



**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI LAHAN KOPI YANG TERSERANG  
*Radopholus similis* TERHADAP PENETRASI *Pratylenchus coffeae*  
SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI LEAFLET**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Mar'atus Solikhah**  
**NIM 120210103040**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI LAHAN KOPI YANG TERSERANG  
*Radopholus similis* TERHADAP PENETRASI *Pratylenchus coffeae*  
SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI LEAFLET**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh  
**Mar'atus Solikhah**  
**NIM 120210103040**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

## PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, saya persembahkan skripsi ini dengan segala cinta dan kasih kepada:

1. Orang tua tercinta Ayahanda Syamsul Amin dan Ibunda Khudriyatin yang tiada henti mendoakan ku, memberikan segala nasihat, dukungan moril serta materiil;
2. Kakak tersayang Nurul Khafid dan Khusnul Khotimah yang selalu memberi semangat dan motivasi terbaik selama ini.

**MOTTO**

*”Cukuplah Allah menjadi penolong bagi kami dan Dia sebaik-baik pelindung”*

(QS. Ali Imron: 173)<sup>1)</sup>

*“Cara terbaik untuk meramalkan masa depan adalah dengan menciptakannya”*

(Peter Drucker)<sup>2)</sup>

---

<sup>1)</sup> Syaamil Al-Qur'an. 2012. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: PT. Sygma Exa Grafika

<sup>2)</sup> Ippho Santosa. 2010. *7 Keajaiban Rezeki*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mar'atus Solikhah

NIM : 120210103040

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Leaflet” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 25 Mei 2016

Yang menyatakan,

Mar'atus Solikhah

NIM. 120210103040

**SKRIPSI**

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI LAHAN KOPI YANG TERSERANG  
*Radopholus similis* TERHADAP PENETRASI *Pratylenchus coffeae*  
SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI LEAFLET**

Oleh  
Mar'atus Solikhah  
NIM 120210103040

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Iis Nur Asyiah SP., MP.  
Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Imam Mudakir M.Si.

**PERSETUJUAN**

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI LAHAN KOPI YANG TERSERANG  
*Radopholus similis* TERHADAP PENETRASI *Pratylenchus coffeae*  
SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI LEAFLET**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh:

**Nama Mahasiswa** : Mar'atus Solikhah  
**NIM** : 120210103040  
**Jurusan** : Pendidikan MIPA  
**Program Studi** : Pendidikan Biologi  
**Angkatan Tahun** : 2012  
**Daerah Asal** : Jombang  
**Tempat, Tanggal Lahir** : Jombang, 12 Juni 1994

Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

**Dr. Iis Nur Asyiah SP., MP**  
NIP. 19730614 200801 2 008

**Dr. Ir. Imam Mudakir M.Si**  
NIP. 19640510 199002 1 001

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Leaflet” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 22 Juni 2016

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Pembimbing utama,

Pembimbing anggota,

**Dr. Iis Nur Asyiah, SP., MP**  
NIP. 19730614 200801 2 008

**Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si**  
NIP. 19640510 199002 1 001

Penguji utama,

Penguji anggota,

**Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.**  
NIP. 19600309 198702 2 002

**Dra. Pujiastuti, M.Si.**  
NIP. 19610222 198702 2 001

Mengesahkan  
Dekan FKIP Universitas Jember,

**Prof. Dr. Sunardi, M.Pd**  
NIP. 19540501 198303 1 005

## RINGKASAN

**Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Leaflet;** Mar'atus Solikhah; 120210103040; 2016; 96 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA; Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan; Universitas Jember.

Nematoda *Pratylenchus coffeae* merupakan organisme pengganggu tanaman yang menyerang pertanian utama di Indonesia dan negara-negara tropis lainnya salah satunya adalah pada lahan kopi Arabika (*Coffeae arabica*). Serangan nematoda dapat menghambat proses pengangkutan unsur hara pada akar tanaman dan menyebabkan gejala klorosis pada daun, tanaman menjadi kerdil, ukuran buah mengecil dan penipisan kanopi sehingga dapat menurunkan produksi baik kuantitas maupun kualitas. Berdasarkan kerusakan yang diakibatkan oleh serangan nematoda maka perlu dilakukan pengendalian. Pengendalian menggunakan nematisida dapat menimbulkan dampak negatif dan mengganggu keseimbangan ekosistem. Pengendalian nematoda menggunakan bakteri endofit menjadi salah satu komponen pengendalian ramah lingkungan yang keberadaannya tidak membahayakan inang. Pengendalian menggunakan bakteri endofit merupakan bagian dari pengelolaan komunitas mikroorganisme dalam suatu ekosistem. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi inokulasi bakteri endofit terhadap penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit kopi Arabika (*Coffeae arabica* L.)

Pengambilan sampel bakteri endofit dari lahan perkebunan Kopi Arabika di daerah Ijen-Raung, Kabupaten Bondowoso, Jawa Timur pada tanaman kopi yang sehat diantara tanaman yang menunjukkan gejala serangan nematoda *Radopholus similis*. Tahap pembibitan tanaman kopi Arabika dan ekstraksi nematoda *Pratylenchus Coffeae* dilaksanakan di Laboratorium Perlindungan Tanaman dan Kebun Percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi Kakao Indonesia, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember. Tahap inokulasi bakteri dan nematoda dilaksanakan

di rumah kaca Perum Istana Tidar B1/1, Kaliurang Jember. Tahap Reisolasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember dan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember.

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 5 September 2015 sampai tanggal 25 Januari 2016. Penelitian menggunakan Rancangan acak lengkap dengan 8 perlakuan, masing-masing perlakuan terdapat 3 ulangan dan setiap ulangan terdapat 2 unit tanaman. Penelitian terdiri atas 2 tahap yaitu tahap persiapan dan tahap inokulasi. Tahap inokulasi berlangsung selama 24 hari. Sepuluh hari inokulasi bakteri endofit kemudian 2 minggu inokulasi nematoda. Data yang dianalisis menggunakan uji Anova. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa inokulasi bakteri endofit pada tanaman memberikan pengaruh nyata terhadap penekanan penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* ( $p=0,000$ ) dan berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan tanaman tanpa perlakuan inokulasi bakteri endofit. Inokulasi bakteri endofit pada tanaman dapat menekan jumlah penetrasi nematoda sebesar 38.95% hingga 95.56%. Hasil tersebut dibuktikan dengan hasil reisolasi bakteri endofit yang tumbuh pada akar kopi Arabika. Hasil reisolasi menunjukkan kesamaan dengan ciri morfologi koloni bakteri induk. Hasil uji validasi leaflet menunjukkan bahwa skor yang diperoleh dari 2 validator adalah sebesar 35,5 dari skor maksimal sebesar 44 dengan presentase sebesar 80,68%.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian bakteri endofit pada bibit kopi Arabika dapat menekan jumlah nematoda *Pratylenchus coffeae* yang masuk kedalam jaringan akar dan bakteri endofit yang diinokulasikan dapat tumbuh pada bibit akar kopi Arabika. Serta leaflet layak digunakan sebagai sumber informasi bagi masyarakat.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Leaflet”. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang berjudul “Pemanfaatan Bakteri Endofit dalam Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika” yang didanai oleh Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi DIKTI 2015, dan diketuai oleh Dr. Iis Nur Asyiah, SP., MP. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
4. Dr. Jekti Prihatin, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Dr. Iis Nur Asyiah, SP., MP., selaku Dosen Pembimbing Utama dan selaku pemberi dana penelitian melalui proyek penelitian yang didanai oleh Hibah PUPT DIKTI 2015 yang telah membimbing, memberikan semangat, meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
6. Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si., selaku Dosen pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam proses penulisan skripsi ini;
7. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., dan Dra. Pujiastuti, M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran-saran dalam penulisan skripsi ini;
8. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, atas semua bimbingan dan ilmu yang diberikan;

9. Keluarga Besar Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Ibu Suci Dwi Rahayu selaku peneliti sub Laboratorium Nematologi dan Ir. Slamet Haryono serta Bapak Rosidi selaku teknisi sub Laboratorium Nematologi;
10. Teknisi Laboratorium Program Studi Pendidikan Biologi, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi;
11. Vendi Eko Susilo, S.Pd., M.Si, dan Aris Budiman, SP. selaku validator leaflet yang telah memberikan penilaian serta saran-saran untuk perbaikan leaflet menjadi lebih baik;
12. Keluarga besar Bapak Edie Prasetyo, Dr. Iis Nur Asyiah, SP., MP, Airlangga Putra Prasetyo dan Kania Ceta Putri Prasetyo;
13. Keluarga besar “Endofit” Winda Oik, Gepsi Aprillia, Teteh Yenny, Intan, Mbak Eva dan “Mikoriza” Kak Rotul, Kak Danti, Rizka Haqi, Siska, Bundo Fia, Ellena Lilipali, Ervan Prasetyo, Wulan Anggraeni serta Mbak Rifa, Mas dodik, Buk Mul yang senantiasa membantu saat proses penelitian;
14. Teman sekaligus kakak, Mbak Fany, Nofi, Kikik, Latif, Ardi, Ervan, Teteh Yenny, Elok yang telah memberikan pengalaman begitu luar biasa;
15. Seluruh teman-teman angkatan 2012 Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
16. Teman-teman Kos Kalimantan 1 Gang Citra No.45, Maulfi Aida, Putri Sakinah, Siti Lailatus, Nia, Riza, Eva, Siti, Riza Kusuma dan Ilha yang telah memberikan semangat terbaiknya;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga semua doa, bimbingan, pengalaman yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Akhir kata semoga dengan adanya skripsi ini dapat memberikan sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkannya.

Jember, 25 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Batasan Masalah</b> .....	4
<b>1.4 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.5 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Nematoda</b> .....	6
2.1.1 Deskripsi Umum Nematoda.....	6
2.1.2 Klasifikasi Nematoda <i>P. coffeae</i> dan <i>R. similis</i> .) .....	8
2.1.3 Siklus Hidup Nematoda .....	9
2.1.4 Deskripsi Nematoda <i>P. coffeae</i> .....	10

2.1.5 Deskripsi Nematoda <i>R.similis</i> .....	12
2.1.6 Tanaman Kopi Arabika yang Terserang Nematoda .....	14
2.1.7 Pengendalian Nematoda .....	15
<b>2.2 Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)</b> .....	16
2.2.1 Deskripsi Kopi Arabika ( <i>Coffea arabica</i> L.) .....	16
2.2.2 Klasifikasi Nematoda <i>P. coffeae</i> dan <i>R. similis</i> .....	18
2.2.3 Syarat Tumbuh Kopi Arabika ( <i>Coffea Arabica</i> L.) .....	18
2.2.4 Lahan yang Terserang Nematoda <i>R.similis</i> .....	19
<b>2.3 Bakteri Endofit</b> .....	20
2.3.1 Deskripsi Bakteri Endofit .....	20
2.3.2 Bakteri Endofit sebagai Agen Hayati .....	21
2.3.3 Mekanisme Pengendalian Nematoda <i>P. coffeae</i> .....	22
<b>2.4 Leaflet</b> .....	23
<b>2.5 Kerangka Berpikir</b> .....	25
<b>2.6 Hipotesis Penelitian</b> .....	26
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	25
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	27
<b>3.2 Tempat dan Waktu</b> .....	27
3.2.1 Tempat Penelitian .....	27
3.2.2 Waktu Penelitian .....	27
<b>3.3 Identifikasi Variabel Penelitian</b> .....	27
3.3.1 Variabel Bebas .....	27
3.3.2 Variabel Terikat .....	28
3.3.3 Variabel Kontrol .....	28
<b>3.4 Definisi Operasional</b> .....	28
<b>3.5 Desain Penelitian</b> .....	29
<b>3.6 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	30
3.6.1 Populasi Penelitian .....	30
3.6.2 Sampel Penelitian .....	30

<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	30
3.7.1 Alat Penelitian .....	30
3.7.2 Bahan Penelitian .....	30
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	31
3.8.1 Persiapan Media Tanam .....	31
3.8.2 Pembibitan Tanaman Kopi Arabika .....	31
3.8.3 Peremajaan Isolat Bakteri .....	31
3.8.4 Inokulasi Bibit Kopi Arabika .....	32
3.8.5 Ekstraksi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	32
3.8.6 Identifikasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	33
3.8.7 Perhitungan Jumlah nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	33
3.8.8 Inokulasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	34
3.8.9 Pemeliharaan Tanaman .....	34
3.8.10 Pembongkaran Bibit Kopi Arabika .....	34
3.8.11 Pengamatan Penetrasi <i>P.coffea</i> pada Bibit Kopi Arabika .....	35
3.8.12 Reisolasi Bakteri Endofit Aada Akar Kopi .....	35
<b>3.9 Leaflet</b> .....	35
<b>3.10 Uji Validasi Leaflet</b> .....	36
<b>3.11 Teknik Analisis Data</b> .....	36
3.11.1 Analisis Data Penelitian dan Kesimpulan .....	36
3.11.2 Analisis Data Validasi Leaflet .....	37
<b>3.12 Alur Penelitian</b> .....	37
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	39
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	40
4.1.1 Pengamatan Mikroskopis Isolat Murni Bakteri Endofit ....	40
4.1.2 Hasil Identifikasi Nematoda <i>Radopholus similis</i> .....	44
4.1.3 Hasil Identifikasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	47
4.1.4 Hasil Pemberian Bakteri Endofit Terhadap Nematoda .....	48
4.1.5 Perbandingan Isolat Induk dengan Isolat Hasil Reisolasi ..	51

4.1.6 Hasil Penilaian Validasi Leaflet .....	54
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	58
4.2.1 Isolat Murni Bakteri Endofit Setelah Pewarnaan .....	58
4.2.2 Identifikasi Nematoda <i>Radopholus similis</i> .....	60
4.2.3 Identifikasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	61
4.2.4 Pengaruh Pemberian Bakteri Endofit terhadap Nematoda .....	62
4.2.5 Reisolasi Bakteri Endofit .....	65
4.2.6 Penilaian Validasi Leaflet .....	67
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	69
5.1 Kesimpulan .....	69
5.2 Saran .....	69
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	70
<b>LAMPIRAN</b> .....	78

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 3.1 Validator Penilai Leaflet .....	36
Tabel 3.2 Uji Anova.....	37
Tabel 3.3 Skor Terendah dan Tertinggi Analisis Leaflet .....	37
Tabel 3.4 Kriteria Validasi leaflet .....	38
Tabel 4.1 Pengamatan Makroskopis Isolat Murni Bakter Endofit.....	41
Tabel 4.2 Hasil Inokulasi Bakteri terhadap Jumlah Nematoda .....	49
Tabel 4.3 Hasil Perbandingan Karakteristik Morfologi Koloni.....	51
Tabel 4.4 Hasil Uji Validasi Leaflet .....	48

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Berbagai Macam Bentuk Tubuh Nematoda .....	7
Gambar 2.2 Siklus Hidup <i>Pratylenchus</i> spp .....	9
Gambar 2.3 Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	10
Gambar 2.4 Struktur Nematoda <i>Radopholus similis</i> .....	11
Gambar 2.5 Struktur Kepala dan Ekor Nematoda <i>R.similis</i> .....	13
Gambar 2.6 Struktur Kepala dan Tubuh Nematoda <i>R.similis</i> .....	14
Gambar 2.7 Perbandingan Akar Kopi Sehat dan Terserang Nematoda .....	15
Gambar 2.8 Akar Kopi Membusuk Terserang Nematoda .....	15
Gambar 2.9 Penampilan Kopi Arabika ( <i>Coffeae arabica</i> L.) .....	17
Gambar 2.10 Skema Kerangka Berpikir .....	23
Gambar 3.1 Alur Inokulasi Bakteri Endofit dan Nematoda <i>P. coffeae</i> .....	34
Gambar 3.2 Alur Penelitian .....	35
Gambar 4.1 Nematoda <i>Radopholus similis</i> Betina .....	45
Gambar 4.2 Gejala Kerusakan Tanaman Kopi Arabika.....	46
Gambar 4.3 Kenampakan Akar Sehat dan Akar Terserang Nematoda.....	46
Gambar 4.4 Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> Betina .....	47
Gambar 4.5 Hasil Pengamatan Penetrasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> .....	50
Gambar 4.6 Leaflet Bagian Depan Sebelum Perbaikan.....	55
Gambar 4.7 Leaflet Bagian belakang Sebelum Perbaikan.....	55

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Nematoda merupakan salah satu jenis organisme pengganggu tanaman (OPT) penting yang menyerang berbagai jenis tanaman pertanian utama di Indonesia dan Negara-negara tropis lainnya (Mustika, 2010). Nematoda *P.coffeae* merupakan nematoda endoparasit berpindah yang menyerang akar tanaman dan menyebabkan terjadinya luka akar (*root lesion*) sehingga pengangkutan hara tanaman terganggu. Infeksi nematoda dapat mempengaruhi proses fisiologi dan menjadi penghambat terhadap reproduksi (Harni, 2011). Serangan nematoda ini dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu dan menurunkan produksi baik kuantitas maupun kualitas. Serangan *P.coffeae* pada kopi Robusta dapat menurunkan produksi sampai 57%, sedangkan serangan *R.similis* bersama-sama dengan *P.coffeae* pada kopi Arabika dapat mengakibatkan kerusakan 80% dan tanaman akan mati pada umur kurang dari 3 tahun (Harni, 2013: 110). Menurut Wiyono (2010) organisme pengganggu tanaman (OPT) merupakan faktor pembatas produksi tanaman di Indonesia baik tanaman pangan, hortikultura maupun perkebunan.

Berdasarkan kerusakan yang diakibatkan oleh serangan nematoda maka perlu dilakukan pengendalian. Pengendalian nematoda dengan menggunakan nematisida kimia atau secara sintesis masih banyak digunakan oleh masyarakat. Pengendalian ini dianggap paling mudah diterapkan pada lahan perkebunan serta memberikan hasil yang memuaskan. Namun pengendalian dengan menggunakan nematisida, tanaman menjadi resisten terhadap beberapa patogen, sekaligus dapat membunuh musuh alami tanaman, serta dapat mengganggu keseimbangan ekosistem. Hal ini juga disampaikan oleh Harni (2011) bahwa cara pengendalian nematoda dengan menggunakan nematisida sintesis dapat menimbulkan dampak negatif berupa patogen lebih resisten, musuh alami yang bermanfaat ikut terbunuh, keseimbangan ekosistem terganggu, dan keracunan pada manusia dan hewan peliharaan.

Menurut Bacon dan Hinton (2007:155) pengendalian nematoda menggunakan bakteri endofit merupakan salah satu komponen pengendalian ramah lingkungan yang pada akhir-akhir ini banyak digunakan sebagai pengendalian biologi. Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dan dapat bersaing dengan patogen serta keberadaannya dalam jaringan tanaman tidak membahayakan inangnya (Hayward dan Hartman, 1994). Bakteri endofit menjadi sumber strain agen hayati yang menjanjikan dibandingkan dengan bakteri rizosfer karena kurangnya kompetisi dengan bakteri lain dalam apoplast (Sigeo, 1993). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Harni, 2011) bahwa bakteri endofit mampu menekan penetrasi dan populasi *P.brachyurus* ke dalam akar tanaman nilam sebesar 54,8-70,6%, hal ini juga disampaikan Wibowo (2013) bahwa isolat bakteri endofit mampu menekan jumlah puru nematoda *Meloidogyne incognita* pada akar tanaman tomat.

