

Populasi *Pratylenchus coffeae* (Z.) dan Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika Akibat Inokulasi *Pseudomonas diminuta* L. dan *Bacillus subtilis* (C.)

***Population of Pratylenchus coffeae* (Z.) and Growth of Arabica Coffee Seedling Inoculated by *Pseudomonas diminuta* L. and *Bacillus subtilis* (C.)**

Iis Nur Asyiah¹⁾, Soekadar Wiryadiputra^{2*)}, Irfan Fauzi¹⁾, dan Rita Harni³⁾

¹⁾Jurusan Biologi, FKIP Universitas Jember, Jl. Kalimantan, Tegalboto, Jember

²⁾Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. PB. Sudirman No. 90, Jember, Indonesia

³⁾Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Bogor

^{*)}Corresponding author: soekadar@yahoo.com

Abstrak

Serangan nematoda parasit *Pratylenchus coffeae* menyebabkan kerusakan jaringan akar tanaman kopi. Pengendalian *P. coffeae* saat ini dilakukan dengan sistem pengendalian hama terpadu (PHT) yaitu dengan memadukan penggunaan klon kopi tahan dengan penggunaan agens hayati yang aman terhadap lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh bakteri *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis* dalam menekan populasi nematoda *P. coffeae* dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan bibit kopi. Penelitian menggunakan bibit kopi Arabika umur satu bulan yang melibatkan delapan perlakuan dan lima kali ulangan. Perlakuan yang dicoba adalah *P. diminuta* kerapatan 10^8 cfu/bibit, *P. diminuta* kerapatan 2×10^8 cfu/bibit, *B. subtilis* kerapatan 10^8 cfu/bibit, *B. subtilis* kerapatan 2×10^8 cfu/bibit, nematisida karbofuran 5 g formulasi/pot, *P. diminuta* dan *Bacillus subtilis* masing-masing kerapatan 10^8 cfu/bibit, kontrol negatif (tanpa agen hayati dan pestisida + nematoda), dan kontrol positif (tanpa tambahan apapun). Penelitian dilakukan selama 16 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi *P. diminuta* dan *B. subtilis* berpengaruh nyata dalam menekan populasi *P. coffeae*. Perlakuan *Bacillus subtilis* dengan kepadatan 10^8 cfu dapat menekan populasi nematoda sebesar 71,3% dan tidak berbeda nyata dengan nematisida sintesis karbofuran yang dapat menekan populasi sebesar 89,7%. Demikian juga dengan bakteri *P. diminuta* kepadatan $2 \cdot 10^8$ mampu menekan populasi *P. coffeae* sebesar 64,2%. Pertumbuhan bibit kopi yang diperlakukan dengan bakteri secara nyata juga meningkat terutama yang diperlakukan *B. subtilis* dengan kepadatan 10^8 dan *P. diminuta* dengan kepadatan 10^8 cfu, masing-masing meningkat sebesar 35,4% dan 34,2% dibanding bibit yang tidak diinokulasi nematoda.

Kata Kunci: *Coffea arabica* L., *Pratylenchus coffeae*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas diminuta*

Abstract

The infection of a parasitic nematode Pratylenchus coffeae may cause root tissue damage of coffee plants. presently, control of Pratylenchus coffeae follows integrated pests management (IPM), which integrated the use of coffee resistant clone and application of biological agents. This research was conducted to study the effects of Pseudomonas diminuta and Bacillus subtilis in suppressing population of P. coffeae as well as their effect on growth of coffee seedling. Coffea arabica seedlings of one month old were used in the experiment. The experiment consist of eight treatments and five replications, as follows: P. diminuta with density of 10^8 cfu/mL, P. diminuta with density of 2×10^8 cfu/mL, B. subtilis with density of 10^8 cfu/mL, B. subtilis with density of 2×10^8 cfu/mL, Carbofuran nematicide 5 g formulation/pot, P. diminuta and Bacillus subtilis with each density of 10^8 cfu/mL, negative control (without bacteria and nematicide+nematode), positive control (without any additional treatment). The experiment was conducted for sixteen weeks. The results showed that application of the bacteria could suppress population of P. coffeae and increase coffee seedling growth significantly. Inoculation of B. subtilis at 10^8 cfu per seedling suppressed significantly nematode population of 71.3% compared to untreated seedling but inoculated with nematode. It was not significantly diferent compared with carbofuran treatment which could suppress nematode population by 89.7%. P. diminuta at density level $2 \cdot 10^8$ cfu/seedling, could suppress nematode population by 64.2%. Seedling growth with the bacteria also significantly increase compared with seedling positive control, especially on the treatment of B.subtilis at density level 10^8 cfu and P. diminuta at density level of 10^8 cfu, with increasing level of 35.4% and 34.2 %, respectively.

Keywords: MHB (*Mycorrhiza Helper Bacteria*), Arabica coffee, *Pratylenchus coffeae*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas diminuta*

PENDAHULUAN

Kopi Arabika adalah salah satu jenis kopi yang terkenal di dunia dengan harga yang relatif lebih tinggi dari jenis kopi lainnya. Meskipun produksinya tidak tinggi tetapi cita rasa membuatnya menjadi terkenal (Najiyati, 1998).

