102: 155-162.
- Handelsmann, J. and Stabb, E. V., 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant Cell* 8: 1855-1869.
- Hussey, R. S. and Barker, K. R., 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025-1028.
- Kempster, V. N., 2000. Soil microbes as potential control agents for plant-parasitic nematodes in pasture. PhD Thesis. The University of Adelaide.
- Kerry, B. R., 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 38: 423-441.
- Khambay, B. P. S., Bourne, J. M., Cameron, S., Kerry, B. R. and Zaki, M. J., 2000. A nematocidal metabolite from *Verticillium chlamyosporium*. *Pest Management Science* 56: 1098-1099.
- Listiana, B. E., 2004. Identification of antifungal activity of actinobacteria isolated from wheat plants. Master Thesis. Flinders university of South Australia.
- Mayer, A., Kilian, M., Hoster, B., Sterner, O. and Anke, H., 1999. *In vitro* and *in vivo* nematocidal

- activities of the cyclic dodecapeptide omphalotin. *Pesticide Science* 55: 27-30.
- Meyer, S. L. F., Huettel, R. N., Liu, X. Z., Humber, R. A., Juba, J. and Nitao, J. K., 2004. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. *Nematology* 6: 23-32.
- Nitao, J. K., Meyer, S. L. F., Oliver, J. E., Schmidt, W. F. and Chitwood, D. J., 2002. Isolation of flavipin, a fungus compound antagonistic to plant parasitic nematodes. *Nematology* 4: 55-63.
- Oostendorp, M. and Sikora, R. A., 1989. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. *Revue de Nematologie*. 12: 77-83.
- Raaijmakers, J. M., Vlami, M. and de Souza, J. T., 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 537-547.
- Samac, D. A. and Kinkel, L. L., 2001. Suppression of the root-lesion nematode (*Pratylenchus penetrans*) in alfalfa (*Medicago sativa*) by *Streptomyces* spp. *Plant and Soil* 235: 35-44
- Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A., Kleifeld, O. and Spiegel, Y., 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 91: 687-693.
- Siddiqui, I. A., Qureshi, S. A., Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S. and Gaffar, A., 2000. Biological control of root rot - root knot disease complex of tomato. *Plant and Soil* 227: 163-169.
- Siddiqui, I. A. and Shaukat, S. S., 2002. Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica* in tomato by fluorescent pseudomonads. *Journal of Phytopathology* 150: 469-473.
- Srinivasan, M. C., Laxman, R. S. and Deshpande, M. V., 1991. Physiology and nutritional aspects of actinomycetes: an overview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 7: 171-184.
- Stirling, G. R., 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems, and prospect. CAB International Wellingford - UK.
- Sturz, A. V. and Kimpinsky, J., 2004. Endoroot bacteria derived from marigolds (*Tagetes spp*) can decrease soil population densities of root-lesion nematodes in the potato root zone. *Plant and Soil* 242: 241-249.
- Whitehead, A. G., 1997. Plant Nematode Control. CAB International. Wellingford – UK.