Isolat bakteri endofit yang digunakan adalah isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari jaringan akar tanaman Kopi Arabika (*Coffeae arabica*) sehat diantara tanaman Kopi Arabika (*Coffeae arabica*) yang sakit. Tanaman Kopi Arabika (*Coffeae arabica*) yang sehat diduga mempunyai daya tahan terhadap serangan nematoda. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman Kopi Arabika (*Coffeae arabica*) yang secara morfologi terlihat sehat diduga memiliki perlindungan secara alami dari bakteri endofit. Pada dasarnya pengetahuan tentang pemanfaatan bakteri endofit sebagai penekan penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada tanaman Kopi Arabika belum diketahui oleh masyarakat luas terutama bagi petani kopi. Petani kopi menggunakan nematisida sebagai pengendali terhadap serangan nematoda. Pengetahuan tentang pemanfaatan bakteri endofit ini hanya diketahui oleh kalangan peneliti. Rendahnya pengetahuan masyarakat tentang pemanfaatan bakteri endofit sebagai pengendali serangan nematoda merupakan hambatan bagi produktivitas Kopi Arabika. Oleh karena itu perlu dilakukan sosialisasi mengenai pemanfaatan bakteri endofit sebagai penekan penetrasi nematoda yang disajikan dalam bentuk selebaran informasi atau leaflet. Diharapkan dengan adanya selebaran informasi/ Leaflet ini dapat menambah

pengetahuan dasar bagi masyarakat luas khususnya petani, bahwa nematoda *Pratylenchus Coffeae* dapat dikendalikan secara alami dan tidak menimbulkan dampak negatif sehingga hasil panen Kopi Arabika dapat meningkat dan berdampak baik bagi kesejahteraan petani.

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian yang berjudul “Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Leaflet”.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

- a. Apakah bakteri endofit yang berasal dari lahan kopi Arabika yang terserang nematoda *Radopholus similis* mampu menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika?
- b. Bakteri endofit manakah yang paling berpotensi dalam menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika?
- c. Apakah hasil penelitian tentang Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* layak digunakan sebagai materi dalam penyusunan leaflet?

## 1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah yang digunakan dalam penelitian ini maka diberi batasan masalah sebagai berikut:

- a. Potensi yang diteliti dalam penelitian ini adalah kemampuan bakteri endofit dalam menurunkan jumlah penetrasi dalam jaringan akar bibit Kopi Arabika.
- b. Bakteri endofit yang digunakan adalah bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang berasal dari akar tanaman Kopi Arabika yang sehat

diantara tanaman kopi yang menunjukkan gejala terserang nematoda *Radopholus similis* pada lahan perkebunan Kopi Arabika di daerah Ijen-Raung, Kabupaten Bondowoso, Jawa Timur.

- c. Bakteri endofit diujikan dalam bibit kopi Arabika varietas Lini S.
- d. Nematoda *Pratylenchus Coffeae* diperoleh dari hasil ekstraksi akar Kopi Arabika dengan menggunakan Metode Baermann yang dimodifikasi pada perkebunan Kaliwining, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember.
- e. Bibit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang digunakan adalah bibit Kopi Arabika yang berumur 3 bulan.
- f. Nematoda yang digunakan adalah nematoda *Pratylenchus Coffeae* pada fase juvenile dan dewasa.
- g. Produk penelitian yang dihasilkan adalah berupa leaflet, merupakan sehelai kertas dari bahan agak kaku yang mudah dilipat sebagai sarana untuk menginformasi dan mengkomunikasikan hasil penelitian.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan yang dapat dicapai dalam penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui potensi bakteri endofit yang berasal dari lahan kopi Arabika yang terserang nematoda *Radopholus similis* dapat menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.).
- b. Mengetahui bakteri endofit yang paling berpotensi dalam menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika.
- c. Mengetahui kelayakan hasil penelitian tentang Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* digunakan sebagai materi dalam penyusunan leaflet.

## 1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan manfaat sebagai berikut:

- a. Bagi peneliti, dapat mengetahui bahwa bakteri endofit dari lahan kopi yang terserang *Radopholus similis* dapat bermanfaat dalam menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika.
- b. Bagi Lembaga, dengan adanya penelitian ini dapat menambah informasi tentang penelitian unggulan Universitas.
- c. Bagi peneliti lain, dapat digunakan sebagai acuan atau sumbangan pemikiran terhadap penelitian selanjutnya yang berkenaan dengan pemanfaatan bakteri endofit dalam menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus Coffeae* pada bibit Kopi Arabika atau penelitian yang sejenis.
- d. Bagi masyarakat umum, dengan adanya penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan wawasan atau informasi bahwa *Pratylenchus coffeae* dapat dikendalikan secara alami dan ramah lingkungan sehingga hasil panen Kopi Arabika dapat meningkat dan berdampak baik bagi kesejahteraan petani.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Nematoda

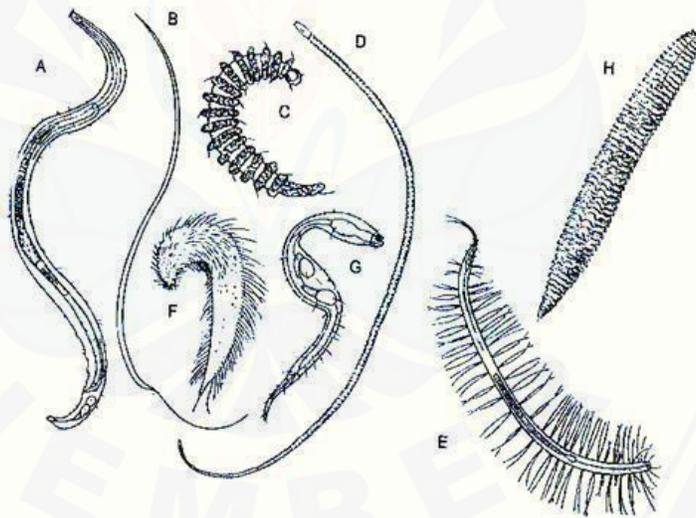
#### 2.1.1 Deskripsi Umum Nematoda

Nematoda merupakan salah satu jenis organisme pengganggu tanaman (OPT) penting yang menyerang berbagai jenis tanaman pertanian utama di Indonesia dan negara-negara tropis lainnya. Nematoda adalah cacing halus yang hidup sebagai saprofit di dalam air dan tanah, atau sebagai parasit pada tanaman dan hewan. Nematoda yang hidup sebagai parasit pada tanaman memiliki stilet yang berfungsi untuk mengisap sel-sel tanaman sehingga fungsi fisiologi tanaman terganggu Mustika (2010). Menurut Wiyono (2010) organisme pengganggu tanaman (OPT) merupakan faktor pembatas produksi tanaman di Indonesia baik tanaman pangan, hortikultura maupun perkebunan. Organisme pengganggu tanaman secara garis besar dibagi menjadi tiga yaitu hama, penyakit dan gulma. Hama menimbulkan gangguan tanaman secara fisik, dapat disebabkan oleh serangga, tungau, vertebrata, moluska. Sedangkan penyakit menimbulkan gangguan fisiologis pada tanaman, disebabkan oleh cendawan, bakteri, fitoplasma, virus, viroid, nematoda dan tumbuhan tingkat tinggi.

Nematoda adalah mikroorganisme yang berbentuk cacing, bentuk tubuh bilateral simetris, dan *species* nya bersifat parasit pada tumbuhan, berukuran sangat kecil yaitu antara 300 – 1000 mikron, panjangnya sampai 4 mm dan lebar 15 – 35 mikron. Karena ukurannya yang sangat kecil ini menyebabkan nematoda ini tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, akan tetapi hanya bisa dilihat dengan mikroskop (Nugroharini, 2012: 4). Dinding tubuh tersebut terdiri atas kutikula bagian luar, lapisan antara, hipodermis dan bagian dalam berupa otot-otot yang membujur. Kutikula merupakan struktur yang aktif terdiri dari protein dan enzim. Selama siklus hidupnya nematoda mengalami empat kali pergantian kutikula. Di bawah kutikula terdapat epidermis ciri khusus dari nematoda parasit tanaman adalah adanya stilet pada bagian kepalanya yang berfungsi sebagai alat untuk masuk ke dalam jaringan

tanaman dan makan cairan sel. Ciri khusus ini merupakan perbedaan morfologi utama antara nematoda parasit tanaman (fitoparasit) dengan kelompok nematoda lainnya (Nugroharini,2012: 39)

Mekanisme masuknya nematoda ke dalam jaringan akar dipengaruhi oleh enzim selulase. Williams dan Bridge (1983) menyebutkan bahwa larva nematoda masuk ke dalam bagian akar yang masih lunak dengan cara mengeluarkan enzim selulase, yaitu merombak selulosa. Selulosa merupakan bahan penyusun dinding sel. Akibat larutnya selulosa maka akan terjadi rongga pada sel-sel penyusun akar. Setelah sel akar rusak, nematoda berpindah ke bagian korteks akar, menetap, dan berkembang biak. Infestasi primer dilakukan oleh nematoda betina yang memasuki ujung rambut akar, kemudian membuat terowongan longitudinal melalui parenkim. Berikut ini adalah berbagai macam bentuk tubuh nematoda secara umum dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Berbagai macam bentuk tubuh nematoda A, Echinotheristus; B, Halalaimus; C, Desmocolex; D, Pselionema; E, Trichotheristus; F, Richtersia; G, Dracograllus; H, Criconema, *Pratylenchus* memiliki bentuk tubuh tipe A Sumber : (Whitehead, 1998).

### 2.1.2 Klasifikasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan *Radopholus similis*

*Pratylenchus coffeae* di deskripsikan pertama kali dari akar kopi di pulau Jawa, Indonesia sebagai *Tylenchus coffeae* (Zimmerman, 1898). Genus *Pratylenchus* di temukan oleh Filipjev pada tahun 1936. Pada tahun 1941, Filipjev beserta Schuurmans Stekhoven mengubah *T. coffeae* menjadi genus *Pratylenchus*. Dibawah ini adalah klasifikasi *Pratylenchus coffeae* menurut Siddiqi (2000):

Phylum : Nematoda  
Class : Secernentea  
Subclass : Tylenchia  
Order : Tylenchida  
Suborder : Tylenchina  
Superfamily : Hoplolaimoidea  
Family : Pratylenchidae  
Subfamily : Pratylenchinae  
Genus : *Pratylenchus*  
Species : *Pratylenchus coffeae*

Sumber: (Zimmermann, 1898) Filipjev and Schuurmans Stekhoven, 1941.

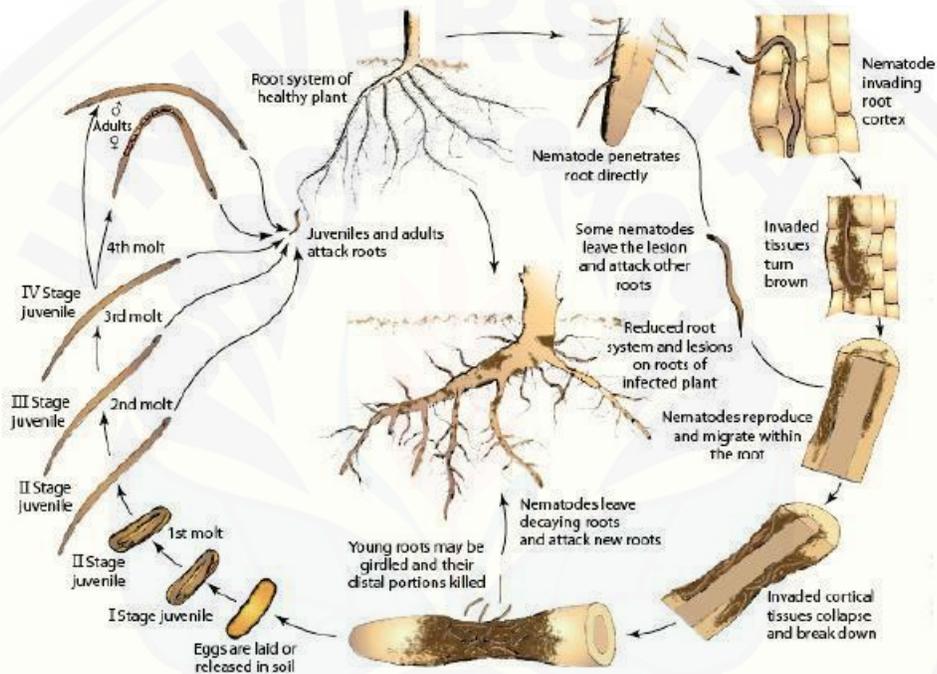
Kedudukan *Radopholus similis* dalam sistematika (taksonomi) hewan adalah:

Kingdom : Animalia  
Subkingdom : Bilateria  
Infrakingdom : Protostomia  
Superphylum : Ecdysozoa  
Phylum : Nematoda  
Class : Chromadorea  
Order : Tylenchida  
Family : Hoplolaimidae  
Genus : *Radopholus*  
Spesies : *Radopholus similis*

Sumber: (ITIS, 2015).

### 2.1.3 Siklus Hidup Nematoda

Siklus hidup nematoda terdiri dari 6 tahap: telur, stadium juvenile dan dewasa. Masa siklus hidup setiap tahap berbeda, tergantung pada beberapa faktor seperti suhu, kelembapan dan inang tanaman yang ditumpangi. Pada kondisi yang menguntungkan seperti pada musim panas, siklus hidupnya relatif singkat (Coyne *et al.*, 2007). Siklus hidup nematoda *Pratylenchus coffeae* ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Siklus hidup dan siklus penyebaran penyakit (infeksi nematoda) *Pratylenchus* spp. (Sumber: Agrios, 2005).

*Pratylenchus coffeae* dan *Radopholus similis* merupakan nematoda endoparasit yang berpindah-pindah. Daur hidup *P. coffeae* sekitar 45 hari sedang untuk *R. similis* sekitar satu bulan (Puslitkoka, 2012). *Pratylenchus coffeae* memiliki masa inkubasi telur selama 15-17 hari, perkembangan larva hingga menjadi dewasa sekitar 15-16 hari dan perkembangan nematoda dewasa hingga meletakkan telur sekitar 15 hari (Mustika, 2003). Siklus hidup nematoda sangat sederhana sekali yaitu betina meletakkan telur kemudian telur-telur tersebut menetas menjadi larva. Dalam banyak hal, larva-larva ini menyerupai nematoda, hanya ukurannya lebih kecil. Selain

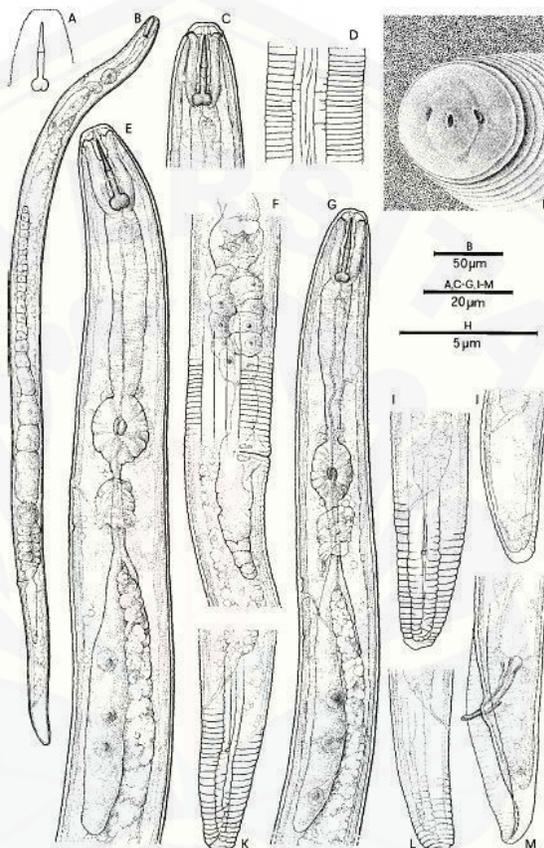
nematoda dewasa dan telur, dalam siklus hidup nematoda terdapat 4 stadia larva dan empat kali pergantian kulit. Stadia larva pertama berkembang dalam telur dan pergantian kulit pertama biasanya terjadi di dalam telur. Dari pergantian kulit pertama muncul stadia larva dua, yang bergerak bebas ke dalam tanah dan masuk ke dalam jaringan tanaman. Apabila nematoda stadia larva dua tersebut mulai makan pada jaringan inang yang cocok, terjadi pergantian kulit kedua, ketiga dan keempat yang menghasilkan berturut-turut larva stadia tiga, empat dan lima atau stadia dewasa (Mustika, 2003). Jika jaringan akar telah rusak, nematoda betina meninggalkan akar yang terinfeksi dan bermigrasi melalui tanah ke akar atau tanaman lain yang masih sehat (Semangun, 2001).

Secara umum, siklus hidup nematoda parasit berlangsung selama 25-35 hari, bergantung pada jenis nematoda, tanaman inang, dan keadaan lingkungan tanah (suhu, kelembaban, tekstur) (Mustika, 2003). Daya bertahan tetap hidup (*survival*), pembiakan, dan dinamika populasi nematoda sangat dipengaruhi oleh temperatur, kelembaban, durasi penyinaran matahari, dan faktor – faktor edafik (faktor – faktor yang terkait dengan tanah) (Hadisoeganda, 2006: 23).

#### 2.1.4 Deskripsi Nematoda *Pratylenchus coffeae* (Nematoda Peluka Akar).

Nematoda *P.coffeae* merupakan nematoda endoparasit berpindah yang menyerang akar tanaman kopi dan menyebabkan terjadinya luka akar (*root lesion*) sehingga pengangkutan hara tanaman terganggu. Luka akibat serangan nematoda juga merupakan jalan masuk bagi patogen lain, seperti jamur dan bakteri (Harni, 2013: 110). Nematoda betina memiliki bagian vulva posteriornya mencapai 70-80% panjang tubuhnya. Sistem genitalia yang tunggal. Bagian anteriornya bercabang secara langsung (*monoprodelfic*), dan vulva bagian belakang yaitu kantung uterus yang menunjukkan perbedaan dengan jantan, tapi bagian ini tidak berfungsi. Memiliki spermateca yang besar yang berisi sperma jantan jika ada, bentuk ekor sub-silinder atau ekor meruncing tetapi kecil dengan ujung lebar, membulat dan berbentuk persegi. Sedangkan pada nematoda jantan memiliki ekor yang pendek, tubuh bagian dorsalnya lebih cembung, memiliki spikula yang lunak, dan ujung ekor

memanjang (Tuyet, 2010:4). Berikut ini adalah struktur morfologi dari nematoda *Pratylenchus coffeae* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Nematoda *Pratylenchus coffeae*. A: *Stylet* betina; B : nematoda betina; C : bagian depan nematoda betina; D : bagian samping nematoda betina; E : bagian paringeal nematoda betina; F : bagian vulva nematoda betina; G : bagian paringeal nematoda jantan; H : bagian kepala nematoda betina; I-L : bentuk ekor nematoda betina; M: bentuk ekor nematoda jantan. Sumber: (Castilo dan Volvas, 2007: 86).

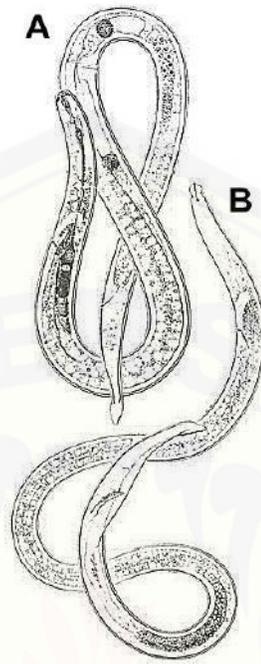
Nematoda ini mempunyai lebar tubuh antara 40  $\mu\text{m}$  hingga 160  $\mu\text{m}$ , dengan panjang tubuh antara 0,4-0,7 mm, sedangkan diameter tubuh 20-25  $\mu\text{m}$  (Agrios, 1997). Rata-rata ukuran dari *stylet* pada genus *Pratylenchus* adalah 16  $\mu\text{m}$ , tetapi tergantung pada spesies nya, ukuran *stylet* dapat pendek sekali dengan ukuran 11,5  $\mu\text{m}$  (Castilo, 2007). Dalam umbi kentang di Jepang, dewasa *P. coffeae* muncul di

sekitar 2 minggu setelah menetas dan rentang hidup rata-rata adalah sekitar 27 hari di suhu 25-30°C (Tuyet, 2010: 7).