Kopi Arabika mempunyai hama yang sangat merusak yaitu dari golongan nematoda parasit dari spesies *Pratylenchus coffeae*. Nematoda ini menyerang jaringan korteks akar serabut terutama akar-akar serabut yang aktif menyerap unsur hara dan air. Akibatnya akar serabut menjadi rusak, berwarna coklat dan terdapat luka-luka nekrotik. Luka-luka tersebut secara bertahap meluas, sehingga

akhirnya seluruh akar serabut membusuk. Gejala kerusakan oleh nematoda pada bagian tanaman di atas permukaan tanah umumnya tidak spesifik. Tanaman tampak kerdil, pertumbuhan terhambat, ukuran daun dan cabang primer mengecil, daun tua berwarna kuning yang secara perlahan akhirnya rontok dan tanaman mati. Akar tanaman kopi yang terserang oleh *P. coffeae* warnanya berubah menjadi kuning, selanjutnya berwarna coklat dan kebanyakan akar lateralnya busuk. Luka yang terjadi pada akar berakibat merusak seluruh sistem perakaran dan kematian tanaman (Nugroharini, 2012).

Berbagai usaha untuk mengendalikan nematoda parasit *P. coffeae* sudah banyak dilakukan di antaranya adalah menggunakan

klon kopi tahan nematoda sebagai batang bawah, penggunaan pestisida, menggunakan jamur, pupuk kandang, limbah kulit kopi, dan juga bakteri (Wiryadiputra *et al.*, 2010). Akhir-akhir ini penggunaan agen hayati sebagai pengendali hama lebih banyak dipilih karena lebih ramah lingkungan dan dalam hal tertentu lebih murah. Pengendalian *P. coffea* secara hayati menggunakan bakteri khitinolitik pernah dicoba di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, dan memberikan hasil yang prospektif (Wiryadiputra *et al.*, 2003). Demikian pula agens hayati berupa jamur *Paecilomyces lilacinus* strain 251 yang dicoba pada skala lapang (Wiryadiputra, 2002) dan jamur mikoriza (Baon *et al.*, 1988; Baon & Wiryadiputra, 1994) pernah diujicoba. Harni *et al.* (2012) juga telah melakukan penelitian pengaruh bakteri endofitik untuk mengendalikan nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam. Bakteri rhizosfer untuk menghambat nematoda perusak akar *P. loosi* pada teh juga telah diteliti (Rahanandeh *et al.*, 2012).

Cara kerja yang dihubungkan dengan induksi mikroba terhadap nematoda parasit tanaman juga telah diteliti (Sikora *et al.*, 2007). Hubungan bakteri endofit dengan nematoda parasit penyebab penyakit kuning pada tanaman lada di provinsi Bangka Belitung juga telah diteliti (Munif & Kristiana, 2012).

Bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* termasuk dalam golongan *Micorrhiza Helper Bacteria* diketahui memiliki peran yang positif pada asosiasi mikoriza dan tanaman. Dalam beberapa kajian bakteri ini memiliki pengaruh negatif terhadap patogen akar (Rigamonte *et al.*, 2010). Menurut Harni *et al.*, (2012), bakteri endofitik yang juga terdapat jenis *Bacillus* dan *Pseudomonas* di dalamnya, dapat menghasilkan zat-zat kimia tertentu yang dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap nematoda *Pratylenchus brachyurus*. Zat-zat yang dihasilkan antara lain, kitinase, asam salisilat, katalase, dan peroksidase. Selain itu bakteri

tersebut juga dapat memicu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan fitohormon seperti IAA (Harni *et al.*, 2012). Keadaan ini memberikan kemungkinan bahwa *Micorrhiza Helper Bacteria* spesies *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis* juga memiliki kemampuan serupa untuk mengendalikan populasi nematoda *Pratylenchus coffeae* dan juga membantu pertumbuhan tanaman kopi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh bakteri *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis* dalam menekan populasi *Pratylenchus coffeae* dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan bibit kopi Arabika.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di rumah kaca dan Laboratorium Perlindungan Tanaman, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia yang berada di Kaliwining, pada ketinggian tempat 45 m dpl. serta tipe iklim D menurut klasifikasi Schmidt & Ferguson. Bibit kopi Arabika varietas S-795 digunakan sebagai bahan penelitian dan ditumbuhkan pada media pembibitan dengan komposisi tanah atasan, pasir dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1. Media pembibitan terlebih dahulu diayak dan selanjutnya disterilkan pada suhu 121°C dan tekanannya >2,0 kg/cm² selama minimal 2 jam. Benih kopi yang digunakan disemaikan pada media pasir steril, dan setelah mencapai stadium kepelan (berdaun sepasang) dipindah ke media pembibitan. Media pembibitan diletakkan dalam ember plastik volume 1.250 mL yang diisi media steril sebanyak 1.000 mL.