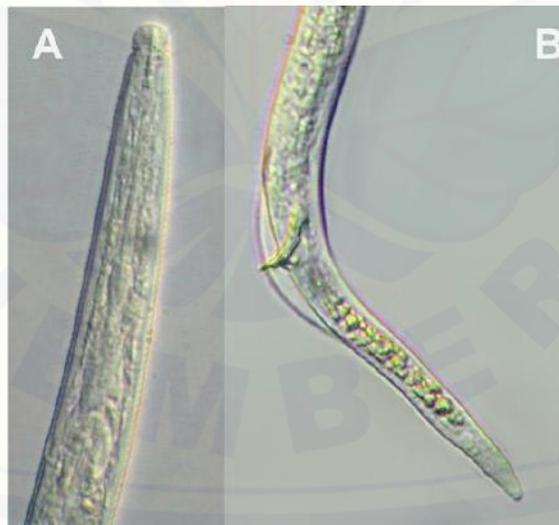
#### 2.1.5 Deskripsi Nematoda *Radopholus similis* (Nematoda Pelubang Akar)

Nematoda *R.similis* adalah nematoda endoparasit berpindah. Semua tahap juvenile motil dan nematoda betina dapat menginfeksi seluruh jaringan akar. Setelah nematoda berpenetrasi kedalam jaringan akar, nematoda akan makan dan bermigrasi ke jaringan parenkim dan stele. Nematoda jantan tidak menginfeksi jaringan akar. (Kaplan dan Opperman 2000 dalam Sikora, 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Hulupi *et al.*, 2007) yaitu tentang sebaran populasi nematoda *Radopholus similis* pada perkebunan kopi Arabika di Blawan yang diambil dari akar yang sama namun pada dua macam kedalaman tanah yang berbeda yaitu kurang dari 30 cm dan lebih dari 50 cm menunjukkan bahwa jumlah populasi nematoda *Radopholus similis* lebih banyak pada lahan yang kedalamannya lebih dari 50 cm.

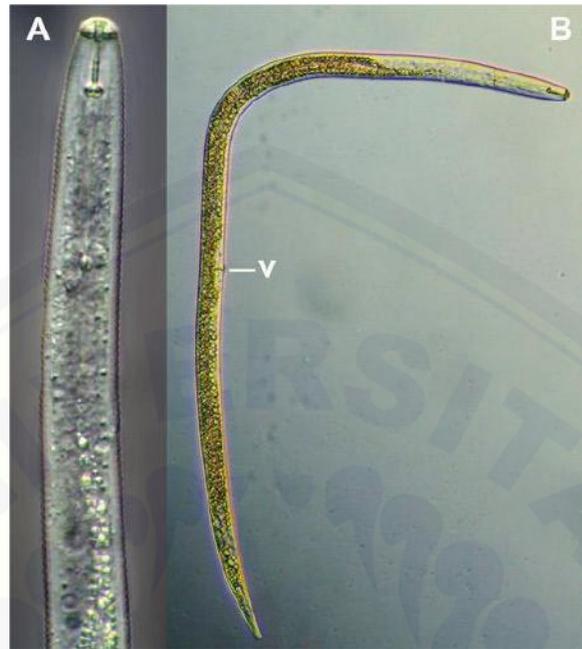
Nematoda betina mudah dikenali karena mempunyai bibir yang mendatar dan posisi vulva agak kebelakang dari pertengahan badan. Nematoda betina memiliki panjang tubuh = 614 µm, panjang stilet = 19 µm, panjang ekor = 64 µm. Diameter tubuh = 24 µm, letak vulva = 59 %. Nematoda jantan mempunyai kepala yang membulat dan stilet yang kurang berkembang. Nematoda jantan memiliki panjang tubuh = 614 µm, panjang stilet = 13 µm, panjang ekor = 70 µm, panjang spikula = 18 µm, diameter tubuh = 17 µm. Secara keseluruhan nematoda dewasa *Radopholus similis* panjang sekitar 0,6-0,7 mm. Nematoda jantan muncul agak lambat dan khusus di tempat-tempat yang paling sedikit nematodanya telah berkembang satu generasi (Semangun, 2001). Perbedaan struktur tubuh nematoda *Radopholus similis* jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 2.4, 2.5 dan 2.6 berikut ini.



Gambar 2.4 Struktur nematoda *Radopholus similis*. A: Struktur nematoda betina; B: Struktur nematoda jantan. (Sumber: Siddiqi, 1973 dalam Sikora, 2012).



Gambar 2.5 Struktur Kepala dan Ekor Nematoda *Radopholus similis*. A: Kepala nematoda jantan; B: Ekor nematoda betina. (Sumber: Sikora, 2012).

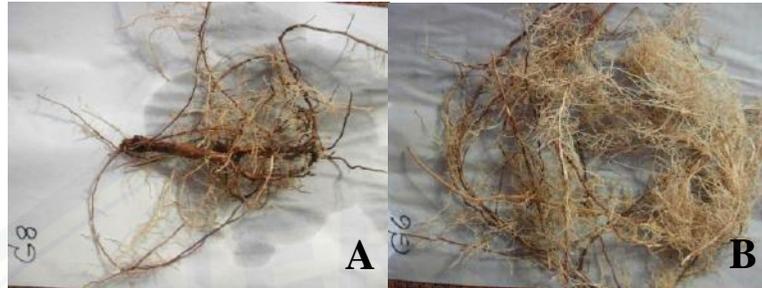


Gambar 2.6 Struktur Kepala dan Tubuh Nematoda *Radopholus similis*. A: Kepala nematoda betina; B: tubuh nematoda betina dengan vulva terletak di pertengahan tubuh. (Sumber: Sikora, 2012).

#### 2.1.6 Tanaman kopi Arabika yang Terserang Nematoda

Gejala penyakit akibat serangan nematoda pada tanaman dapat dilihat pada akar, batang, umbi dan daun. Kerusakan akar akibat serangan nematoda dapat menurunkan efisiensi akar dalam menyerap unsur hara. Oleh karena itu, gejala umum serangan nematoda hampir sama seperti gejala kekurangan hara seperti daun menguning, pertumbuhan terhambat dan tanaman tidak tahan terhadap cekaman lingkungan (Mustika, 2004). Kerusakan yang disebabkan 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; Puslittkoka, 2012). Berikut adalah perbedaan akar tanaman kopi yang terserang nematoda dengan akar yang tidak terserang nematoda.



Gambar 2.7 (Gambar A) contoh akar kopi Arabika dengan penyambungan batang bawah kopi Robusta yang terserang nematoda, (Gambar B) contoh akar yang tidak terserang nematoda. (Sumber: Wiryadiputra, 2012:12).



Gambar 2.8 Akar kopi yang terserang nematoda, akar kopi tampak bewarna hitam membusuk. (Sumber: Wiryadiputra, 2012:12).

### 2.1.7 Pengendalian Nematoda

Berbagai usaha untuk mengendalikan nematoda parasit 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.*, 1985: 157-158). Pada fase pembibitan disarankan menggunakan cara kimiawi yaitu dengan fumigasi media bibit menggunakan fumigran pra tanam, misalnya Dazomet (Basamid G) dan Natrium-metam (Vapam L). Sedangkan untuk nematisida sistematik dan kontak antara lain: Karbofuran (Curaterr 3G), Oksamil (Vydate 100 AS), Etoprofos (Rhocap 10G) dan Kadusafos (Rugby 10G). Vydate diaplikasikan dengan cara disiramkan pada bibit dengan konsentrasi 1.0% dan dengan volume larutan nematisida 250 ml/bibit. Pada fase pertanaman dengan menggunakan jenis kopi tahan misalnya kopi ekselsa (*Coffeae*

*excelsa*), klon Bgn 121-09 dan kopi robusta klon BP 961 sebagai batang bawah, kemudian kultur teknis (Puslikoka, 2012).

Menurut (Hadisoeganda, 2006: 36) pada komoditas sayuran, pengelolaan tingkat populasi nematoda dapat dilakukan dengan empat tindakan yang terdiri dari berbagai taktik pengendalian baik secara tunggal maupun terpadu, sebagai berikut:

- a. Pengelolaan AES dengan praktek bercocok tanam yang baik (*good agricultural practices* / GAP).
- b. Manipulasi (pemanfaatan) organisme berguna khususnya musuh alami sebagai agens hayati.
- c. Kultivar / varietas resisten atau toleran.
- d. Pestisida (nematisida) selektif, baik yang selektivitasnya fisiologis (jenis bahan aktif) maupun secara ekologis (metode aplikasi).

Dalam bidang nematologi khususnya untuk *G. rostochiensis*, kemampuan musuh – musuh alami nematoda untuk digunakan dalam pengendalian hayati masih sangat terbatas. Meskipun begitu, beberapa musuh alami NSK telah dikenali, khususnya cendawan yang mampu memarasit telur dan induk seperti *Verticillium chlamydosporum*, *Cylindrocarpon destructans*, *Acremonium strictum*, *Fusarium oxysporum*, *Catenaria auxiliaris*, *Dactillela oviparasitica* dan yang diteliti oleh Jatala *et al.* (1979) yaitu cendawan *Paecilomyces lilacinus*. Banyak dilaporkan bahwa musuh – musuh alami nematoda banyak terdapat dalam bahan organik yang telah terdekomposisi, sehingga manipulasi musuh alami tersebut untuk mengendalikan nematoda dapat dilakukan dengan memberikan pupuk organik yang telah terdekomposisi sempurna dalam jumlah dan waktu yang tepat (Hadisoeganda, 2006: 38).

## **2.2 Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)**

### **2.2.1 Deskripsi Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)**

Deskripsi umum kopi arabika yaitu memiliki tipe pertumbuhan tinggi agak melebar, daun rimbun sehingga batang pokok tidak tampak dari luar, buah seragam,

biji berukuran besar tetapi tidak seragam, nisbah biji buah 15,7%, berbunga pertama umur 15-24 bulan, produktivitas 10-15 kwintal/ha pada populasi 1.600-2000 pohon. Pada ketinggian lebih dari 1000 m dpl tahan serangan karat daun dan pada ketinggian kurang dari 900 dpl agak tahan penyakit karat daun, citarasa cukup baik (Prastowo, 2010:14).

Kopi arabika di Indonesia umumnya termasuk varietas *typica* (*Coffea arabica* var *Typica*), dari varietas ini telah diperoleh suatu kultivar yang banyak di tanam di Jawa Timur (Dataran Tinggi Ijen), yaitu kultivar Blawan Pasumah yang peka sekali terhadap penyakit karat daun, sehingga hanya dapat di tanam pada ketinggian 1000 m ke atas (Prastowo, 2010:3). Jenis kopi yang pertama kali dibudidayakan di Indonesia adalah Arabika varietas *Typica*, namun sejak masuknya penyakit karat daun ke Indonesia pada tahun 1959, varietas tersebut hanya mampu bertahan jika ditanam di lahan tinggi (> 1250 m dpl.). Untuk mengisi kekosongan lahan rendah diintroduksi jenis kopi lain yaitu kopi Liberika (*Coffea liberica*) serta kopi Ekselsa (*Coffea dewevrei* var. *excelsa*). Namun pengembangan jenis kopi ini tidak berlangsung lama, karena selain produksinya rendah citarasanya asam, sehingga kurang disukai (Yahmadi, 1972). Berikut ini adalah morfologi tanaman kopi Arabika.



Gambar 2.9 Penampilan Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)  
(Sumber: Prastowo, 2010:15).

### 2.2.2 Klasifikasi Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Berikut ini merupakan klasifikasi dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan dari tanaman kopi Arabika:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Asteranae
Order	: Gentianales
Family	: Rubiaceae
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea Arabica</i> Sumber: (ITIS, 2015).

### 2.2.3 Syarat Tumbuh Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

#### a. Ketinggian tempat

Kopi di Indonesia saat ini umumnya dapat tumbuh baik pada ketinggian tempat di atas 700 m di atas permukaan laut. Kopi arabika baik tumbuh dengan citarasa yang bermutu pada ketinggian di atas 1000 m dpl (dpl) (Prastowo, 2010:4).

#### b. Curah hujan

Curah hujan yang sesuai untuk kopi seyogyanya adalah 1500 – 2500 mm per tahun, dengan rata-rata bulan kering 1-3 bulan dan suhu rata-rata 15-25 derajat celcius dengan lahan kelas S1 atau S2 (Puslitkoka, 2006).

### 2.2.4 Lahan yang Terserang Nematoda *Radopholus similis*

Gejala nematoda *Radopholus similis* pada lahan perkebunan yang paling mudah dideteksi adalah nekrotik pada sitem akar, mirip dengan yang diebabkan oleh jamur patogen, *Helicotylenchus multicinctus*, dan nematoda endoparasit lain. Sistem

perakaran terhambat dan nekrotik. Gejala dibagian atas tanaman yaitu daun tampak menguning, tanaman menjadi kerdil, ukuran buah mengecil dan penipisan kanopi (Thorne, 1961 dalam Sikora, 2012).

Pengujian perbedaan tingkat kerusakan *P. coffeae* terhadap kopi Arabika dan kopi Robusta dalam pot pada fase bibit pernah dilaporkan oleh Wiryadiputra (1985) hasil penelitian menunjukkan bahwa laju perbanyakan nematoda *P. coffeae* pada kopi Arabika lebih tinggi daripada kopi Robusta dan gejala kerusakan pada bibit kopi Arabika juga terjadi lebih awal dan menyebabkan kerusakan lebih parah dibanding pada bibit kopi Robusta, sehingga kopi Robusta dinilai lebih tahan terhadap *P. coffeae* dibanding terhadap kopi Arabika. Namun pada pengamatan lapangan di Kalibendo, nekrosis akar kopi Arabika oleh *P. coffeae* lebih rendah, meskipun pada aras kepercayaan 5% tidak berbeda nyata dengan kopi Robusta. Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan populasi nematoda pada lahan tersebut (Hulupi *et al.*, 2007: 180).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *R. similis* pada lahan ketinggian menengah (700 m dpl.) lebih merusak kopi Arabika dibanding kopi Robusta, dengan nilai nekrosis akar Arabika lebih tinggi daripada kopi Robusta. Sebaran nematoda *R. similis* lebih banyak berada pada kedalaman tanah lebih dari 50 cm di bawah permukaan tanah, sedangkan *P. coffeae* berada pada zona perakaran kopi Robusta dengan kedalaman kurang dari 30 cm. Dengan fenomena tersebut maka kopi Robusta yang diketahui lebih tahan terhadap *R. similis* sebenarnya akibat kasus terhindar karena sebaran kepadatan akarnya terletak pada zona populasi nematoda *P. coffeae* (Hulupi *et al.*, 2007: 176). Hasil pengujian sebaran populasi nematoda *R. similis* dan *P. coffeae* yang dilakukan di dua lahan endemik serangan nematoda terhadap varietas kopi Arabika rentan (Kartika 1) menunjukkan bahwa populasi nematoda *P. coffeae* dalam akar yang terletak pada kedalaman kurang dari 30 cm lebih tinggi dibanding populasi *R. similis*, sedangkan populasi nematoda *R. similis* yang diambil dari akar pohon yang sama namun pada kedalaman lebih dari 50 cm lebih tinggi daripada *P. coffeae* (Hulupi *et al.*, 2007: 180).

Hasil pengujian ini menguatkan dugaan adanya korelasi antara perbedaan daerah sebaran nematoda *R. similis* dan *P. coffeae* dalam tanah dengan populasi nematoda dalam akar kopi. Nematoda *R. similis* lebih banyak berada pada zona kedalaman tanah lebih dari 50 cm di bawah permukaan tanah, sedangkan *P. coffeae* berada pada zona perakaran kurang dari 30 cm di bawah permukaan tanah (Hulupi *et al.*, 2007 : 180).

## 2.3 Bakteri Endofit

### 2.3.1 Deskripsi Bakteri Endofit

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan penyakit pada tanaman inangnya (Latupeirissa, 2014; Hallmann *et al.*, 1997: 895). Bakteri ini dapat hidup pada bagian tanaman seperti akar, batang, daun, dan buah (Simarmata *et al.*, 2007; Bacon dan Hinton, 2006). Berbeda dengan bakteri rizosfer, merupakan bakteri yang hidup di daerah perakaran tanaman yang dapat berperan dalam menekan perkembangan patogen tular tanah. Bakteri endofit dan bakteri rizosfer dapat memberi keuntungan bagi tanaman dengan mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan mengendalikan atau menekan serangan patogen pada tanaman (Latupeirissa, 2014). Menurut Hayward dan Hartman (1994), bakteri endofit yaitu mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dan dapat bersaing dengan patogen serta keberadaannya dalam jaringan tanaman tidak membahayakan inangnya. Keberadaannya terjadi secara alami, dapat berasosiasi dengan tanaman dalam jangka waktu yang lama, tetapi bukan berupa organ spesifik dari tanaman (Bacon dan Hinton, 2006). Oleh karena itu, bakteri endofit hanya dapat dideteksi dengan mengisolasi pada media agar, namun jumlahnya tidak dapat ditentukan secara pasti (Bacon dan Hinton, 2006).

Jumlah terbesar bakteri endofit berada dalam perakaran, disusul dalam batang dan daun dengan populasi antara 10<sup>2</sup> -10<sup>6</sup> CFU/g (Kobayashi dan Palumbo, 2000). Dalam satu tanaman bisa terdapat beberapa spesies bakteri endofit baik gram positif maupun negatif (Kobayashi dan Palumbo, 2000). Menurut Shiomi *et al.*, (2006)

bakteri endofit bisa terpenetrasi dalam jaringan tanaman secara sistemik dan secara aktif mengkolonisasi jaringan tanaman. Jika tanaman diinfeksi oleh patogen tumbuhan, bakteri endofit ini bisa berfungsi sebagai agens bio kontrol patogen tanaman. Bakteri endofit dapat bersifat obligat ataupun fakultatif dalam mengkolonisasi inangnya (Bacon dan Hinton, 2006). Mikroba endofit yang hidup dalam tanaman dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder sama seperti yang dihasilkan inangnya akibat adanya pertukaran genetik dan hubungan evolusi yang panjang (Tan dan Zou, 2001; Radji, 2005).

### 2.3.2 Bakteri Endofit sebagai Agen Hayati

Menurut Kobayashi dan Palumbo (2000), kelebihan bakteri endofit sebagai agens hayati mampu untuk mengendalikan penyakit tumbuhan secara tidak langsung, dengan adanya senyawa tertentu yang dihasilkan, yang dapat merangsang sistem pertahanan inang. Graham dan Mitchell (1999) juga menambahkan bahwa bakteri endofit memiliki sifat yang spesifik sehingga tidak mengganggu organisme tanah lain. Karena menurut Van Driesche dan Bellows (1996) menyebutkan bahwa pengendalian hayati penyakit tanaman merupakan bagian dari pengelolaan komunitas mikroorganisme dalam suatu ekosistem. Sehingga terbukti bahwa Agens antagonis terbukti tidak menimbulkan efek negatif bagi lingkungan ataupun bagi organisme lain Graham dan Mitchell (1999). Melliawati *et al* (2006) menyebutkan bahwa mikroba endofit hidup bersimbiosis dengan tanaman di dalam jaringan tanaman, apabila mikroba tersebut mampu menghasilkan suatu agen biologis yang dapat memerangi penyakit tanaman maka secara langsung tanaman akan terhindar dari penyakit yang juga disebabkan oleh mikroba lain. Keunggulan bakteri endofit sebagai agens pengendali hayati yaitu mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan, dan mengendalikan penyakit tumbuhan (Kloepper *et al.* 1992), serta dapat menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann, 2001).

### 2.3.3 Mekanisme Bakteri Endofit dalam Mengendalikan Nematoda *P. coffeae*

Bakteri endofit biasanya masuk pertama kali melalui perakaran sekunder dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektinase (Agarwal dan Shende, 1987

dalam Yulianti, 2012: 116). Bakteri kemudian berkoloni di titik tempat masuk atau menyebar ke seluruh bagian tanaman hidup dalam sel, ruang interseluler, atau dalam sistem pembuluh (Hallmann *et al.*, 1997). Bellone dan Silvia (2012) melaporkan bahwa baik bakteri endofit *Azospirillum brasiliense* maupun mikoriza *Glomus* masuk ke dalam jaringan tanaman tebu melalui akar lateral yang baru tumbuh, kemudian berkembang di dalam jaringan dan mengubah dinding sel untuk memfasilitasi endofit lain mengkolonisasi.

Secara tidak langsung, bakteri terlebih dahulu menekan pertumbuhan mikroorganisme pengganggu, yaitu *deleterious microorganisms* (DMO) melalui mekanisme kompetisi, predasi, dan antibiotik yang dihasilkannya. Mekanisme pengendalian yang lain adalah kompetisi dengan patogen (Sikora *et al.*, 2007), kompetisi yang terjadi adalah kompetisi tempat dan makanan. Kompetisi ini terjadi karena nematoda dan endofit menempati ruang ekologis yang sama di akar. Hal ini akan berkaitan erat dengan kepadatan bakteri, tingkat kolonisasi dan lokasi bakteri dalam kaitannya dengan tempat makan nematoda (Mustika dan Nuryani, 2006). Harni dan Ibrahim (2011) menyebutkan bahwa mekanisme bakteri endofit dalam menginduksi ketahanan adalah dengan mengkolonisasi jaringan dalam tanaman sehingga menstimulasi tanaman untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit yang berperan dalam ketahanan tanaman, di antaranya enzim peroksidase, peningkatan aktifitas kitinase,  $\beta$ -1,3 glucanase, dan patogenesis related protein, fitoaleksin. Enzim peroksidase dibutuhkan oleh tanaman untuk menghasilkan senyawa-senyawa pertahanan tanaman seperti lignin, kitin, dan beberapa senyawa penyusun dinding sel.

Enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri melalui struktur infeksi pada permukaan tubuh nematoda mampu melakukan penetrasi kutikula (Mustika dan Nuryani, 2006). Penetrasi dimulai dengan pertumbuhan spora pada kutikula (Setiawati *et al.*, 2004). Spora bakteri menempel pada tubuh nematoda kemudian berkecambah dan menembus kutikula nematoda (Mustika dan Nuryani, 2006). Kemudian enzim kitinase akan menghidrolisis kulit telur nematoda yang sebagian

besar penyusunnya adalah kitin (Indarti, 2008). selanjutnya perkembangbiakan nematoda menjadi terhambat dan akhirnya akan mati (Mustika dan Nuryani, 2006).

Melisiskan dinding sel adalah mekanisme potensial yang dilakukan oleh bakteri endofit agar dapat mengontrol patogen. Bakteri endofit diisolasi dari akar kentang yang menghasilkan enzim hidrolisis seperti selulase, kitinase dan glukukanase (Schulz, 2006: 59). Enzim ini dapat mendegradasikan dinding sel patogen yang terdiri dari kitin seperti dinding sel cendawan, serangga dan nematoda parasit (Tronsmo *et al.*, 1993 dalam Nugroho, 2003). Harni dan Ibrahim (2011) melaporkan bahwa penginduksian ketahanan tanaman lada oleh bakteri endofit ditandai dengan peningkatan kandungan peroksidase dan asam salisilat di dalam akar. Induksi ketahanan tanaman adalah fenomena terjadinya peningkatan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen akibat rangsangan. Ketahanan ini merupakan perlindungan tanaman yang didasari pada mekanisme ketahanan yang dirangsang oleh perubahan metabolik. Induksi ketahanan tanaman terhadap nematoda dapat melalui peningkatan asam salisilat, peroksidase, fitoaleksin, pathogenesis related protein (PR) dan senyawa fenolik (Tian *et al.*, 2007).

#### **2.4 Leaflet**

Menurut Wahyudi (2013) Leaflet adalah jenis salah satu media informasi penyuluhan dalam bentuk lembaran informasi yang disajikan dalam selembar kertas berisikan uraian materi informasi, penampilan lembar leaflet/lipatan tanpa ada pelipatan kertas. Pada bagian muka lembar leaflet berisikan judul tulisan dan uraian tulisan pembuka materi informasi yang akan disampaikan dan pada bagian lembar belakang leaflet berisikan muatan isi materi lanjutan dari lembar depan leaflet. Isi materi informasi yang disampaikan melalui leaflet/lipatan harus singkat jelas dan padat berupa pokok – pokok uraian yang penting saja dengan menggunakan kalimat yang sederhana.

Notoatmodjo (2010) menyatakan leaflet merupakan media berbentuk selembar kertas yang diberi gambar dan tulisan (biasanya lebih banyak tulisan) pada kedua sisi

kertas serta dilipat sehingga berukuran kecil dan praktis dibawa. Biasanya ukuran A4 dilipat tiga. Media ini berisikan suatu gagasan secara langsung ke dalam pokok persoalannya dan memaparkan cara melakukan tindakan secara pendek dan lugas. Leaflet sangat efektif untuk menyampaikan pesan yang singkat dan padat, seperti poster. Media ini juga mudah dibawa dan disebarluaskan. Bahkan karena ukurannya yang lebih ringkas, jumlah yang dibawa bisa lebih banyak daripada poster.

Mantra (1997) bahwa dalam melakukan penyuluhan (intervensi) menggunakan leaflet, dibutuhkan perencanaan penyuluhan yang mencakup masalah yang dihadapi masyarakat dan program yang ditunjang, sosial budaya, lokasi, transportasi serta komunikasi yang digunakan oleh masyarakat. Tujuan penyuluhan adalah apakah untuk melakukan perubahan pengetahuan, perubahan sikap atau perubahan perilaku. Pesan penyuluhan disesuaikan dengan dengan masalah dan tujuan penyuluhan. O'Neil (1996) menyatakan bahwa penggunaan leaflet sebagai media penyuluhan yang efektif dalam meningkatkan pengetahuan responden yang membuktikan bahwa tanya jawab dan leaflet dapat meningkatkan pengetahuan.

*Leaflet* (sering juga disebut *pamphlet*) merupakan sehelai kertas dari bahan agak kaku yang mudah dilipat sebagai sarana untuk menginformasi dan mengkomunikasikan produk, jasa, layanan, proses atau prosedur tertentu (Ragil, 2013: 25). Ciri-ciri desain *leaflet* adalah sebagai berikut:

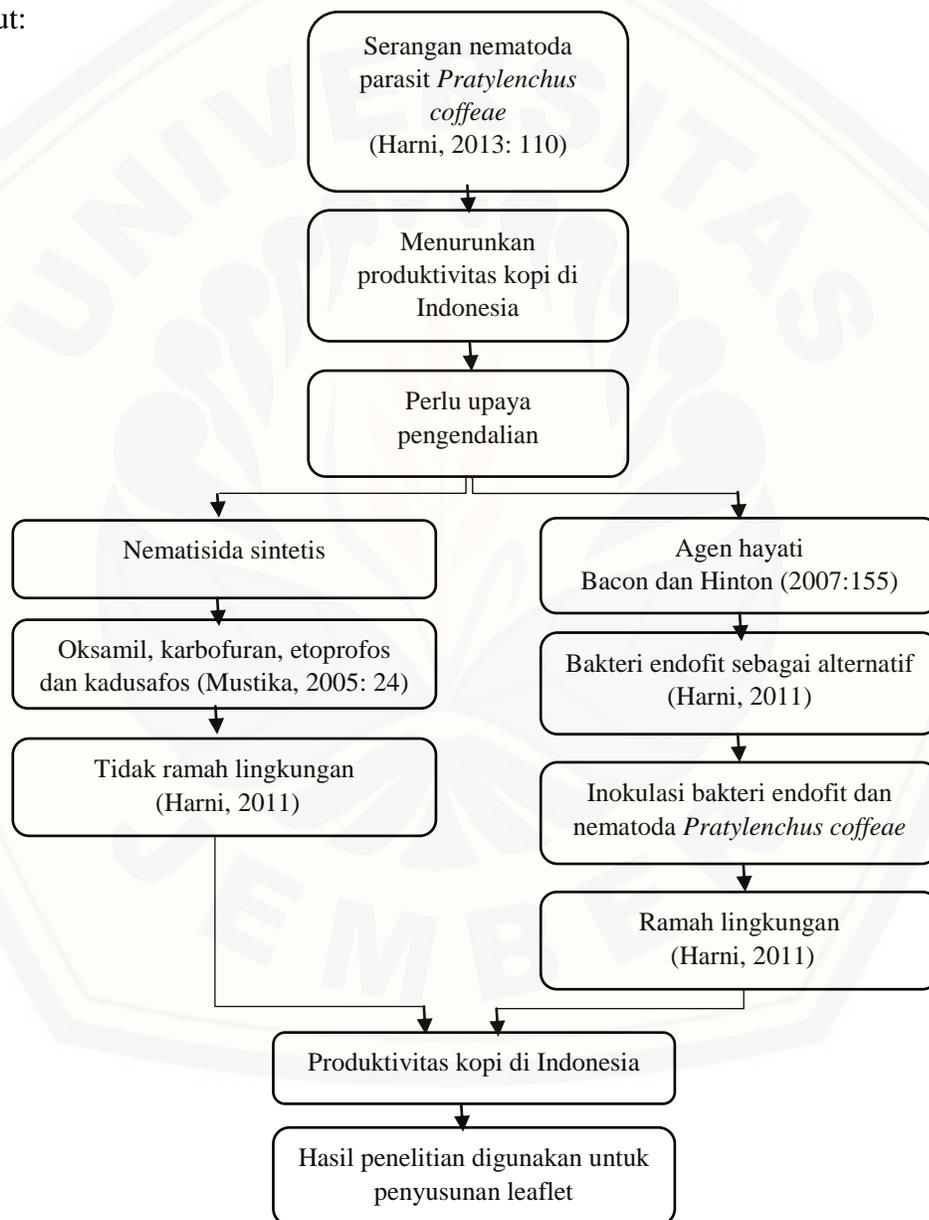
- a. Lembaran *leaflet* terdiri dari dua muka (halaman), yang dirancang sesuai dengan bentuk lipatan kertas;
- b. Jumlah lipatan dapat dua, tiga atau empat lipatan;
- c. Ukuran kertas A4, Folio atau 20 cm x 30cm;
- d. Informasi yang terkandung dalam *leaflet* singkat, dan padat. Isi harus bisa ditangkap dengan sekali baca;
- e. Umumnya berisi tulisan 200 – 400 kata (Ragil, 2013: 25).

Leaflet disebarakan kepada target melalui penempatan *leaflet* di tempat-tempat strategis, atau dibagi-bagikan pada suatu *event* tertentu. *Leaflet* bersifat praktis, mudah dibawa, mudah disimpan dan mudah dibaca dimanapun dalam waktu lama.

Kandungan informasi dalam *leaflet* dapat cukup detail, sekalipun singkat (Ragil, 2013: 26).

## 2.5 Kerangka Berpikir

Hipotesis dalam penelitian ini dirumuskan berdasarkan kerangka teoritis berikut:



Gambar 2.10 Skema Kerangka Berpikir

## 2.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka jawaban sementara dalam penelitian ini antara lain adalah:

- a. Bakteri endofit yang berasal dari lahan kopi Arabika yang terserang nematoda *Radopholus similis* dapat menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit kopi Arabika.
- b. Terdapat bakteri endofit paling berpotensi dalam menurunkan jumlah penetrasi *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika.
- c. Leaflet penelitian ini layak digunakan sebagai sumber informasi tentang potensi bakteri endofit dari lahan kopi yang terserang *Radopholus similis* terhadap penetrasi *Pratylenchus coffeae*.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium kemudian dilanjutkan dengan pengembangan media informasi berupa leaflet.

### 3.2 Tempat dan Waktu

#### 3.2.1 Tempat penelitian

Tahap pembibitan tanaman kopi Arabika dan ekstraksi nematoda *Pratylenchus Coffeae* dilaksanakan Di Laboratorium Perlindungan Tanaman dan Kebun Percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi Kakao Indonesia, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember. Tahap inokulasi bakteri dan nematoda dilaksanakan di rumah kaca Perum Istana Tidar B1/1, Kaliurang Jember. Tahap Reisolasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember dan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember.

#### 3.2.2 Waktu penelitian

Penelitian telah dilakukan pada tanggal 5 September 2015 sampai tanggal 25 Januari 2016.

### 3.3 Identifikasi Variabel penelitian

#### 3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis bakteri endofit hasil isolasi dari akar tanaman kopi sehat diantara tanaman kopi yang terserang nematoda *Radopholus similis*.

### 3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah nematoda *P. coffea* pada bibit Kopi Arabika setelah direndam bakteri endofit, adanya bakteri endofit dalam akar bibit Kopi Arabika.

### 3.3.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol atau variabel kendali adalah variabel yang dikendalikan sehingga variabel bebas dan terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Media tanam yang digunakan merupakan tanah dan kompos dengan perbandingan yang sama yaitu 1:1.
- b) Bibit kopi yang digunakan adalah bibit kopi dengan jenis yang sama dan berasal dari tempat persemaian yang sama yaitu bibit kopi jenis arabika yang berumur 3 bulan dan benih berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Kaliwining, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember.
- c) Sumber Nematoda *Pratylenchus coffeae* yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari sumber dan tempat yang sama yaitu dari akar tanaman kopi pada bedengan bibit tanaman kopi di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Kaliwining, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember dan berada dalam stadium juvenil dan dewasa yang sama.
- d) Sumber air penyiraman tanaman kopi yang digunakan berasal dari sumber air yang sama.

## 3.4 Definisi Operasional

Peneliti memberikan pengertian untuk menjelaskan operasional penelitian agar tidak menimbulkan penafsiran ganda. Adapun definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Potensi merupakan kemampuan bakteri endofit terhadap penurunan jumlah penetrasi bakteri endofit dalam bibit kopi Arabika.
- b. Bakteri endofit merupakan bakteri non patogen yang hidup pada jaringan tanaman dan berasosiasi dengan tanaman.
- c. Nematoda *Pratylenchus coffeae* merupakan cacing halus yang hidup sebagai saprofit di dalam air dan tanah, atau sebagai parasit pada tanaman dan hewan dengan salah satu cirinya adalah nematoda betina memiliki vulva yang terletak disekitar 70-80% dari total panjang tubuhnya.
- d. Nematoda *Radopholus similis* merupakan cacing halus yang hidup sebagai saprofit di dalam air dan tanah, atau sebagai parasit pada tanaman dan hewan dengan salah satu cirinya adalah nematoda betina memiliki vulva yang terletak disekitar 50% dari total panjang tubuhnya.

### 3.5 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan yang terdiri atas 7 perlakuan bakteri endofit dan 1 perlakuan tanpa bakteri endofit (kontrol). Dimana setiap perlakuan terdapat 5 pengulangan, masing-masing pengulangan menggunakan 2 tanaman, sehingga diperoleh jumlah bibit tanaman percobaan sebanyak  $[8 \times (5 \times 2)] = 80$  tanaman percobaan. Adapun rancangan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Perlakuan E<sub>0</sub>: tanpa bakteri Endofit + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- b. Perlakuan E<sub>1</sub>: bakteri Endofit A + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- c. Perlakuan E<sub>2</sub>: bakteri Endofit B + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- d. Perlakuan E<sub>3</sub>: bakteri Endofit C + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- e. Perlakuan E<sub>4</sub>: bakteri Endofit D + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- f. Perlakuan E<sub>5</sub>: bakteri Endofit E + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- g. Perlakuan E<sub>6</sub>: bakteri Endofit F + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- h. Perlakuan E<sub>7</sub>: bakteri Endofit G + 50 ekor nematoda *Pratylenchus coffeae*.

Desain Rancangan Acak Lengkap berkaitan dengan tata letak pot dalam penelitian ini terlampir (Lampiran A).

### **3.6 Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **3.6.1 Populasi Penelitian**

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh bibit tanaman kopi Arabika berumur 3 bulan yang digunakan dalam penelitian. Bibit tanaman diperoleh dari kebun percobaan Kaliwining, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Kaliwining, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember.

#### **3.6.2 Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini adalah bagian tanaman yang diambil untuk mengetahui penetrasi nematoda. Bagian tanaman ini adalah akar dari bibit tanaman kopi Arabika.

### **3.7 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.7.1 Alat Penelitian**

Alat yang akan digunakan antara lain adalah saringan Baermann 325 mesh (0,045mm) dan 40 mesh, pipet volume, pot tanam, bak, sekrup, alat penggembur tanah, *autoclave*, *laminar air flow*, kompor penangas, lemari es, mikroskop, cawan petri, pipet, gelas ukur 10 ml, tabung reaksi, rak tabung, erlenmeyer, masker, *beaker* plastik, *beaker glass*, pemanas bunsen, *counting disk*, *hand counter*, blender, botol semprot, gigaskrin, tip kuning, tip biru, spatula, spidol, gunting, shaker, pistil, mortal, kamera, mikropipet 1 ml, mikropipet 5-50  $\mu$ l dan 50-200 $\mu$ l, jarum ose, corong, neraca ohaus, timbangan analitik, higrometer.

#### **3.7.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah : pupuk urea, tanah steril, kompos steril, akar bibit Kopi Arabika, benih Kopi Arabika, isolat bakteri endofit dan nematoda *P. coffeae*, media *Tryptic Soy Agar* (TSA), media *Natrium Agar* (NA), NaOCl 2%, alkohol 70%, asam fuchsin, gliserin, sarfranin,

kristal violet, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, air, air destilasi, air gula, kertas label, plastik *wrap*, *aluminium foil*, kertas kayu, karet, kapas, *tissue*.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Persiapan media tanam

Media tanam menggunakan percampuran antara tanah dengan pupuk kompos perbandingan 1:1. Mensterilisasi media menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (1,05 kg/cm<sup>2</sup>) selama 2 jam untuk menghindari adanya kontaminasi dari nematoda maupun organisme lain yang ada di dalam media tanam.

#### 3.8.2 Pembibitan Tanaman Kopi Arabika

Tahap pembibitan tanaman Kopi Arabika dilaksanakan di rumah kaca Pusat Penelitian Kopi Kakao Indonesia, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember. Benih kopi disemaikan pada bak besar yang berisi media pasir tujuan dilakukan persemaian ini yaitu agar mendapatkan bibit kopi yang seragam. Sebelum menyemaikan benih kopi arabika terlebih dahulu mengupas biji dari kulit keras nya kemudian merendam ke dalam air selama sehari semalam. Selanjutnya menumbuhkan selama 3 bulan.

#### 3.8.3 Tahap peremajaan isolat bakteri

Meremajakan biakan bakteri endofit murni pada tabung reaksi yang dibuat miring dalam medium TSA selama 24 jam disimpan pada lemari inkubator bersuhu 37°C. Kemudian meluruhkan biakan yang telah diremajakan menggunakan jarum ose dengan 5 ml aquades lalu menuangkan pada 100 ml medium NB dengan menggunakan erlenmeyer. Kemudian *shaker* biakan tersebut selama 24 jam. Selanjutnya proses pengenceran dengan cara mengambil 1 ml suspensi bakteri dimasukkan ke dalam 9 ml aquadest (pengenceran 10<sup>-1</sup>). Dari pengenceran 10<sup>-1</sup> dilakukan pengambilan 1 ml dan menuangkan pada tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades yang berbeda hingga diperoleh pengenceran pada tingkatan 10<sup>-10</sup>. Menuangkan hasil pengenceran 10<sup>-6</sup> sampai 10<sup>-10</sup> sebanyak 100 µl kedalam cawan petri yang telah berisi medium NA 10 ml menggunakan teknik *spread plate* dengan mikropipet. Meratakan suspensi menggunakan gigaskrin.

Hasil biakan pada cawan petri diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Indikator bahwa bakteri berhasil dapat digunakan dalam uji apabila jumlah koloni bakteri antara 30-300 koloni bakteri dengan kerapatan  $10^9$ .

$$\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times 1/\text{faktor pengenceran}$$

#### 3.8.4 Inokulasi Bakteri Endofit pada Akar Bibit Kopi Arabika

Inokulasi bakteri endofit dengan cara merendam akar bibit Kopi Arabika varietas Lini S berumur 3 bulan selama 1 jam dalam suspensi bakteri endofit dengan konsentrasi  $10^9$  cfu/ml (OD600=1), kemudian menanam bibit dalam pot yang berisi campuran tanah dengan kompos steril dengan perbandingan 1:1 selama 2 minggu.