Persiapan bakteri *B. subtilis* dan *P. diminuta* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA, Universitas Jember. Bakteri pada awalnya dibiakkan dalam medium Pikovskaya (Pikovskaya, 1948; Hemalatha *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2011), selanjutnya dibiakkan secara masal menggunakan medium

nutrien agar. Untuk memastikan bahwa yang digunakan benar-benar spesies bakteri *B. subtilis* dan *P. diminuta*, maka dilakukan uji identifikasi menggunakan beberapa uji biokimia yaitu uji hidrolisis pati, uji perbedaan suhu, uji fermentasi karbohidrat, uji reduksi nitrat, uji ensim katalase, uji indol dan uji menggunakan pewarnaan gram. Nematoda *Pratylenchus coffeae* yang digunakan berasal dari perkebunan kopi Malang Sari, PT. Perkebunan Nusantara XII, di Banyuwangi.

Sebanyak delapan perlakuan dicoba dalam percobaan ini dan masing-masing perlakuan diulang lima kali. Macam perlakuan yang digunakan adalah (1) inokulasi nematoda dan bakteri *P. diminuta* kepadatan 10^8 cfu per bibit, (2) inokulasi nematoda dan bakteri *P. diminuta* kepadatan 2.10^8 cfu per bibit, (3) inokulasi nematoda dan bakteri *B. subtilis* kepadatan 10^8 cfu per bibit, (4) inokulasi nematoda dan bakteri *B. subtilis* kepadatan 2.10^8 cfu per bibit, (5) nematisida karbofuran 3,0% bahan aktif dengan dosis 5 g formulasi per bibit, (6) inokulasi nematoda dan bakteri *P. diminuta* + bakteri *B. subtilis* masing-masing dengan kepadatan 10^8 cfu per bibit, (7) kontrol negatif (inokulasi *P. coffeae* tanpa bakteri), dan (8) kontrol positif (tanpa inokulasi nematoda maupun bakteri). Inokulasi nematoda dilakukan satu minggu setelah bibit dipindah ke pot pembibitan dengan jumlah nematoda sebanyak 50 ekor per pot, dan inokulasi bakteri bersamaan waktunya dengan inokulasi nematoda.

Pengamatan dilakukan terhadap populasi nematoda pada akhir penelitian, skor kerusakan tajuk dengan mengikuti metoda Wiryadiputra (1996), kerusakan akar dengan menghitung persentase luka akar, serta parameter pertumbuhan bibit. Tinggi tanaman, jumlah daun dan diameter batang diamati setiap dua minggu sekali, sedangkan untuk berat segar akar, berat segar tajuk dan berat kering tajuk diamati pada akhir penelitian. Data yang diperoleh selanjutnya

dianalisis varian dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's multiple range test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi nematoda dan kerusakan bibit

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, Universitas Jember, dengan menggunakan beberapa uji biokimia seperti uji fermentasi karbohidrat, uji hidrolisis pati, uji katalase, indol, uji suhu, pewarnaan gram, pembentukan endospora, dan uji reduksi nitrat, diketahui bahwa bakteri yang digunakan dalam percobaan ini benar-benar spesies *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*.

Bakteri *B. subtilis* pada kepadatan 10^8 cfu per bibit memberikan pengaruh terbaik terhadap populasi *P. coffeae* dalam akar bibit kopi (Tabel 1). Populasi nematoda dalam akar hanya 876 ekor per bibit, sedangkan pada kontrol negatif, yaitu yang dinokulasi nematoda saja mencapai 3.057 ekor/bibit, atau secara total dengan nematoda dalam tanah menjadi 939 ekor dibanding 3.194 ekor. Hal ini berarti bahwa bakteri *B. subtilis* mampu menekan populasi nematoda dalam akar sebesar 71,3%. Tingkat penekanan ini ternyata tidak berbeda nyata dengan perlakuan nematisida karbofuran yang diaplikasikan dengan dosis 5 g formulasi per bibit. Pada perlakuan nematisida, populasi nematoda dalam akar sebesar 315 ekor per bibit. Dengan demikian tingkat penekanan karbofuran mencapai 89,7%.

Tingkat penekanan populasi nematoda pada *B. subtilis* dosis rendah tersebut juga tidak berbeda nyata dengan tingkat penekanan populasi *P. diminuta* dosis 2.10^8 cfu per bibit, juga dengan *B. subtilis* dosis tinggi (2.10^8 cfu per bibit). Pada perlakuan *P. diminuta* dosis tinggi tingkat penekanan nematoda dalam akar mencapai 64,2%. Di lain pihak

perlakuan *B. subtilis* dosis tinggi justru lebih rendah dibanding dosis rendah yaitu dalam akar sebesar 63,9%. Pada perlakuan *P. diminuta* dosis rendah tingkat penekanan *P. coffeae* dalam akar sebesar 59,2%. Pada perlakuan campuran antara *P. diminuta* dan *B. subtilis* pada dosis masing-masing 10^8 cfu per bibit ternyata tingkat penekanannya tidak berbeda nyata apabila dibandingkan dengan perlakuan secara sendiri-sendiri.