#### 3.8.5 Ekstraksi Nematoda *Pratylenchus coffeae*

*Pratylenchus coffeae* diambil dari lahan bedengan kopi Arabika di Kebun Percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember yang sudah diketahui diserang oleh *Pratylenchus coffeae*. Pengambilan sampel ini dilakukan pada akar tanaman yang sudah diketahui terserang *Pratylenchus coffeae*. Metode pengambilan akar dilakukan secara acak kemudian memasukkan akar ke dalam kantong plastik lalu mengekstraksi akar dengan Metode Baermann yang telah dimodifikasi, adapun tahapan ekstraksi untuk mendapatkan *Pratylenchus coffeae* adalah sebagai berikut:

- a. Memisahkan akar yang telah diambil dari tanaman yang terserang nematoda dari sisa-sisa tanah, kotoran lain yang melekat dengan cara mencuci hingga bersih.
- b. Mengeringkan akar dengan cara dikering anginkan.
- c. Memotong akar  $\pm 0,5$  cm dengan gunting pangkas hingga diperoleh potongan kecil.
- d. Menimbang hasil potongan akar sebanyak 10 gram.
- e. Memasukkan potongan akar ke dalam beaker plastik dengan menambahkan air sebanyak  $\pm 10$  ml.
- f. Memasukkan potongan akar dengan air ke dalam blender dan menghaluskan sebanyak 2 kali. Penghalusan pertama dan kedua masing-masing 15 detik.

- g. Menyaring hasil penghalusan (f) dengan saringan 40 mesh yang telah dipasang kain panel atau kertas tisu dan ring.
- h. Melatakan saringan 40 mesh di dalam piring aluminium, kemudian mengisi dengan air sebanyak 100 ml dan mengendapkannya selama 24 jam.
- i. Menyaring air endapan dengan 2 saringan 325 mesh (0.045 mm). Mengendapkan hasil saringan selama 1 jam.
- j. Mengurangi volume (ditap) dengan selang plastik sampai  $\pm 100$  ml.
- k. Mengamati hasil yang didapat secara langsung atau disimpan di dalam lemari pendingin (kulkas) apabila belum diamati.

#### 3.8.6 Identifikasi nematoda *Pratylenchus coffeae*

Identifikasi nematoda *P. coffeae* bertujuan untuk memastikan kebenaran spesies dan untuk mempelajari struktur morfologinya. Melakukan identifikasi dengan cara mengamati dibawah mikroskop dengan menggunakan buku panduan identifikasi nematoda.

#### 3.8.7 Perhitungan jumlah nematoda *Pratylenchus coffeae*

Perhitungan nematoda *P. coffeae* dilakukan setelah akar kopi di ekstraksi. Memasukkan suspensi hasil ekstraksi ke dalam *beaker glass* lalu mengaduk hingga merata dengan cara dihisap dengan menggunakan pipet volume lalu menyemprotkan kembali hingga tiga kali pengulangan. Hal ini dilakukan agar memperoleh suspensi yang homogen. Mengambil 10 ml suspensi dengan menggunakan pipet volume lalu menuangkan kedalam cawan penghitung (*counting disk*). Menghitung populasi nematoda dibawah mikroskop binokuler dengan mengurutkan sesuai jalur yang ada pada cawan penghitung searah jarum jam. Meletakkan hasil perhitungan nematoda yang telah memenuhi jumlah yang diinginkan pada botol yang telah disediakan. Penelitian ini menggunakan 50 ekor nematoda *P. coffeae* untuk perlakuan dalam setiap pot.

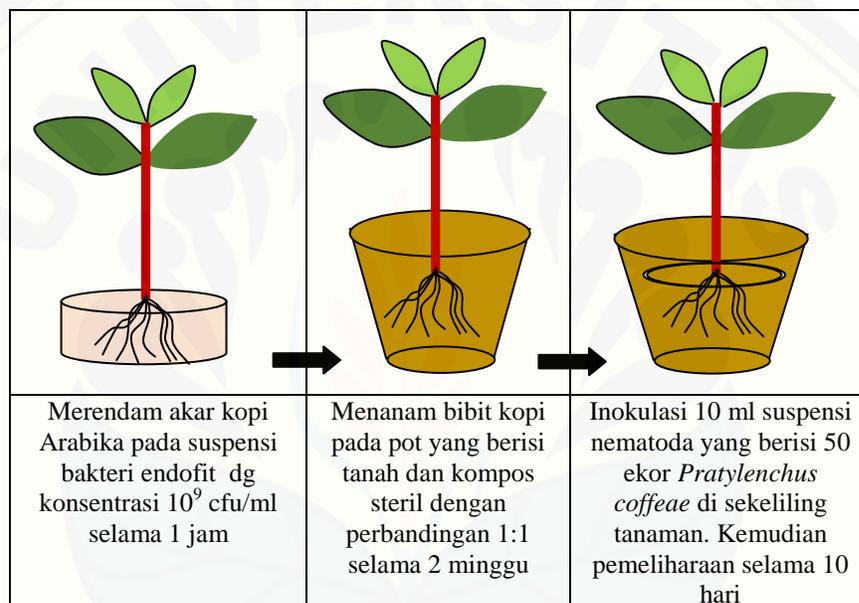
#### 3.8.8 Inokulasi nematoda *Pratylenchus coffeae*.

Melakukan inokulasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada medium tanah disekeliling bibit kopi Arabika dengan cara menuangkan 10 ml suspensi nematoda

*Pratylenchus coffeae* yang berisi 50 ekor di sekeliling tanaman. Kemudian melakukan pemeliharaan tanaman selama 10 hari.

### 3.8.9 Pemeliharaan tanaman

Pemeliharaan bibit kopi dilakukan dengan cara menyiram menggunakan air secara berkala dengan selang waktu 2 hari sekali. Setiap selesai penyiraman, melakukan penggemburan disekeliling tanah pada media tanam dengan cara menggemburkan tanah disekeliling tanaman.



Gambar 3.1 Alur inokulasi bakteri endofit dan nematoda *Pratylenchus coffeae*

### 3.8.10 Pembongkaran bibit Kopi Arabika

Pembongkaran bibit Kopi Arabika dilakukan setelah 10 hari pasca inokulasi nematoda. Akar dibongkar dari pot kemudian dicuci dengan air sampai bersih. Akar dipisahkan dengan tajuk lalu difoto sebagai data dokumentasi.

### 3.8.11 Pengamatan penetrasi *P. coffea* pada akar bibit Kopi Arabika

Pengamatan penetrasi nematoda didalam akar diamati dengan cara membuat larutan *lactoglycerol* (dengan perbandingan *glycerol*: *lactic acid*: *aquadest* = 1:1:1) dan ditambahkan 0,055% *acid fuchsin* atau *methyl blue*. Mencuci akar sampai bersih.

Memotong akar berukuran  $\pm 2$ cm. Memasukkan akar ke dalam larutan lactoglycerol yang telah mendidih dalam gelas *beaker* dan dibiarkan selama 3 menit. Kemudian mematikan pemanas dan membiarkan akar sampai dingin di dalam larutan. Setelah dingin membilas akar dengan air bersih, selanjutnya membilas kembali dengan larutan *glycerol+lactic acid* dengan perbandingan 1:1. Kemudian mengamati jaringan akar dibawah mikroskop.

#### 3.8.12 Reisolasi bakteri endofit pada akar bibit kopi Arabika

Melakukan pengamatan adanya bakteri endofit dalam akar bibit Kopi Arabika (reisolasi) dengan cara yang sama seperti isolasi bakteri endofit. Mencabut akar tanaman kopi setelah masa perlakuan 24 hari, mencabut akar tanaman kopi dari media tanam lalu dicuci bersih, mengekering anginkan kemudian menimbang seberat 1gr. Memotong akar lalu melakukan sterilisasi permukaan dengan menggunakan natrium hipoklorid (NaOCl) 5 %. Menggerus akar tanaman selanjutnya melakukan pengenceran sampai  $10^3$ . Menanam suspensi bakteri sebanyak 0,1ml ke dalam cawan petri menggunakan teknik *spread plate* yang telah berisi media TSA, lalu memasukkan dalam lemari inkubasi selama 72 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , kemudian mengamati koloni bakteri yang tumbuh.

### 3.9 Leaflet

Leaflet (sering juga disebut *pamphlet*) merupakan sehelai kertas dari bahan agak kaku yang mudah dilipat sebagai sarana untuk menginformasi dan mengkomunikasikan produk, jasa, layanan, proses atau prosedur tertentu (Ragil, 2013: 25). Secara umum kerangka leaflet akan disusun terdiri dari:

- a. Sampul leaflet
- b. Unsur dasar atau pendahuluan
- c. Pustaka singkat
- d. Isi leaflet (hasil penelitian dan pembahasan)
- e. Penutup

### 3.10 Uji Validasi Leaflet

Uji validasi leaflet ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kelayakan hasil penelitian tentang Potensi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi yang Terserang *Radopholus similis* terhadap Penetrasi *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Leaflet dapat dimanfaatkan sebagai sumber informasi berupa leaflet untuk menambah pengetahuan bagi masyarakat umum. Uji leaflet ini dilakukan dengan penilaian 2 validator, yaitu 1 validator ahli materi (karyawan Sub Laboratorium Nematologi Puslitkoka), 1 ahli media (dosen). Hasil uji validasi digunakan untuk menganalisis kelayakan leaflet sebagai media penyampai informasi. Berikut validator yang memberikan penilaian (Tabel 3.1) pada leaflet ini.

Tabel 3.1 Validator Penilai Leaflet

Validator	Peran
A	Ahli materi nematoda parasit tanaman
B	Dosen ahli pengembangan produk pembelajaran

### 3.11 Teknik Analisis Data

#### 3.11.1 Analisis data penelitian

Analisis data yang digunakan adalah analisis data berupa uji ANOVA karena penelitian ini bertujuan untuk mengetahui inokulasi bakteri endofit terhadap penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae*. Perbandingan antara perlakuan kontrol dengan perlakuan inokulasi bakteri endofit dianalisis menggunakan Anova dengan taraf signifikansi 95% ( $p < 5\%$ ) menggunakan SPSS versi 17. Apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%. Setelah dilakukan analisis, kemudian dilakukan uji kesimpulan bagaimana inokulasi bakteri endofit yang berasal dari lahan kopi Arabika yang terserang *Radopholus similis* terhadap penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika. Berikut adalah rumus uji anova dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Uji Anova

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat (Sum of Squares)	Derajat bebas (df)	Kuadrat Tengah (Mean Square)	F
Perlakuan/ kelompok (k)	$JKK = \sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n} - \frac{T^2}{nk}$	k-1	$S^2_1 = JKK/(k-1)$	
Galat	$JKT - JKK = \left( \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - \frac{T^2}{nk} \right) - \left( \sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n} - \frac{T^2}{nk} \right)$	k(n-1)	$S^2_2 = JKG/\{k(n-1)\}$	$S^2_1/S^2_2$
Total	$JKT = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - \frac{T^2}{nk}$	nk-1		

Keterangan :

- JKT : Jumlah Kuadrat Total
- $x_{ij}^2$  : Pengamatan ke-j dari populasi ke-i
- $T^2$  : Total semua pengamatan
- JKK : Jumlah Kuadrat Kolom
- JKG : Jumlah Kuadrat Galat
- nk : Banyaknya anggota secara keseluruhan
- $T_i^2$  : Total semua pengamatan dalam contoh dari populasi ke-i
- n : Banyaknya pengamatan/anggota baru
- k : Perlakuan

### 3.11.2 Analisis data validasi leaflet

Analisis validasi leaflet dilakukan setelah memperoleh nilai dari para validator.

Nilai yang diberikan memiliki rentangan 1 - 4, disajikan pada Tabel 3.3 berikut:

Tabel 3.3 Skor terendah dan tertinggi Analisis Leaflet

Kategori	Skor	Skor maksimum
Kurang	1	1 x 5 = 5
Cukup	2	2 x 5 = 10
Baik	3	3 x 5 = 15
Sangat Baik	4	4 x 5 = 20

Selanjutnya dihitung rentang skor untuk menentukan skor kriteria validasi leaflet

berikut: Interval skor : skor tertinggi – skor terendah = 20 – 5 = 15

Rentang skor : interval skor/jumlah kategori skor = 15/4 = 3,75 = 4

Perhitungan hasil uji dihitung dengan rumus persentase. Selanjutnya data persentase penilaian yang diperoleh diubah menjadi data kuantitatif deskriptif yang menggunakan kriteria validasi Tabel 3.3 berikut ini. Rumus menghitung nilai uji validasi adalah sebagai berikut :

Persentase skor (P): skor yang diperoleh/ skor maksimal x 100%

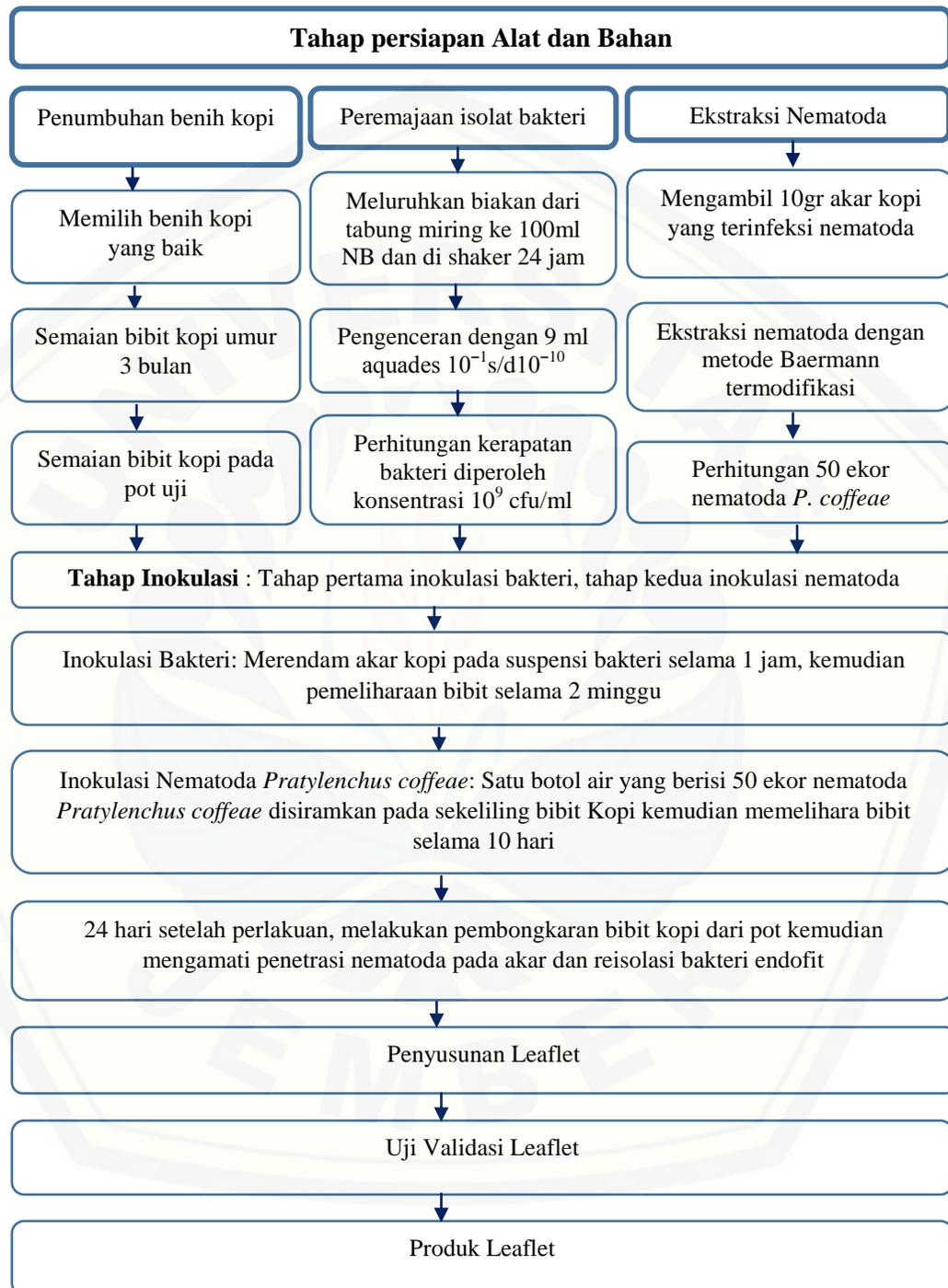
Tabel 3.4 Kriteria Validasi leaflet

Kualifikasi	Skor	Keputusan
Kurang Layak	5-8 <sup>a</sup> (25 – 42%) <sup>b</sup>	Masing-masing item pada unsur yang dinilai tidak sesuai dan ada kekurangan dengan produk ini sehingga sangat dibutuhkan pebenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
Cukup Layak	9-12 <sup>a</sup> (43 – 62%) <sup>b</sup>	Semua item pada unsur yang dinilai kurang sesuai dan ada sedikit kekurangan dan atau banyak dengan produk ini dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
Layak	13-16 <sup>a</sup> (61 – 78%) <sup>b</sup>	Semua item pada unsur yang dinilai sesuai, meskipun ada sedikit kekurangan dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
Sangat Layak	17-20 <sup>a</sup> (79 – 100%) <sup>b</sup>	Semua item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan sehingga dapat digunakan sebagai leaflet

Keterangan:

Nilai <sup>a</sup> pada kolom nilai merupakan skor hasil penjumlahan keseluruhan item pada lembar uji produk leaflet, sedangkan nilai <sup>b</sup> merupakan skor persentase (P).

### 3.12 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Bakteri endofit yang berasal dari lahan kopi Arabika yang terserang nematoda *Radopholus similis* mampu menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika.
- b. Isolat bakteri endofit berpotensi menurunkan jumlah penetrasi nematoda kedalam jaringan akar bibit kopi Arabika sebesar 38.9% hingga 95.56%. Isolat bakteri endofit yang paling berpotensi menurunkan jumlah nematoda paling tinggi adalah isolat bakteri F sebesar 95.56%. Hasil pengamatan tersebut didukung dengan hasil pengamatan reisolasi bakteri endofit dari akar bibit kopi Arabika yang menunjukkan bahwa bakteri endofit tumbuh pada akar bibit kopi Arabika (*Coffeae Arabica L.*).
- c. Produk pendidikan berupa leaflet dengan judul “Bakteri Endofit Pengendali Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) Ramah Lingkungan” dinyatakan layak digunakan sumber informasi kepada masyarakat umum dengan presentase kelayakan sebesar 80,68%.