Kerusakan tanaman bagian di atas tanah (tajuk) selama penelitian belum terlihat. Bibit kopi Arabika baik yang diperlakukan, kontrol negatif maupun kontrol positif belum menunjukkan gejala serangan nematoda, yaitu kerdil, daun menguning, dan akhirnya rontok dan mati. Hal ini disebabkan karena penelitian hanya berlangsung selama kurang lebih empat bulan, sehingga belum cukup waktu dalam menimbulkan gejala serangan nematoda. Namun variabel persentase nekrosis pada akar, ternyata telah terlihat. Persentase nekrosis terendah dijumpai pada perlakuan *B. subtilis* dosis rendah (10^8 cfu per bibit) yaitu hanya 10%, diikuti perlakuan *P. diminuta* dosis rendah yaitu sebesar 15%. Persentase nekrosis akar tertinggi terjadi pada perlakuan gabungan antara *B. subtilis* dan *P. diminuta*, yaitu mencapai 78%, sedangkan pada kontrol

negatif persentase nekrosisnya rata-rata 76% (Tabel 2).

Penekanan populasi nematoda parasit oleh mikroorganisme tanah termasuk kelompok bakteri rizosfir perangsang pertumbuhan tanaman (*plant-growth promoting rhizobacteria* = PGPR) telah diungkapkan oleh banyak peneliti. Jamur mikoriza dan bakteri rizosfir dapat berinteraksi satu dengan yang lain, dari yang paling sederhana melalui penempelan pada permukaan jamur sampai hubungan yang paling kompleks dan bahkan bersifat obligat. Muleta (2007) menyebutkan bahwa dari hasil survei yang dilakukan pada ekosistem tanaman kopi Arabika di Etiopia, dijumpai banyak isolat bakteri yang memiliki potensi untuk pengendalian biologis organisme pengganggu pada tanaman kopi maupun sebagai pupuk biologis (*biofertilizer*). Di antara genus bakteri yang memiliki potensi tinggi untuk agen hayati dan *biofertilizer* tersebut adalah *Bacillus*, *Erwinia*, *Ochrobacterium*, *Pseudomonas* dan *Serratia*.

Asiyah *et al.* (2010) menyatakan bahwa tiga isolat rizobakteri yang berasal dari Banjarnegara, yaitu *Bacillus alvei*, *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus stearothermophilus* efektif dalam mengendalikan nematoda sista kuning (*Globodera rostochiensis*) pada kentang.

Tabel 1. Pengaruh bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* terhadap populasi nematoda *P. coffeae* dalam akar dan tanah

Table 1. Effect of *P. diminuta* and *B. subtilis* on development of *P. coffeae* population in roots and in soils

Perlakuan Treatment	Populasi <i>P. coffeae</i> (<i>P. coffeae</i> population)		
	Akar (Roots)	Tanah (Soil)	Total
<i>P. diminuta</i> 10^8 cfu	1,248 ^{cd}	112.8 ^b	1,360.8 ^c
<i>P. diminuta</i> 2.10^8 cfu	1,095 ^{bc}	87.8 ^b	1,182.8 ^{bc}
<i>B. subtilis</i> 10^8 cfu	876 ^{bc}	62.8 ^b	938.8 ^{bc}
<i>B. subtilis</i> 2.10^8 cfu	1,103 ^{bc}	150.2 ^b	1,253.2 ^{bc}
Carbofuran 5g form/pot	315 ^b	87.6 ^b	402.6
<i>P. diminuta</i> 10^8 cfu + <i>B. subtilis</i> 10^8 cfu	953 ^{bc}	187.8 ^b	1,140 ^c
Tanpa bakteri + <i>P. coffeae</i> (kontrol negatif)	3,057 ^d	137.8 ^b	3,194 ^d
No bacterial + <i>P. coffeae</i> (negative control)			
Tanpa perlakuan (kontrol positif)	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
No addition (positive control)			

Keterangan (Notes): Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT dengan aras 5,0% (*Values followed by the same letter(s) in the same column are not different according to Duncan's multiple range test at 5.0% level*).

Tabel 2. Pengaruh inokulasi bakteri terhadap berat basah akar dan tajuk, berat kering tajuk, dan persentase luka akar oleh *P. coffeae* pada bibit tanaman kopi Arabika yang diinokulasi dengan *P. coffeae*

Table 2. Effect of bacterial inoculation on root infestation of *P. coffeae*, fresh root weight and shoot dry weight of Arabica coffee seedling inoculated by *P. coffeae*

Perlakuan (Treatments)	Luka akar Root lesion %	Bobot segar (Fresh weight), g		Bobot kering tajuk, g Shoot dry weight, g
		Akar (Roots), g	Tajuk (Shoot), g	
<i>P. diminuta</i> 10 ⁸ cfu	15 ^{abc}	1,364 ^{ab}	6,68 ^b	1,948 ^b
<i>P. diminuta</i> 2.10 ⁸ cfu	27 ^{bc}	1,058 ^a	5,098 ^{ab}	1,678 ^{ab}
<i>B. subtilis</i> 10 ⁸ cfu	10 ^a	2,038 ^b	6,182 ^b	1,966 ^b
<i>B. subtilis</i> 2.10 ⁸ cfu	34 ^c	0,982 ^a	4,266 ^a	1,474 ^a
Carbofuran 5g form/pot	34 ^c	2,160 ^b	6,512 ^b	1,904 ^b
<i>P. diminuta</i> 10 ⁸ cfu+ <i>B. subtilis</i> 10 ⁸ cfu	78 ^d	1,074 ^a	4,058 ^a	1,424 ^a
Tanpa bakteri + <i>P. coffeae</i> (kontrol negatif) No bacterial + <i>P. coffeae</i> (negative control)	76 ^d	0,856 ^a	4,248 ^a	1,450 ^a
Tanpa perlakuan (kontrol positif) No addition (positive control)	0 ^a	1,814 ^{ab}	5,15 ^{ab}	1,452 ^a

Keterangan (Notes): Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan dengan aras 5,0% (Values followed by the same letter(s) in the same column are not different according to Duncan's multiple range test at 5.0% level).

Hasil uji produksi senyawa biokimia menunjukkan bahwa ketiga jenis bakteri tersebut ternyata menghasilkan senyawa sitokinin dan asam gibberelat. Senyawa ini diketahui merupakan fitohormon yang merangsang pertumbuhan tanaman. Harni *et al.* (2012) telah meneliti beberapa filtrat isolat bakteri endofitik dari akar tanaman nilam terhadap perkembangan populasi nematoda *Pratylenchus brachyurus*. Hasilnya bahwa beberapa filtrat bakteri efektif membunuh nematoda *P. brachyurs* hingga mencapai 81,4%. Daya bunuh filtrat ini diduga ada kaitannya dengan kandungan senyawa yang bersifat nematisida di dalam filtrat, antara lain senyawa 2,3-diacetylphorologhucinol dan enzim protease yang dapat menghambat penetasan telur dan mematikan larva stadium kedua *Meloidogyne incognita*. Lebih lanjut dinyatakan bahwa bakteri endofitik dari spesies *Bacillus subtilis*-NJ57 dan *Pseudomonas putida*-EH11 juga efektif menekan populasi nematoda *Pratylenchus brachyurus*, walaupun tingkat penekanan terbaik terjadi pada jenis bakteri endofitik *Achromobacter xylooxidans*-TT2 dan *Alkaligenes faecalis*-NJ16.

Mekanisme penekanan populasi nematoda parasit oleh bakteri rizosfir banyak diutarakan oleh banyak peneliti. Rahanandeh

et al. (2013) dalam penelitiannya menggunakan bakteri *Pseudomonas* untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus loosi* pada tanaman teh menyatakan bahwa keektifan bakteri *Pseudomonas* dalam menekan *P. loosi* ada kaitannya dengan produksi antibiotik dari bakteri ini yang toksik terhadap nematoda. Spesies dan isolat *Pseudomonas* yang dicoba efektif membunuh nematoda *P. loosi* dengan tingkat penekanan 63,10% sampai dengan 95,24%. Semua isolat yang dicoba ternyata juga menghasilkan enzim protease yang mampu membunuh nematoda *P. loosi*. Dinyatakan bahwa penelitian terdahulu juga mendapatkan bahwa *Pseudomonas* efektif membunuh nematoda spesies *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, dan *Heliccotylenchus multicinctus*. *Bacillus subtilis* juga dinyatakan efektif membunuh nematoda *P. loosi* pada tanaman teh, dengan tingkat penekanan populasi dari 62,88% sampai 86,01%.

Keefektifan bakteri rizosfir *Pseudomonas* dan *Bacillus* juga ada kaitannya dengan produksi senyawa folatil (mudah menguap) oleh bakteri ini. Popova *et al.* (2014) dan Duponnois *et al.* (1998) mendapatkan bahwa bakteri *Pseudomonas* menghasilkan senyawa volatil antara lain ketone (2-nonanone,

2-heptanone, 2-undecanone), dimethyl disulfide dan hydrogen cyanide (HCN). Sementara itu Zheng *et al.* (2008) yang meneliti bakteri endofitik dari tanaman *Euphorbia pulcherrima*, *Pyrethrum cinerarifolium* dan *Heracleum candicans*, diperoleh spesies bakteri paling efektif dalam membunuh nematoda yaitu dari jenis *Brevundomonas diminuta* (sinonim dari *Pseudomonas diminuta*) dan bakteri ini ternyata menghasilkan senyawa (*R*)-(-)-2-ethylhexane-1-ol yang telah diuji toksilitasnya terhadap nematoda *Caenorhabditis elegans* dan *Bursaphelenchus xylophilus*. Berkenaan dengan jenis bakteri *Bacillus subtilis* juga telah diungkap menghasilkan lebih dari dua lusin jenis antibiotik, dari jenis tersebut golongan antibiotik lipopeptida (*surfactins*, *iturins* dan *fengicins*) adalah yang paling toksik terhadap nematoda parasit terutama dari jenis *Meloidogyne incognita* (Kavitha *et al.*, 2012).