### 5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas mengenai bakteri endofit yang paling berpotensi dalam menurunkan jumlah penetrasi nematoda *Pratylenchus coffeae* pada bibit Kopi Arabika, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai:

- a. Uji kemampuan isolat bakteri endofit dalam menekan pertumbuhan populasi nematoda *Pratylenchus coffeae*.
- b. Uji mekanisme kerja bakteri endofit dalam menekan pertumbuhan populasi nematoda *Pratylenchus coffeae*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agrios, George N. 1997. *Plant Pathology: Fourth Edition*. London: Academic Press.
- Agrios G.N. 2005. *Plant pathology (5th edition)*. San Diego, USA, 922 p: Academic Press.
- Bacon, C. W. and Hinton D. M. 2007. Plant-Associated Bacteria. Bacterial Endophytes: The Endophytic Niche, Its Occupants, and Its Utility. <http://books.google.co.id>. *Bacterial endophytes the endophytic niche its occupants and its utility* (Diakses pada 23 Agustus 2015).
- Bacon CW, Hinton DM. 2006. Bacterial endophytes: the endophytic niche, its occupants, and its utility. Di dalam: Gnanamanickam SS, editor. *Plant Associated Bacteria*. Netherland: Springer.
- Bellone, C.H. and C. de B. Silvia. 2012. Interaction of *Azospirillum brasilense* and *Glomus intrarradix* in Sugar Cane Roots. *Journal of Microbiology*. Vol 52:70-75. <http://ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles> (diakses pada 29 Januari 2016)
- Benhamou, W.H. N., J.W. Kloepper, A. Quadt-Hallman. dan S., Tuzun. 1996. "Induction of Defense-Related Ultrastructural Modification in Pea Root Tissues Inoculated with Endophytic Bacteria". *Plant Physiology*. Vol. 112.
- Castilo, P. dan Vovlas, N. 2007. *Pratylenchus (Nemtoda:Pratylenchidae): Diagnosis Biology, Pathogenecity and Management*. Leiden: Kominklijke Brill NV
- Coyne, D.L, Nicol, J.M. and Claudius-Cole, B. 2007. *Practical plant nematology: A field and laboratory guide*. Cotonou, Benin: SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA)
- Dropkin, V.H. 1992. *Introduction to Plant Nematology*. Edisi Bahasa Indonesia Penerjemah: Suprptojo. Yogyakarta: Gadjah Mada Press.
- Durahman. D, Tarno. H, dan Rahadjo, B.T. 2014. Eksplorasi Nematoda Parasit Tumbuhan pada Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) di Kecamatan Kesamben Kabupaten Blitar. *Jurnal HPT Volume 2 Nomor 4*.

- Dyah, I., Muwakhidah, & Indriyani L. 2011. Pengembangan Model Pendidikan Gizi dengan Media Leaflet Terhadap Peningkatan Pengetahuan Tentang Serat Makanan (Dietary Fiber) pada Remaja di SMK Dwija Dharma Boyolali. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 4 (1): 31-40.
- Fitri dan Yasmin. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi Edukasi*. Volume 3, Nomor 2 halaman 20-25
- Graham JH and Mitchel DJ. 1999. *Biological control of soilborne plant pathogen and nematodes*. In: DM Sylvia, JJ Fuhrmann, PG Hartel and DA Zuberer (Ed). Principles and Application of Soil Microbiology. Prentice Hall. New Jersey. PP. 427-445
- Hadisoeganda, A., Widjaja. 2006. *Nematoda Sista Kentang: Kerugian, Deteksi, Biogeografi, dan Pengendalian Nematoda Terpadu*. Bandung: Balai penelitian Tanaman Sayuran
- Hallmann J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. In: Jeger MJ, Spence NJ (ed). *Biotic Interaction in Plant-Pathogen Associations*. CAB International. p 87-119.
- Hallmann J, Hallman A. Quadt, Mahaffee W.F and Kloepper, J.W. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Journal Microbiol*. Vol 43: 895-914
- Harni, R. 2009. Pengaruh Beberapa Isolat Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Nematoda Peluka Akar *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. Bogor: Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam.
- Harni R, Ibrahim MSD. 2011. Potensi bakteri endofit menginduksi ketahanan tanaman lada terhadap infeksi *Meloidogyne incognita*. *Jurnal Littri*. 17(3):118 – 123
- Harni, Supramana, Sinaga, Meity. S, Giyanto, Supriadi, 2012. Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Buletin Littro*. Vol. 23 No. 1, 2012, 102 – 114
- Harni, *et al.* 2013. Evaluasi Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus Coffeae* pada Tanaman Kopi. *Buletin RISTRI 4 (2): 109-116*

- Harni, R. Supramana, Sinaga, M, S. Giyanto. Supriadi. 2011. *Keefektifan Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Nematoda Pratylenchus Brachyurus pada Tanaman Nilam*. Jurnal Littri 17 (1). Hlm 6-10
- Hayward AC, dan Hartman GL. 1994. *Bacterial Wilt*. Wallingford: Cab International.
- Hidayat, N., M.C. Padaga, S, Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Hulupi, dkk, 2007. Sebaran Populasi Nematoda *Radopholus similis* dan *Pratylenchus coffeae* Pada Lahan Perkebunan Kopi. *Jurnal Pelita Perkebunan* 23(3), 176—182
- Indarti, S. 2008. *Biopeptisida Berbahan Aktif Mikroba Kitinolitik untuk Pengendalian Nematoda Parasit (Pratylenchus coffeae) pada Tanaman Kopi*. <http://lib.ugm.ac.id>. [6 Juni 2016].
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System). ([Http://www.itis.gov/](http://www.itis.gov/)) (Diakses tanggal 22 Agustus 2015)
- Jutono. Soedarsono, Joedoro. Hartadi, Sri. S., Siti Kabirun. D., Suhadi dan Soesanto. 1989. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi)*. Yogyakarta: Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Kloepper, Joseph W., dan Choong Min Ryu. 2006. *Bacterial Endophytes as Elicitor of Induces Sistemic Resistance*. Heidelberg: Sfungfer.
- Kloepper JW, Rodriguez-Kabana R, McInroy JA, Young RW. 1992. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: identification by fatty acid analysis and foliar diseases. *Australasian Plant Pathol* 28:21-26.
- Kobayashi, D.Y. and J.D. Palumbo. 2000. Bacterial Endophytes and Their Effects on Plants and Uses in Agriculture. In C.W. Bacon and J.F. White Jr. (Eds.). *Microbial Endophytes* Marcel Dekker. <http://books.google.co.id/books?id> (Diakses pada 23 Agustus 2015)
- Latupeirissa, Yunita. 2014. *Seleksi dan Identifikasi Bakteri Bermanfaat asal Tanaman Pisang Tongkat Langit (Musa troglodytarum L.) untuk Mengendalikan Penyakit Darah Pisang*. Bogor: Pascasarjana IPB

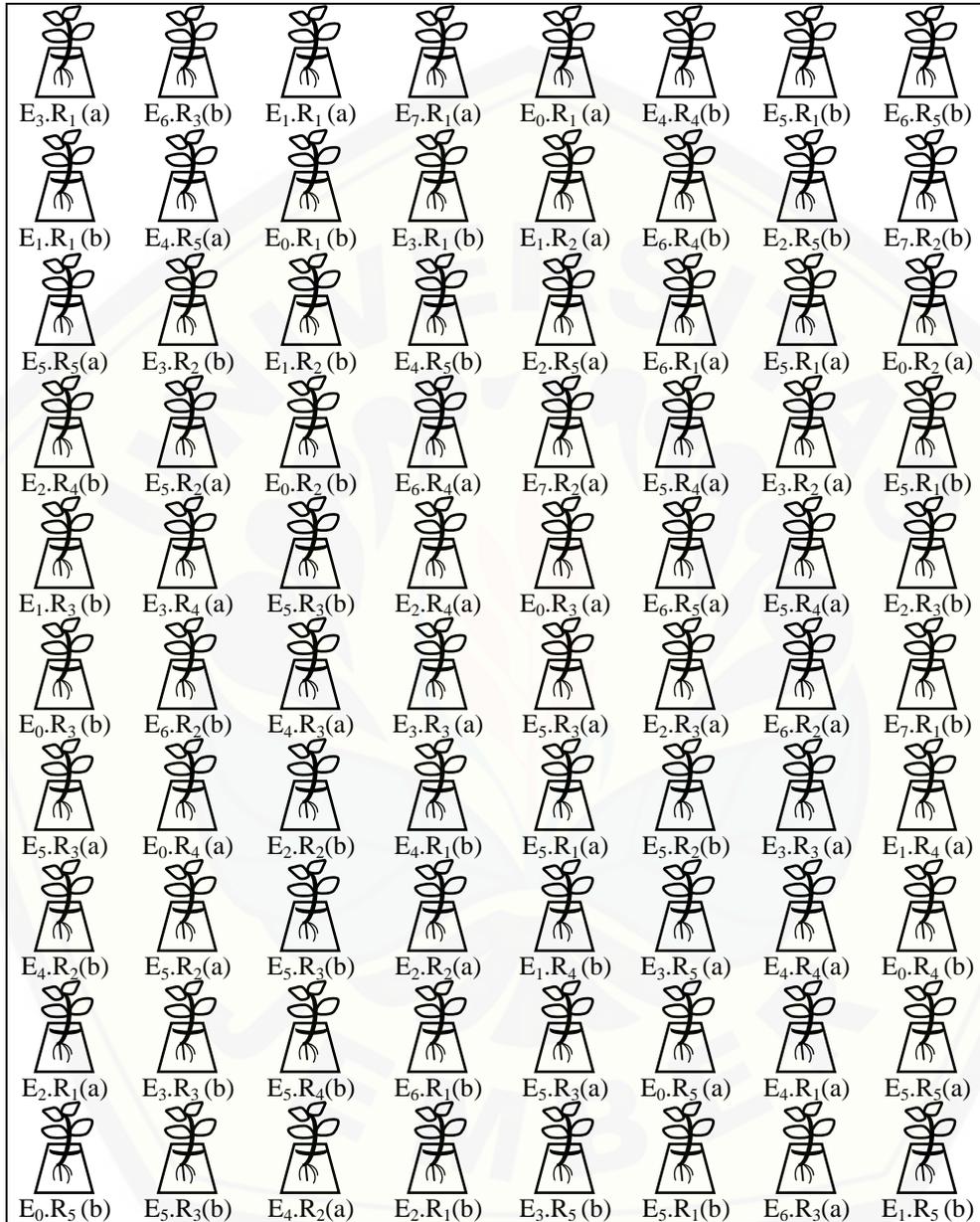
- Lay, W. B. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Perkasa
- Mantra IB. 1997. *Strategi Penyuluhan Kesehatan*. Jakarta: Pusat Penyuluhan Kesehatan Masyarakat Departemen Kesehatan RI
- McDonnell, G., dan A.D Russell. 1999. Antiseptic dan Desinfektans: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Review*. 12 (1): 147-179
- Melliawati .R., D.N.Widyaningrum, A.C.Djohan, & H.Sukiman. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Proteksi Tanaman. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (Lipi). *Biodeversitas 7* : 221-224
- Mustika, I. dan Y. Nuryani. 2003. *Penyakit-penyakit Utama Tanaman yang Disebabkan Oleh Nematoda*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 85 Makalah pada "Pelatihan Identifikasi dan Pengelolaan Nematoda Parasit Utama Tumbuhan". Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu (PKPHT)-HPT, Institut Pertanian Bogor, 26-29 Agustus 2009. 34 h.
- Mustika, Ika, 1990. Studies on the interaction of *Meloidogyne incognita*, *Radopholus similis* and *Fusarium solani* on Black Pepper (*Piper nigrum* L.). Netherlands: Wageningen Agric.Univ
- Mustika, Ika, 2005. Konsepsi dan Strategi Pengendalian Nematoda Parasit Tanaman Perkebunan di Indonesia. *Jurnal Perspektif*. Volume 4 Nomor 1, 20 – 32
- Mustika, Ika dan Ahmad, Riza. Z. 2004. Peluang Pemanfaatan Pamur Nematofagus untuk mengendalikan Nematoda Parasit pada Tanaman dan Ternak. *Jurnal Litbang Pertanian*, 23 (4)
- Mustika. 2010. Konsepsi dan Strategi Pengendalian Nematoda Parasit Tanaman Di Indonesia. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian* 3 (2), 2010: 81-101
- Mustika, I. dan Y, Nuryani. 2006. "Strategi Pengendalian Nematoda Prasit Pada Tanaman Nilam". *Jurnal Litbang Pertanian*. Vol. 25(1).
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Nugroho, T.T., Ali, M., Ginting, C., dan Wahyuningsih. 2003. "Isolasi dan Karakterisasi Sebagian Kitinase *Trichoderma viride* TNJ63". *Jurnal Natur Indonesia*. Vol. 5(2): 101-106.
- Nugroharini. 2012. *Nematoda Parasit Tanaman*. Surabaya: UPN Press
- O'Neil P. Humphris GM. 1996. The use of an information leaflet for patients undergoing wisdom tooth removal. *Journal Oral Maxillofac Surgery* 34 (4): 331-4
- Pelczar, M. J., dan E. C. S Chan. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Puslitkoka. 2006. *Pedoman Teknis Tanaman Kopi*. Jember: Warta
- Puslitkoka. 2012 *Pedoman Teknis Budi Daya Tanaman Kopi*. Jember: Warta
- Prastowo, dkk, 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2:113 –126.
- Ragil, Wukir, 2013. *Pedoman Sosialisasi (Prosedur Operasi Standar)*. Jakarta: Kementerian Pendidikan Nasional.
- Rostinawati, T. 2008. *Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Air Luat di Perairan Pantai Pondok Bali*. Padjadjaran: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor
- Schulz, B. J. E. Boyle, C. J. C. dan Sieber, T. N. 2006. *Microbial Root Endophytes*. Jerman: Springer.
- Sikora, R. A., K. Schafer dan A., A. Dababat. 2007. "Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes". *Australasian Plant Pathology*. Vol. 36: 124-134.
- Sikora, 2012. *Entomology & Nematology*. <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/>. (Diakses pada 22 Mei 2016).
- Semangun, Haryono. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.

- Setiawati, W. Uhan, T. S., dan Udiarto, B. K. 2004. "Pemanfaatan Musuh Alami dalam Pengendalian Hayati Hama pada Tanaman Sayuran. Balai Penelitian Tanaman Sayuran". *Monografi No. 24*.
- Shiomi, Silva, Melo, Nunes, and Bettiol. 2006. *Bioprospecting Endophytic Bacteria For Biological Control Of Coffee Leaf Rust*. <http://www.scielo.br/scielo> (Diakses pada 29 Januari 2016)
- Siddiqi M.R 2000. *Tylenchida parasites of plants and insects (2nd edition)*, CAB International, Wallingford, UK, 833 p.
- Sigee, D.C. 1993. *Bacterial Plant Pathology: Cell and Molecular Aspect*. Manchester: Cambridge University Press.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk Pene Hayati* 13: 85-90.
- Tan, R.X., and W. X. Zou. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 18: 448–459.
- Tian, B., J. Yang dan K. Zhang. 2007. *Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects*. *FEMS Microbiol Ecol.* 61: 197- 213.
- Tuyet, Nguyen.T. 2010. *A Comparative Study of 10 Pratylenchus coffeae Populations from Vietnam*. Lueven, Vietnam. Doctoraatsproefschrift nr. 894 aan de faculteit Bio ingenieurswetenschappen van de K.U.Leuven
- Van Driesche RG, Bellows TS. 1996. *Biological Control*. USA: Champman dan hall An International Thomson Publishing Company
- Wahyudi, A, Gunari, Iir, 2013. *Bimbingan Media Tercetak*. Jakarta: Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan Badan Pengembangan Sumber Daya Kelautan dan Perikanan
- Whitehead, A. G. 1998. *Plant Nematode Control*. *CAB International*. Cambridge: University Press. UK.
- Wibowo, 2013. *Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Kehutanan dan Potensinya untuk Pengendalian Meloidogyne spp. Pada Tanaman Tomat*. Bogor: Departemen proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor

- Williams, T. D. dan J. Bridge. 1983. *Plant Pathologist's Pocketbook Second Edition*. Commonwealth Agriculture Bureaux. The Canbrian News Ltd, Queen Street, Aberystwyth, wales.
- Wiryadiputra, S. 1985. *Kajian Hubungan Antara Kepadatan Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Kerusakan yang Diakibatkan Pada Bibit Kopi Arabika dan Robusta*. Pascasarjana UGM Yogyakarta.
- Wiryadiputra, S. 2012. *Identifikasi Spesies Nematoda Parasit Kopi Arabika pada Beberapa Areal Calon Lahan di Jawa Barat*. Jember: Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia
- Wiyono, Suryo. 2010. Perubahan Iklim dan Ledakan Hama dan Penyakit Tanaman. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/30756> (Diakses pada 3 Desember 2015)
- Yahmadi, M. 1972. *Budidaya dan Pengolahan Kopi*. Jember: Balai Penelitian Perkebunan Jember
- Yulianti, Titiek. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Jurnal Perspektif*. Vol. 11 No. 2. Halaman 111-12

**Lampiran A: Desain Tata Letak Unit Percobaan Penelitian**



Keterangan:

E<sub>0</sub>: tanpa bakteri Endofit + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

E<sub>1</sub>: bakteri endofit A + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

E<sub>2</sub>: bakteri endofit B + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

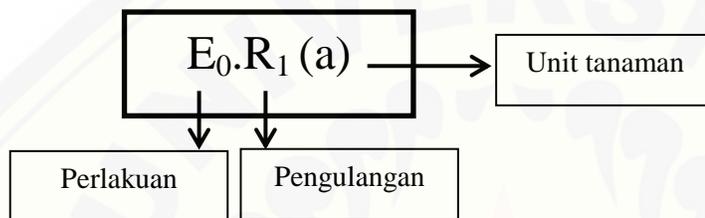
E<sub>3</sub>: bakteri endofit C + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

E<sub>4</sub>: bakteri endofit D + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

E<sub>5</sub>: bakteri endofit E + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

E<sub>6</sub>: bakteri endofit F + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

E<sub>7</sub>: bakteri endofit G + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.



**Lampiran B: Matrik Penelitian**

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel	Indikator	Sumber Data	Metode Penelitian
<p>Potensi Bakteri Endofit terhadap penurunan jumlah penetrasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> serta Pemanfaatannya sebagai Materi Penyusun Leaflet</p>	<p>Nematoda merupakan salah satu jenis organisme pengganggu tanaman (OPT) penting yang menyerang berbagai jenis tanaman pertanian utama di Indonesia dan Negara-negara tropis lainnya (Mustika, 2010). Serangan nematoda ini dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu dan menurunkan produksi baik kuantitas maupun kualitas. Serangan <i>P.coffeae</i> pada kopi Robusta dapat menurunkan produksi sampai 57%, sedangkan serangan <i>R.similis</i> bersama-sama dengan <i>P.coffeae</i> pada kopi Arabika dapat mengakibatkan kerusakan 80% dan tanaman akan mati pada umur kurang dari 3 tahun (Harni, 2013: 110). Berdasarkan kerusakan yang diakibatkan oleh serangan nematoda maka perlu dilakukan pengendalian. Bacon dan Hinton (2007:155) pengendalian</p>	<p>a. Apakah bakteri endofit yang berasal dari lahan kopi Arabika yang terserang nematoda <i>Radopholus similis</i> mampu menurunkan jumlah penetrasi nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> pada bibit Kopi Arabika?                      b. Bakteri endofit manakah yang paling berpotensi dalam menurunkan jumlah penetrasi nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> pada bibit Kopi Arabika?                      c. Apakah hasil penelitian layak digunakan</p>	<p>Variabel bebas : jenis bakteri endofit hasil isolasi dari akar tanaman kopi sehat diantara tanaman kopi yang terserang nematoda <i>Radopholus similis</i>.</p> <p>Variabel terikat : Jumlah nematoda <i>P. coffeae</i> pada akar bibit Kopi Arabika dan adanya bakteri endofit di dalam akar bibit Kopi Arabika</p> <p>Variabel kontrol                      e) Media tanam yang digunakan                      f) Bibit Kopi Arabika yang digunakan berumur 3 bulan dan benih berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia</p>	<p>a. Jumlah nematoda <i>P.coffeae</i> pada akar bibit Kopi Arabika.                      b. Ada bakteri endofit yang diinokulasikan kedalam akar pada hasil reisolasi</p>	<p>Isolasi bakteri endofit diperoleh dari hasil isolasi jaringan akar tanaman Kopi Arabika (<i>Coffeae arabica</i>) yang sehat diantara tanaman Kopi Arabika (<i>Coffeae arabica</i>) yang terserang nematoda <i>Radopholus similis</i> pada</p>	<p>a. Jenis penelitian: Penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL).                      b. Metode pengumpulan data :                      a) Penelitian                      b) Dokumentasi                      c) Kepustakaan                      c. Waktu penelitian : Penelitian dilakukan pada bulan Oktober – Januari 2015.                      d. Analisis data : Analisis data yang digunakan adalah analisis data berupa uji ANOVA</p>

	<p>nematoda menggunakan bakteri endofit merupakan salah satu komponen pengendalian ramah lingkungan yang pada akhirnya ini banyak digunakan sebagai pengendalian biologi.</p>	<p>sebagai materi dalam penyusunan leaflet?</p>	<p>Kaliwining, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember.                  g) Sumber dan fase Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i>                  h) Sumber air penyiraman tanaman kopi yang digunakan berasal dari sumber air yang sama.</p>		<p>Perkebunan Kopi Arabika di daerah Ijen-Raung, Kabupaten Bondowoso.</p>	
--	---	---	---	--	---	--

**Lampiran C:** Lembar Penilaian dan Validasi Leaflet

**Bakteri Endofit Pengendali Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L) Ramah Lingkungan**

**I. Identitas Penulis**

Nama : Mar'atus Solikhah  
NIM : 120210103040  
Tempat/ Tanggal Lahir : Jombang/ 12 Juni 1994  
Jurusan/ Program Studi : Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember

**II. Identitas Validator Materi**

Nama :  
Alamat :  
Tempat/ Tanggal Lahir :  
Pekerjaan :

**III. Pengantar**

Dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penulis melaksanakan penelitian dengan judul “Potensi Bakteri Endofit terhadap Penetrasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Materi Penyusun Leaflet”.

Guna mencapai tujuan tersebut, penulis dengan hormat memohon kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian lembar kuesioner yang penulis ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu dalam mengisi lembar kuesioner yang penulis ajukan.

Hormat Saya,

Mar'atus Solikhah

**IV. Keterangan Skor Penilaian**

No	Skor	Kriteria	Penilaian
1	4	Sangat Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan sehingga dapat digunakan sebagai leaflet
2	3	Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sesuai, meskipun ada sedikit kekurangan dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
3	2	Cukup	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai kurang sesuai dan ada sedikit kekurangan dan atau banyak dengan leaflet ini dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
4	1	Kurang	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai tidak sesuai dan ada kekurangan dengan leaflet ini sehingga sangat dibutuhkan pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet

**V. Petunjuk**

1. Jika perlu adanya revisi, mohon Bapak/Ibu memberikan masukan pada bagian saran atau komentar di bagian akhir lembar instrumen ini.
2. Mohon Bapak/ Ibu memberikan penilaian dengan cara memberikan tanda *checklist* (√) pada kolom yang tersedia.

**VI. Instrumen Penilaian Leaflet**

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Materi yang disampaikan aktual dan bermanfaat				
2	Materi yang disampaikan sesuai dengan keadaan yang berhubungan dengan kehidupan sehari-hari				
3	Materi yang disampaikan berisi bagian awal berupa sampul dan pendahuluan. Isi berupa uraian penulis.				
4	Materi yang disampaikan bersifat informatif bagi masyarakat				
5	Isi materi/isi disusun secara sistematis, lugas dan mudah dipahami oleh masyarakat				
6	Materi merupakan karya orisinil (bukan hasil plagiat)				
7	Materi memiliki kebenaran keilmuan, sesuai dengan perkembangan ilmu yang akurat				
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram atau tabel) yang digunakan sesuai				
9	Bahasa (EYD, kata, kalimat dan paragraf) yang digunakan tepat, lugas, dan jelas sehingga mudah dipahami masyarakat				
10	Penyajian materi sebagai sumber pengembangan pengetahuan untuk wawasan yang lebih luas				
11	Penyajian materi mengembangkan keterampilan, dan memotivasi untuk berinovasi				
<b>Total Skor</b>					

**VII. Komentar dan Saran**

.....

.....

.....

**VIII. Kesimpulan**

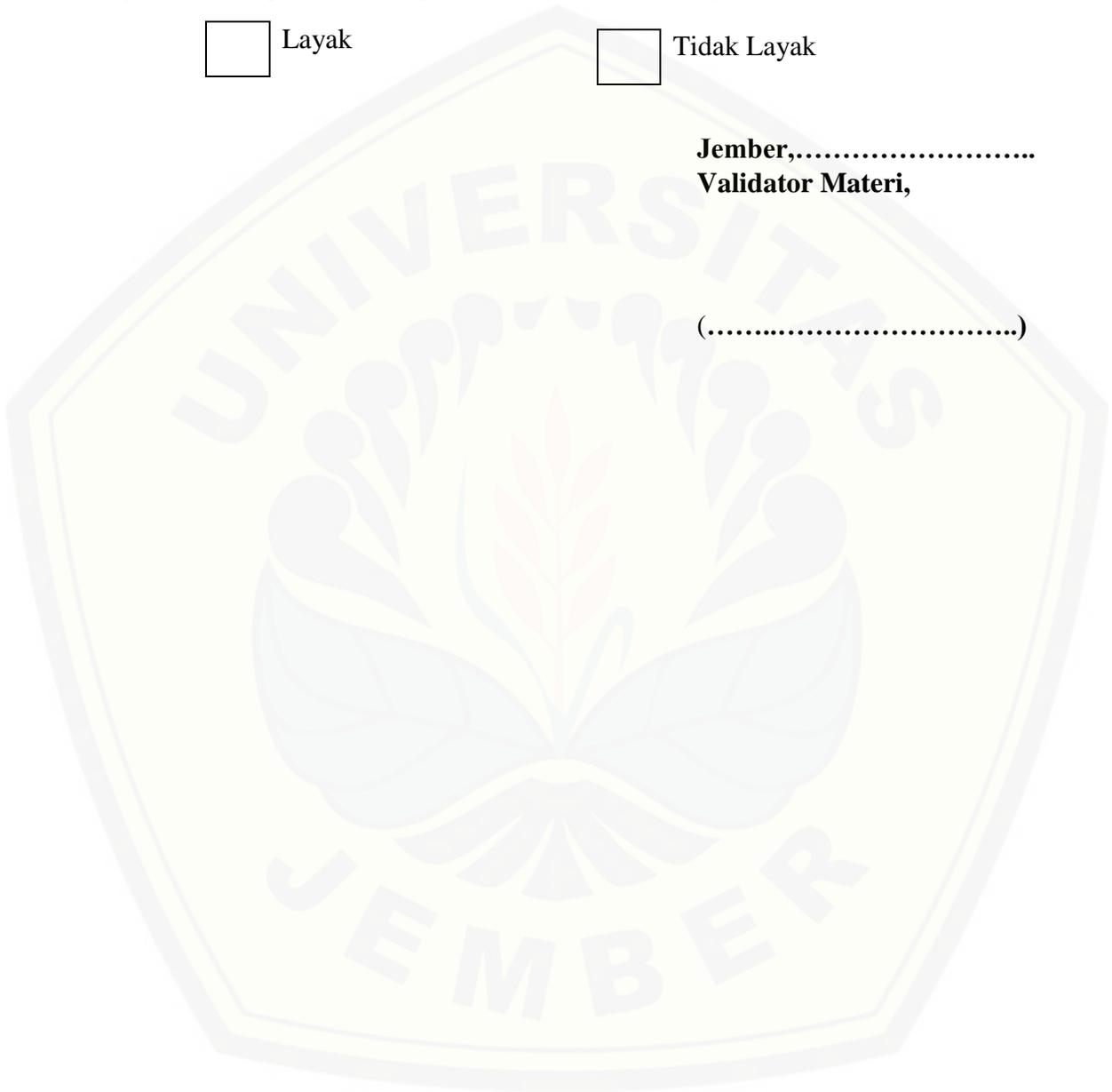
Dilihat dari semua aspek yang dinilai, apakah leaflet ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai sumber informasi masyarakat?

Layak

Tidak Layak

**Jember,.....**  
**Validator Materi,**

(.....)



**Bakteri Endofit Pengendali Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L) Ramah Lingkungan**

**I. Identitas Penulis**

Nama : Mar'atus Solikhah  
NIM : 120210103040  
Tempat/ Tanggal Lahir : Jombang/ 12 Juni 1994  
Jurusan/ Program Studi : Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember

**II. Identitas Validator Media**

Nama :  
Alamat :  
Tempat/ Tanggal Lahir :  
Pekerjaan :

**III. Pengantar**

Dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penulis melaksanakan penelitian dengan judul “Potensi Bakteri Endofit terhadap Penetrasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Materi Penyusun Leaflet”.

Guna mencapai tujuan tersebut, penulis dengan hormat memohon kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian lembar kuesioner yang penulis ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu dalam mengisi lembar kuesioner yang penulis ajukan.

Hormat Saya,

Mar'atus Solikhah

**IV. Keterangan Skor Penilaian**

No	Skor	Kriteria	Penilaian
1	4	Sangat Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan sehingga dapat digunakan sebagai leaflet
2	3	Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sesuai, meskipun ada sedikit kekurangan dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
3	2	Cukup	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai kurang sesuai dan ada sedikit kekurangan dan atau banyak dengan leaflet ini dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
4	1	Kurang	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai tidak sesuai dan ada kekurangan dengan leaflet ini sehingga sangat dibutuhkan pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet

**V. Petunjuk**

3. Jika perlu adanya revisi, mohon Bapak/Ibu memberikan masukan pada bagian saran atau komentar di bagian akhir lembar instrument ini.
4. Mohon Bapak/ Ibu memberikan penilaian dengan cara memberikan tanda *checklist* (√) pada kolom yang tersedia.

**VI. Instrumen Penilaian Leaflet**

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Desain fisik dan pemilihan warna tiap bagian terlihat serasi				
2	Tata letak dan <i>Lay out</i> menarik				
3	Kesinambungan transisi halaman				
4	Ketepatan penggunaan gambar, ilustrasi, dan foto serta kesesuaiannya dengan materi yang dibahas				
5	Kesesuaian penggunaan variasi jenis, ukuran, dan bentuk huruf untuk judul dan uraian materi				
6	Keruntutan penyajian bersifat sistematis				
7	Narasi yang disajikan padat dan jelas				
8	Jenis kertas yang digunakan sesuai standar minimal leaflet				
9	Ukuran leaflet sesuai dengan standar minimal leaflet				
10	Desain tidak menimbulkan masalah SARA				
11	Penyajian bahasa yang digunakan terlihat etis, estetis, komunikatif, informatif sesuai dengan sasaran pembaca				
<b>Total Skor</b>					

**VII. Komentar dan Saran**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

**VIII. Kesimpulan**

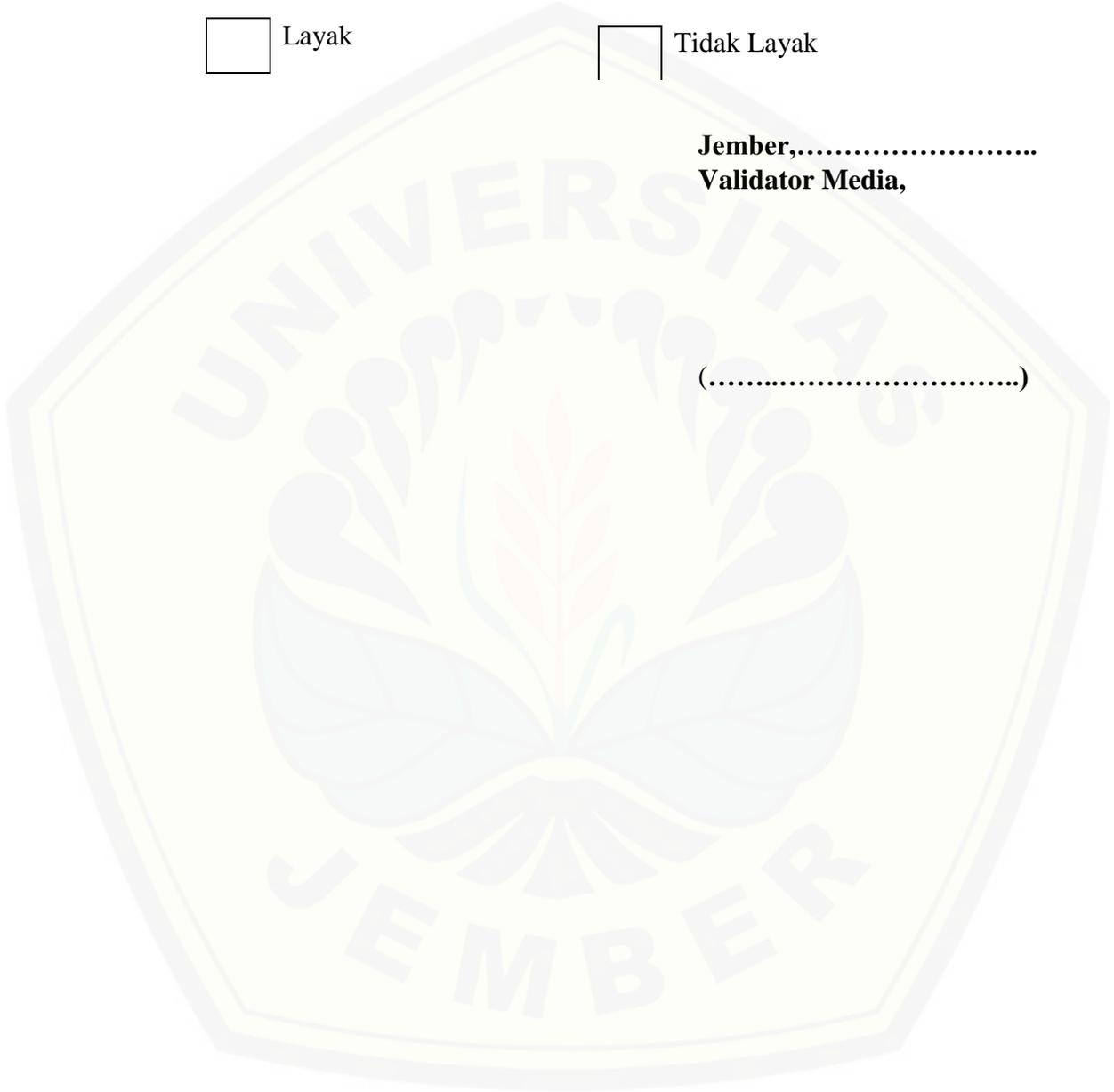
Dilihat dari semua aspek yang dinilai, apakah leaflet ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai sumber informasi masyarakat?

Layak

Tidak Layak

**Jember,.....**  
**Validator Media,**

(.....)



**Lampiran D Hasil Validasi Leaflet****Bakteri Endofit Pengendali Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L) Ramah Lingkungan****I. Identitas Penulis**

Nama : Mar'atus Solikhah  
NIM : 120210103040  
Tempat/ Tanggal Lahir : Jombang/ 12 Juni 1994  
Jurusan/ Program Studi : Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember

**II. Identitas Validator Materi**

Nama : Aris Budiman  
Alamat : Nogosari, Rambipuji, Jember  
Tempat/ Tanggal Lahir : Bantel, 12 September 1990  
Pekerjaan : Karyawan Pustakaloka

**III. Pengantar**

Dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penulis melaksanakan penelitian dengan judul "Potensi Bakteri Endofit terhadap Penetrasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Materi Penyusun Leaflet".

Guna mencapai tujuan tersebut, penulis dengan hormat memohon kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian lembar kuesioner yang penulis ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu dalam mengisi lembar kuesioner yang penulis ajukan.

Hormat Saya,



Mar'atus Solikhah

**IV. Keterangan Skor Penilaian**

No	Skor	Kriteria	Penilaian
1	4	Sangat Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan sehingga dapat digunakan sebagai leaflet
2	3	Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sesuai, meskipun ada sedikit kekurangan dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
3	2	Cukup	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai kurang sesuai dan ada sedikit kekurangan dan atau banyak dengan leaflet ini dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
4	1	Kurang	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai tidak sesuai dan ada kekurangan dengan leaflet ini sehingga sangat dibutuhkan pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet

**V. Petunjuk**

1. Jika perlu adanya revisi, mohon Bapak/Ibu memberikan masukan pada bagian saran atau komentar di bagian akhir lembar instrumen ini.
2. Mohon Bapak/ Ibu memberikan penilaian dengan cara memberikan tanda *checklist* (√) pada kolom yang tersedia.

**VI. Instrumen Penilaian Leaflet**

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Materi yang disampaikan aktual dan bermanfaat			✓	
2	Materi yang disampaikan sesuai dengan keadaan yang berhubungan dengan kehidupan sehari-hari			✓	
3	Materi yang disampaikan berisi bagian awal berupa sampul dan pendahuluan. Isi berupa uraian penulis.			✓	
4	Materi yang disampaikan bersifat informatif bagi masyarakat				✓
5	Isi materi/isi disusun secara sistematis, lugas dan mudah dipahami oleh masyarakat			✓	
6	Materi merupakan karya orisinal (bukan hasil plagiat)				✓
7	Materi memiliki kebenaran keilmuan, sesuai dengan perkembangan ilmu yang akurat			✓	
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram atau tabel) yang digunakan sesuai			✓	
9	Bahasa (EYD, kata, kalimat dan paragraf) yang digunakan tepat, lugas, dan jelas sehingga mudah dipahami masyarakat			✓	
10	Penyajian materi sebagai sumber pengembangan pengetahuan untuk wawasan yang lebih luas			✓	
11	Penyajian materi mengembangkan keterampilan, dan memotivasi untuk berinovasi			✓	
<b>Total Skor</b>					

**VII. Komentar dan Saran**

→ judul = Coffea arabica L → harus italic / miring  
 - jika gambar bukan dari milik pribadi harus dicantumkan sumbernya  
 - beberapa format penulisan ada yang harus di benarkan.

**VIII. Kesimpulan**

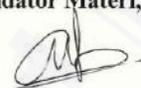
Dilihat dari semua aspek yang dinilai, apakah leaflet ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai buku bacaan masyarakat?

Layak

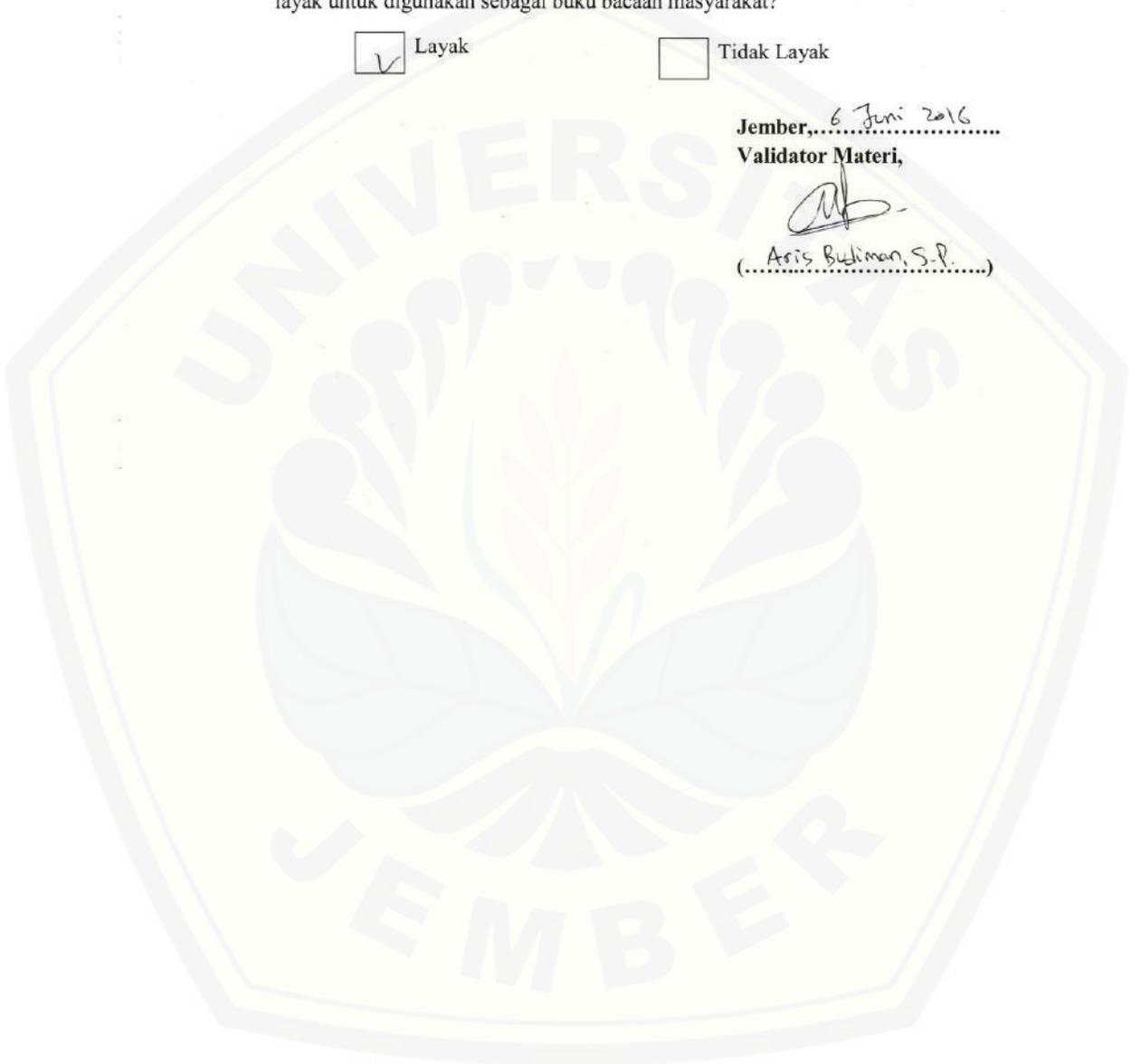
Tidak Layak

Jember, 6 Juni 2016

Validator Materi,



(... Aris Budiman, S.P. ...)