Pertumbuhan Bibit Kopi

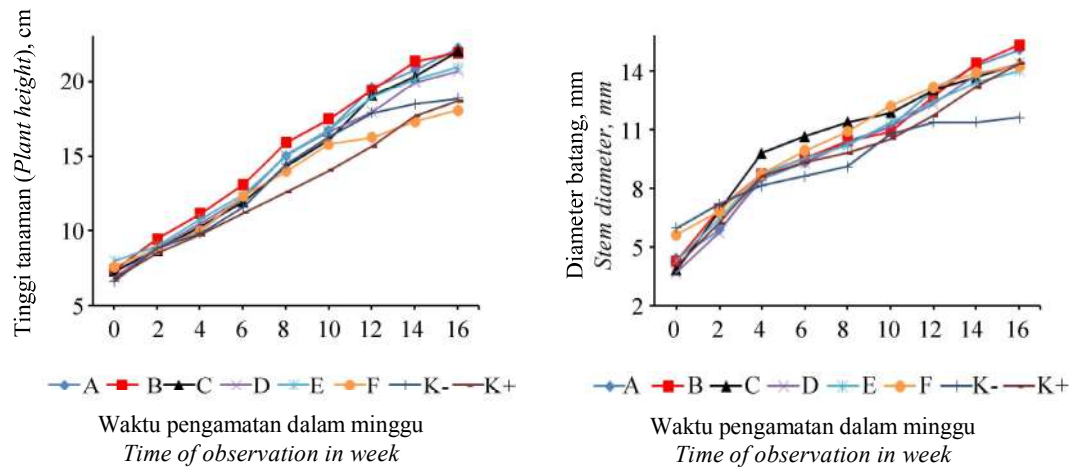
Hasil pengamatan akhir parameter pertumbuhan tanaman kopi Arabika yang meliputi berat segar akar dan tajuk serta berat kering tajuk sebagaimana terlihat pada Tabel 2. Pada Gambar 1 disajikan pengamatan tinggi tanaman, jumlah daun, dan diameter batang. Tampak bahwa pemberian *P. diminuta* dan *B. subtilis* pada akhir penelitian meningkatkan pertumbuhan bibit kopi. Peningkatan pertumbuhan tanaman yang dinyatakan dengan bobot kering tajuk didapatkan paling tinggi pada perlakuan *B. subtilis* dosis rendah, yaitu sebesar 35,4% dibanding kontrol positif atau perlakuan tanpa bakteri dan tanpa nematoda, selanjutnya diikuti oleh perlakuan bakteri *P. diminuta* dosis rendah yang meningkat sebesar 34,2%. Peningkatan ini jelas bukan karena pengaruh pengendalian terhadap nematoda tetapi lebih ke pengaruh memupuk bibit, karena pembanding

yang tanpa diinokulasi nematoda maupun bakteri pertumbuhannya tidak lebih bagus.

Banyak laporan yang menyatakan bahwa penggunaan bakteri rhizosfir meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh Harni *et al.* (2014) mendapatkan hasil serupa. Bakteri endofit meningkatkan pertumbuhan tanaman nilam sebesar 23,6%–57,5%. Tanaman pisang yang diinokulasi dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan nematoda *Meloidogyne incognita*, ternyata pertumbuhannya juga secara signifikan lebih baik dibanding kontrol (Jonathan *et al.*, 2006). Bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. merupakan kelompok bakteri rhizosfir paling banyak (dominan). Bakteri ini merupakan bakteri perangsang pertumbuhan (PGPR) dan meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan berbagai cara, antara lain meningkatkan nutrisi mineral, menghasilkan fitohormon dan menekan perkembangan patogen (Hrynkiewicz & Baum, 2012).

Pertumbuhan bibit kopi menunjukkan perbedaan yang tidak begitu nyata (Gambar 1). Namun ada kecenderungan tinggi tanaman perlakuan bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* menunjukkan keunggulan. Pertumbuhan tinggi tanaman pada perlakuan kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-) dan perlakuan gabungan bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* justru paling rendah. Tidak diketahui mengapa pada perlakuan gabungan kedua bakteri justru lebih rendah dibanding perlakuan masing-masing bakteri.

Jumlah daun dan diameter batang juga memberikan hasil serupa. Perlakuan bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* juga menunjukkan pertumbuhan lebih bagus dibanding kontrol positif maupun kontrol negatif. Hal ini dikuatkan dengan pernyataan Widawati & Suliasih (2006) yang dari hasil penelitiannya mendapatkan bahwa bakteri yang diisolasi dari daerah Cikaniki, Gunung Botol dan Ciptarasa yang didominasi oleh bakteri pelarut fosfat



Gambar 1. Pengaruh perlakuan bakteri *P. diminuta*, *B. subtilis*, dan nematisida karbofuran terhadap tinggi tanaman dan diameter batang bibit kopi Arabika yang diinokulasi nematoda
 Figure 1. Effect of *P. diminuta*, *B. subtilis* and carbofuran on plant height, and stem diameter of coffee Arabica seedling

Catatan (Notes):

- A = perlakuan inokulasi nematoda dan bakteri *P. diminuta* kepadatan 10^8 cfu per bibit (*P. diminuta*, 10^8 cfu per seedling)
- B = perlakuan inokulasi nematoda dan bakteri *P. diminuta* kepadatan 2.10^8 cfu per bibit (*P. diminuta*, 2.10^8 cfu per seedling)
- C = perlakuan inokulasi nematoda dan bakteri *B. subtilis* kepadatan 10^8 cfu per bibit (*Bacillus subtilis* 10^8 cfu per seedling)
- D = perlakuan inokulasi nematoda dan bakteri *B. subtilis* kepadatan 2.10^8 cfu per bibit (*B. subtilis* 2.10^8 cfu per seedling)
- E = perlakuan nematisida karbofuran 3.0% bahan aktif dengan dosis 5g formulasi per bibit, (*Carbofuran*, 5 g formulation (3.0% a.i.) per seedling)
- F = perlakuan inokulasi nematoda dan bakteri *P. diminuta* + bakteri *B. subtilis* masing-masing dengan kepadatan 10^8 cfu per bibit. (combination of *P. diminuta* and *B. subtilis* each at a dose of 10^8 cfu per seedling)
- K- = perlakuan kontrol negatif adalah perlakuan bibit kopi yang hanya diinokulasi *P. coffeae*, (*Negative untreated, were seedlings with P. coffeae inoculation only*), dan
- K+ = perlakuan kontrol positif, adalah perlakuan bibit yang tidak diinokulasi nematoda maupun bakteri. (*Positif untreated, were seedlings without inoculation both bacteria and P. coffeae*).

(BPF) jenis *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Bacillus megaterium*, dan *Chromobacterium* sp., rata-rata semuanya memiliki kemampuan melarutkan P terikat di media Pikovskaya padat dengan diameter sebesar 1,5–2,5 cm. dengan demikian fosfat menjadi tersedia bagi tanaman sebagai pupuk. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Setyawati & Mihardja (2008) juga mendapatkan bahwa bakteri *P. diminuta* dan *P. putida* 27.4B pada medium Pikovskaya menghasilkan enzim alkaline phosphatase yang mampu melarutkan fosfat, dan enzim tersebut pada kondisi di dalam tanah justru diproduksi lebih banyak. Di samping itu kedua bakteri ini menghasilkan asam-asam organik seperti asam sitrat, format, suksinat, asetat, propionate, butirat dan oksalat. Kedua spesies bakteri

Pseudomonas pelarut fosfat ini juga menghasilkan antibiotik yaitu dari jenis tetrasiklin, oksitetrasiklin dan penisilin. Secara *in vitro* kedua bakteri tersebut juga dapat menekan perkembangan fungi patogen *Rhizoctonia solani*.

KESIMPULAN

1. Bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* efektif menekan nematoda *P. coffeae* pada kopi Arabika dan berpengaruh baik terhadap pertumbuhan bibit.
2. Tingkat penekanan populasi *P. coffeae* tertinggi terjadi pada perlakuan *B. subtilis* dosis 10^8 cfu per bibit, dengan tingkat

penekanan 71,3% yang tidak berbeda nyata dengan nematisida kimia karbofuran yang mampu menekan populasi *P. coffeae* sebesar 89,7%. Perlakuan ini mampu meningkatkan pertumbuhan bibit sebesar 35,4% dibanding bibit yang tidak diinokulasi nematoda dan bakteri.

3. Perlakuan *P. diminuta* dosis 2.10^8 cfu/bibit mampu menekan populasi nematoda *P. coffeae* sebesar 64,2%, sedang kepadatan bakteri 10^8 cfu/bibit meningkatkan pertumbuhan bibit sebesar 34,2% dibanding bibit kopi tanpa diinokulasi nematoda serta bakteri.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Sdr. Ir. Slamet Haryono dan Sdr. Rosyidi yang telah membantu dalam melaksanakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Asyiah, I.N.; Soekarto; M. Husain & Reginawati (2010). Biocontrol of potato cyst nematoda *Globodera rostochiensis* by rhizobacter isolates on potato. *Proceeding International Biotechnology Seminar and 5th KBI Congress*. University of Muhammadiyah Malang, East Java, Indonesia.
- Baon, J.B.; S. Wiryadiputra & E. Sulistyowati (1988). Pengaruh infeksi mikoriza terhadap serangan nematoda *Pratylenchus coffeae* pada tanaman kopi. *Pelita Perkebunan*, 4, 22–30.
- Baon, J.B. & S. Wiryadiputra (1994). Perkembangan nematoda parasit pada kopi Robusta yang diinokulasi jamur mikoriza ber-VA. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II*. Bogor, 6-7 September 1994. p. 552–558.
- Dupponois, R.; A.M. Ba & T. Maeille (1998). Effects of some rhizosphere bacteria for the biocontrol of nematodes of the genus *Meloidogyne* with *Arthrobotrys oligospora*. *Fundamental Applied Nematology*, 21, 157–1634.
- Figueiredo; Seldin; Araujo & Mariano (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. *Microbiology Monographs*, 18, 21–43.
- Harni, R.; Supramana; M.S. Sinaga; Giyanto & Supriyadi (2012). Mekanisme bakteri endofit mengendalikan nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 23, 102–114.
- Harni, R., Supramana & Supriadi (2014). Efficacy of endophytic bacteria in reducing plat parasitic nematoda *Pratylenchus brachyurus*. *Indonesia Journal Agricultural Science*, 15, 29–34.
- Hemalatha, N.; N. Raja; A. Jayachitra; A. Rajalakshmi & N. Valarmathi (2013). Isolation and characterization of sulphate solubilizing bacteria and analyzing their effect in *Capsicum annum* L. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, 4, 159–167.
- Hrynkiewicz, K. & C. Baum (2012). The potential of rhizosphere microorganisms to promote the plant growth in disturbed soils. Chapter 2. p. 35–64. *In*: A. Malik & E. Grohmann (Eds.), *Environmental Protection Strategies for Sustainable Development*.
- Jonathan, E.I.; A. Sandeep; I. Cannayane & R. Umamaheswari (2006). Bioefficacy of *Pseudomonas fluorescens* on *Meloidogne incognita* in Banana. *Nematology Mediteranica*, 34, 19–25.
- Kavitha, P.G.; E.I. Jonathan & S. Nakkeeran (2012). Effect of crude antibiotic of

Bacillus subtilis on hatching of eggs and mortality of juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Nematology Mediteranica*, 40, 203–206.

- Muleta, D. (2007). *Microbial Input in Coffee (Coffea arabica L.) Production System, Southwestern Ethiopia. Implication for Promotion of Biofertilizers and Biocontrol Agents*. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Munif, A. & Kristiana (2012). Hubungan bakteri endofit dan nematoda parasit penyebab penyakit kuning pada tanaman lada di Provinsi Bangka Belitung. *Buletin Ristri*, 3, 77–78.
- Najiyati, S. & Danarti (1998). *Kopi. Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nugroharini (2012). *Nematoda Parasit Tanaman*. Penerbit UPN Press, Surabaya.
- Pikovskaya, R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17, 362–370.
- Popova, A.A.; O.A. Koksharova; V.A. Lipasova; J.V. Zaitseva; O.A. Katkova-Zhukotskaya; S.U. Eremina; A.S. Mironov; L.S. Chernin & I.A. Khmel (2014). Inhibitory and toxic effects of volatile emitted by strains of *Pseudomonas* and *Serratia* on growth and survival of selected microorganisms, *Caenorabditis elegans*, and *Drosophila melanogaster*. *BioMed Research International*, Article ID 125704, 11 pages.
- Rahanandeh, H.; G. Khodakaramian; A. Seraji; S.M. Asghari & A.R. Tarang (2012). Inhibition of tea root lesion nematode, *Pratylenchus Loosi*, by rhizosphere bacteria. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 2, 243–250.
- Rahanandeh, H.; G. Khodakaramian; N. Hassanzadeh; A. Seraji & S.M. Asghari (2013). Evaluation of antagonistic *Pseudomonas* against root lesion nematode of tea. *International Journal of Biosciences*, 3, 32–40.
- Rigamonte, T.A.; V.S. Pylro & G.F. Duarte (2010). The role of mycorrhization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae association. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 832–840.
- Setyawati, T.C. & P.A. Mihardja (2008). Identifikasi dan kuantifikasi bakteri pelarut fosfat dan pengaruhnya terhadap aktivitas *Rhizoctonia solani* pada tanaman kedele. *Jurnal Tanah Tropika*, 13, 233–240.
- Sharma, S.; V. Kumar & R.B. Tripathi (2011). Isolation of phosphate solubilizing microorganisms (PSMs) from soil. *Journal Microbiology Biotechnology Research*, 1, 90–95.
- Sikora, R.A.; K. Schafer & A.A. Dababat (2007). Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant-parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology*, 36, 124–134.
- Widawati, S. & Suliasih (2006). Populasi bakteri pelarut fosfat (BPF) di Cikaniki, Gunung Botol, dan Ciptarasa serta kemampuannya melarutkan P terikat di media Pikovskaya padat. *Biodiversitas*, 7, 109–113.
- Wiryadiputra, S. (1996). Ketahanan kopi Robusta terhadap nematode luka akar kopi (*Pratylenchus coffeae*). *Pelita Perkebunan*, 12, 137–148.
- Wiryadiputra, S. (2002). Pengaruh bionematisida berbahan aktif jamur *Paecilomyces lilacinus* strain 251 terhadap serangan *Pratylenchus coffeae* pada kopi Robusta. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 8, 18–26.
- Wiryadiputra, S.; W. Anggraini; J. Waluyo & Pujiastuti (2010). Pengaruh ekstrak biji sirsak (*Annona muricata*) terhadap perkembangan nematoda *Pratylenchus*

- coffea* pada tanaman kopi Arabika. *Pelita Perkebunan*, 26, 156–168.
- Wiryadiputra, S.; Y.D. Junianto; Siwi Indarti; Mulyadi; B. Rahayu & D. Widiyanto (2003). Pengaruh bakteri khitinolitik dan serbuk khitin terhadap populasi *Pratylenchus coffeae* dan pertumbuhan bibit kopi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 7, 45–53.
- Zheng, L.; G.Li; X. Wang; W. Pan; L. Li; H. Lv; F. Liu; L. Dang; M. Mo & K. Zhang (2008). Nematicidal endophytic bacteria obtained from plants. *Annals Microbiology*, 58, 569–572.

0