**Bakteri Endofit Pengendali Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L) Ramah Lingkungan**

**I. Identitas Penulis**

Nama : Mar'atus Solikhah  
NIM : 120210103040  
Tempat/ Tanggal Lahir : Jombang/ 12 Juni 1994  
Jurusan/ Program Studi : Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember

**II. Identitas Validator Media**

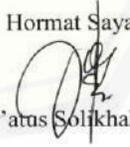
Nama : Vendi Eko Suknu, S.Pd., M.H.  
Alamat : Perum Kebontani Indah Blok. 7. 11  
Tempat/ Tanggal Lahir : Probolingso, 29 Februari 1988  
Pekerjaan : Dosen

**III. Pengantar**

Dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penulis melaksanakan penelitian dengan judul "Potensi Bakteri Endofit terhadap Penetrasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* serta Pemanfaatannya sebagai Materi Penyusun Leaflet".

Guna mencapai tujuan tersebut, penulis dengan hormat memohon kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian lembar kuesioner yang penulis ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu dalam mengisi lembar kuesioner yang penulis ajukan.

Hormat Saya,

  
Mar'atus Solikhah

## IV. Keterangan Skor Penilaian

No	Skor	Kriteria	Penilaian
1	4	Sangat Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan sehingga dapat digunakan sebagai leaflet
2	3	Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sesuai, meskipun ada sedikit kekurangan dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
3	2	Cukup	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai kurang sesuai dan ada sedikit kekurangan dan atau banyak dengan leaflet ini dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet
4	1	Kurang	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai tidak sesuai dan ada kekurangan dengan leaflet ini sehingga sangat dibutuhkan pembenaran agar dapat digunakan sebagai leaflet

## V. Petunjuk

3. Jika perlu adanya revisi, mohon Bapak/Ibu memberikan masukan pada bagian saran atau komentar di bagian akhir lembar instrument ini.
4. Mohon Bapak/ Ibu memberikan penilaian dengan cara memberikan tanda *checklist* (√) pada kolom yang tersedia.

## VI. Instrumen Penilaian Leaflet

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Desain fisik dan pemilihan warna tiap bagian terlihat serasi			✓	
2	Tata letak dan <i>Lay out</i> menarik			✓	
3	Kesinambungan transisi halaman			✓	
4	Ketepatan penggunaan gambar, ilustrasi, dan foto serta kesesuaiannya dengan materi yang dibahas				✓
5	Kesesuaian penggunaan variasi jenis, ukuran, dan bentuk huruf untuk judul dan uraian materi			✓	
6	Keruntutan penyajian bersifat sistematis			✓	
7	Narasi yang disajikan padat dan jelas				✓
8	Jenis kertas yang digunakan sesuai standar minimal leaflet			✓	
9	Ukuran leaflet sesuai dengan standar minimal leaflet				
10	Desain tidak menimbulkan masalah SARA				✓
11	Penyajian bahasa yang digunakan terlihat etis, estetis, komunikatif, informatif sesuai dengan sasaran pembaca				✓
<b>Total Skor</b>					

## VII. Komentar dan Saran

Pada dasarnya leaflet ini sudah layak, akan tetapi pada beberapa bagian perlu perbaikan diantaranya: kesesuaian gambar perlu diperbesar, layout hbs tidak dengan layout kurang, sehingga kurang terbaca

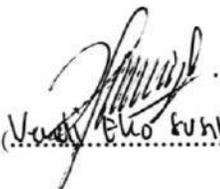
## VIII. Kesimpulan

Dilihat dari semua aspek yang dinilai, apakah leaflet ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai buku bacaan masyarakat?

Layak

Tidak Layak

Jember, Selasa, 07 Juni 2016  
Validator Media,

  
(Vandy Eho Kusilo)

**Lampiran E Desain Leaflet**



**Lampiran F Data Hasil Analisis SPSS**

**NPar Tests**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
bakteri	24	4.5000	2.34057	1.00	8.00
nematoda	24	11.1250	10.44369	1.00	39.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		bakteri	nematoda
N		24	24
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	4.5000	11.1250
	Std. Deviation	2.34057	10.44369
Most Extreme Differences	Absolute	.114	.188
	Positive	.114	.188
	Negative	-.114	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		.559	.922
Asymp. Sig. (2-tailed)		.913	.363

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway**

**Descriptives**

Nematoda

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	3.6667	.57735	.33333	2.2324	5.1009	3.00	4.00
B	3	6.6667	2.08167	1.20185	1.4955	11.8378	5.00	9.00
C	3	18.3333	8.62168	4.97773	-3.0841	39.7508	9.00	26.00
D	3	8.6667	4.16333	2.40370	-1.6756	19.0090	4.00	12.00
E	3	2.3333	1.15470	.66667	-.5351	5.2018	1.00	3.00
F	3	1.6667	1.15470	.66667	-1.2018	4.5351	1.00	3.00
G	3	17.6667	5.03322	2.90593	5.1634	30.1699	13.00	23.00
H	3	30.0000	9.00000	5.19615	7.6428	52.3572	21.00	39.00
Total	24	11.1250	10.44369	2.13181	6.7150	15.5350	1.00	39.00

**Post Hoc Tests  
Homogeneous Subsets**

**Test of Homogeneity of Variances**

nematoda

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.373	7	16	.072

**ANOVA**

nematoda

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2097.958	7	299.708	11.677	.000
Within Groups	410.667	16	25.667		
Total	2508.625	23			

**Post Hoc Tests  
Homogeneous Subsets**

nematoda

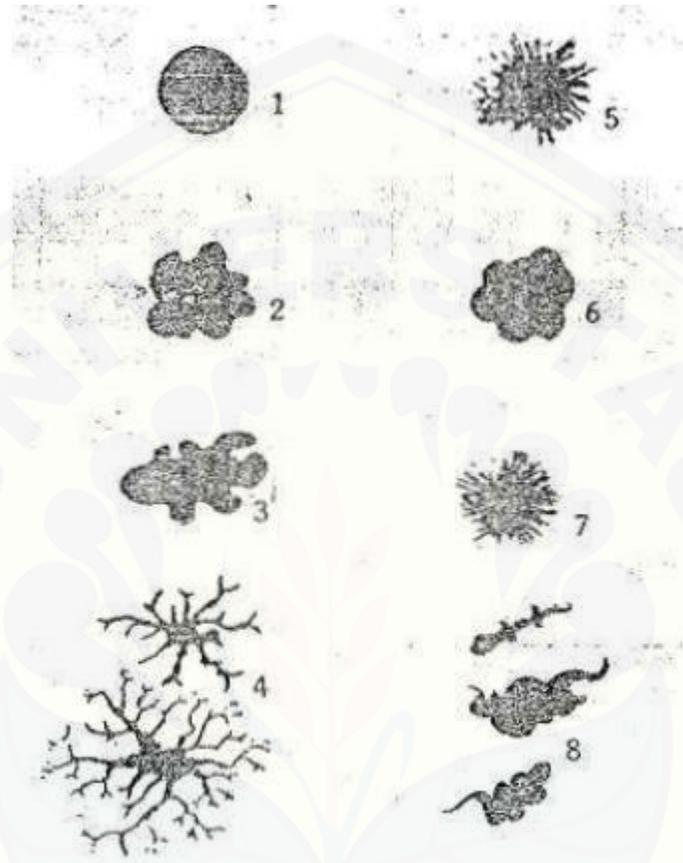
Duncan<sup>a</sup>

bakteri	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
F	3	1.6667		
E	3	2.3333		
A	3	3.6667		
B	3	6.6667		
D	3	8.6667		
G	3		17.6667	
C	3		18.3333	
H	3			30.0000
Sig.		.145	.874	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

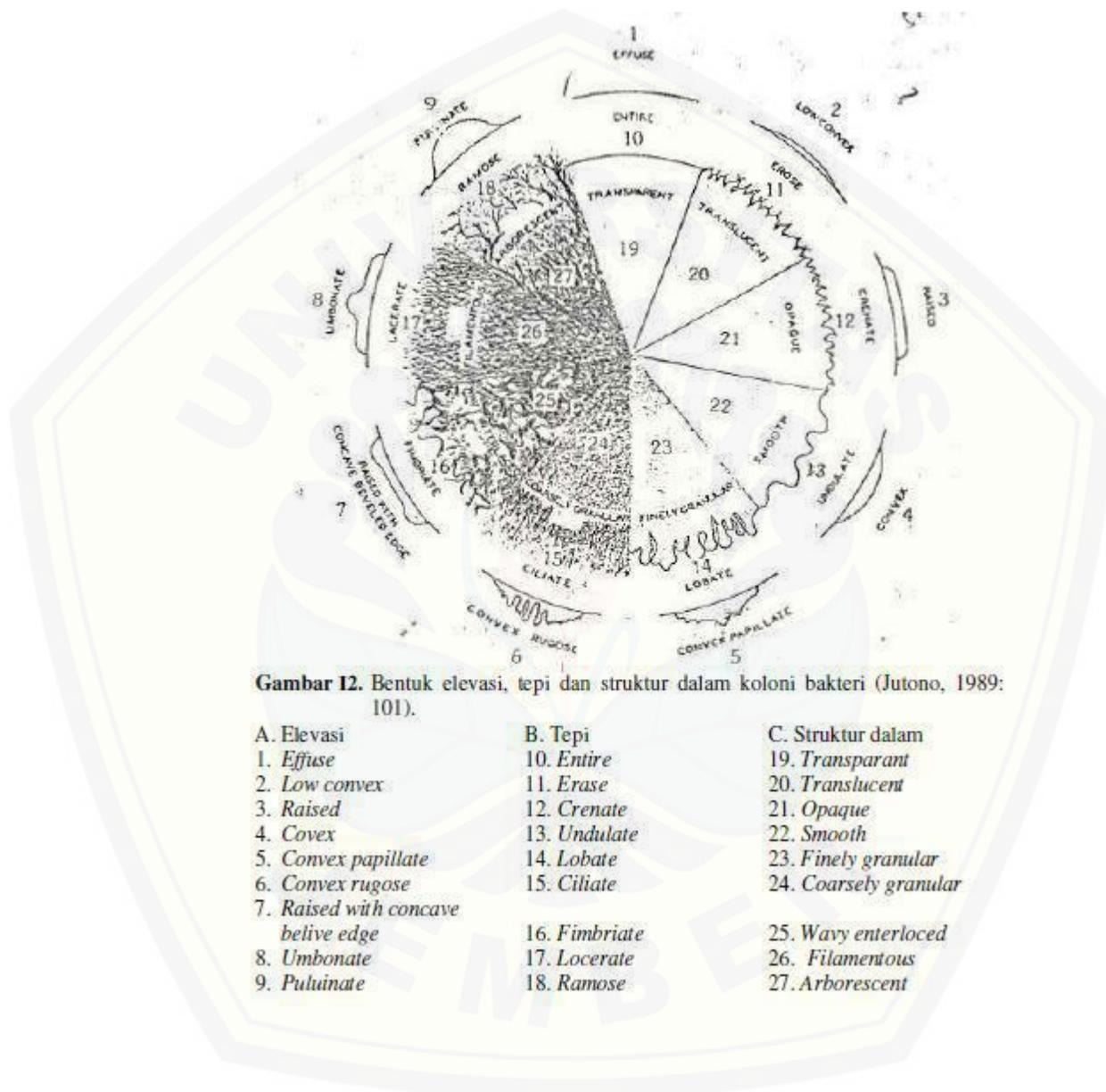
**Lampiran G PETUNJUK PENGAMATAN REISOLASI KARAKTER  
MORFOLOGI MAKROSKOPIS**



**Gambar 11.** Bentuk-bentuk koloni (Jutono, 1989: 100).

- |                     |                       |
|---------------------|-----------------------|
| 1. <i>Circular</i>  | 5. <i>Filamentous</i> |
| 2. <i>Irregular</i> | 6. <i>Curved</i>      |
| 3. <i>Amoeboid</i>  | 7. <i>Myceloid</i>    |
| 4. <i>Rhizoid</i>   | 8. <i>Toruloid</i>    |

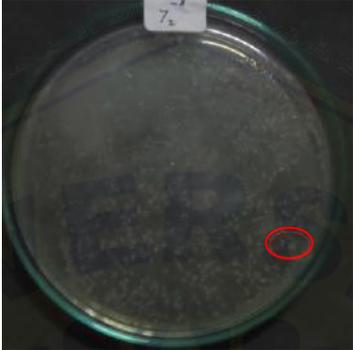
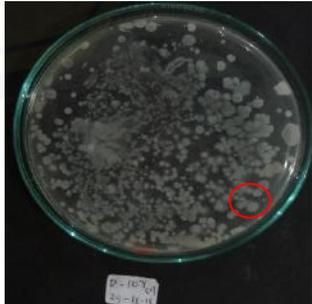
LANJUTAN LAMPIRAN G PETUNJUK PENGAMATAN REISOLASI  
KARAKTER MORFOLOGI MAKROSKOPIS

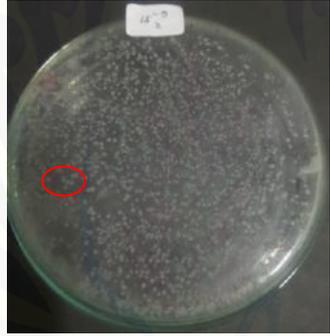
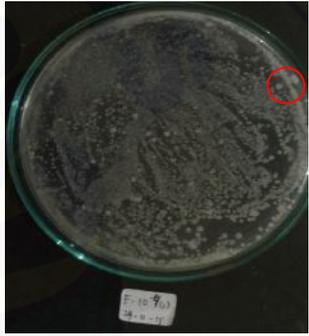


Gambar 12. Bentuk elevasi, tepi dan struktur dalam koloni bakteri (Jutono, 1989: 101).

- |  |                      |                              |
|--|----------------------|------------------------------|
| A. Elevasi                                 | B. Tepi              | C. Struktur dalam            |
| 1. <i>Effuse</i>                           | 10. <i>Entire</i>    | 19. <i>Transparent</i>       |
| 2. <i>Low convex</i>                       | 11. <i>Erose</i>     | 20. <i>Translucent</i>       |
| 3. <i>Raised</i>                           | 12. <i>Crenate</i>   | 21. <i>Opaque</i>            |
| 4. <i>Convex</i>                           | 13. <i>Undulate</i>  | 22. <i>Smooth</i>            |
| 5. <i>Convex papillate</i>                 | 14. <i>Lobate</i>    | 23. <i>Finely granular</i>   |
| 6. <i>Convex rugose</i>                    | 15. <i>Ciliate</i>   | 24. <i>Coarsely granular</i> |
| 7. <i>Raised with concave beveled edge</i> | 16. <i>Fimbriate</i> | 25. <i>Wavy entangled</i>    |
| 8. <i>Umbonate</i>                         | 17. <i>Lacerate</i>  | 26. <i>Filamentous</i>       |
| 9. <i>Plicate</i>                          | 18. <i>Ramose</i>    | 27. <i>Arborescent</i>       |

**Lampiran H. Perbedaan Karakter isolat Induk dengan Hasil Reisolasi**

Perlakuan	Kode Bakteri	Gambar Isolat Induk	Gambar Isolat Hasil Reisolasi
1	Bakteri A		
2	Bakteri B		
3	Bakteri C		
4	Bakteri D		

Perlakuan	Kode Bakteri	Gambar Isolat Induk	Gambar Isolat Hasil Reisolasi
5	Bakteri E		
6	Bakteri F		
7	Bakteri G		

**Lampiran I ALAT DAN BAHAN PENELITIAN**



Gambar H.1 *Autoclave*



Gambar H.2 Gunting pemotong akar



Gambar H.3 Saringan



Gambar H.4 Blender



Gambar H.5 *Handcounter*

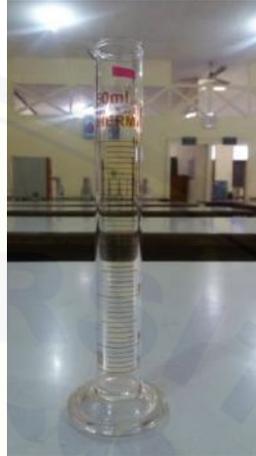


Gambar H.6 *Stopwatch*

**Lanjutan Lampiran I ALAT DAN BAHAN PENELITIAN**



Gambar H.7 Mikropipet



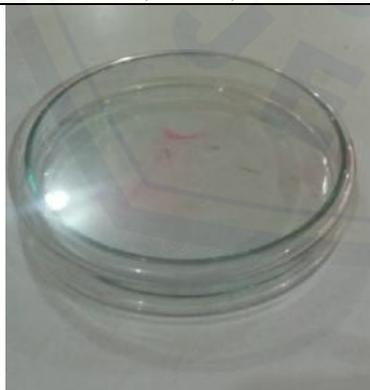
Gambar H.8 Gelas ukur 50 ml



Gambar H.9 Cawan penggerus (mortal)



Gambar H.10 Beaker glass 100ml



Gambar H.11 Cawan petri



Gambar H.12 Pemanas Bunsen

**Lanjutan Lampiran I ALAT DAN BAHAN PENELITIAN**



Gambar H.13 Jarum ose



Gambar H.14 Tabung reaksi



Gambar H.15 Kompor listrik



Gambar H.16 Rak tabung



Gambar H.17 *Counting disk*

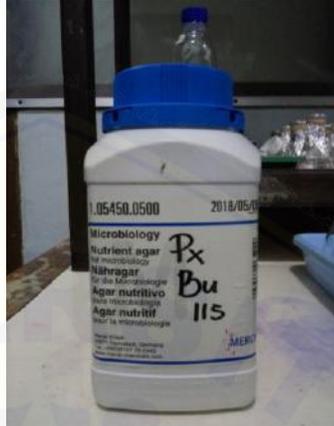


Gambar H.18 Neraca

**Lanjutan Lampiran I ALAT DAN BAHAN PENELITIAN**



Gambar H.19 Medium TSA



Gambar H.20 Medium NA



Gambar H.21 Safranin



Gambar H.22 Beaker glass 100ml



Gambar H.23 Alkohol 95%



Gambar H.24 Alkohol 70%

**Lampiran J KEGIATAN PENELITIAN**



Gambar J.1 Proses persiapan bibit kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.)



Gambar J.2 Proses pengambilan akar kopi yang terserang nematoda *P. coffeae* untuk proses ekstraksi



Gambar J.3 Penghalusan akar dengan blender untuk proses ekstraksi nematoda pada metode Baermann



Gambar J.4 Proses penyaringan dan pengendapan nematoda pada metode Baermann dengan saringan 40 mesh dan kain saring selama 24 jam



Gambar J.5 Pemandangan bibit pada pot sebelum diberi perlakuan



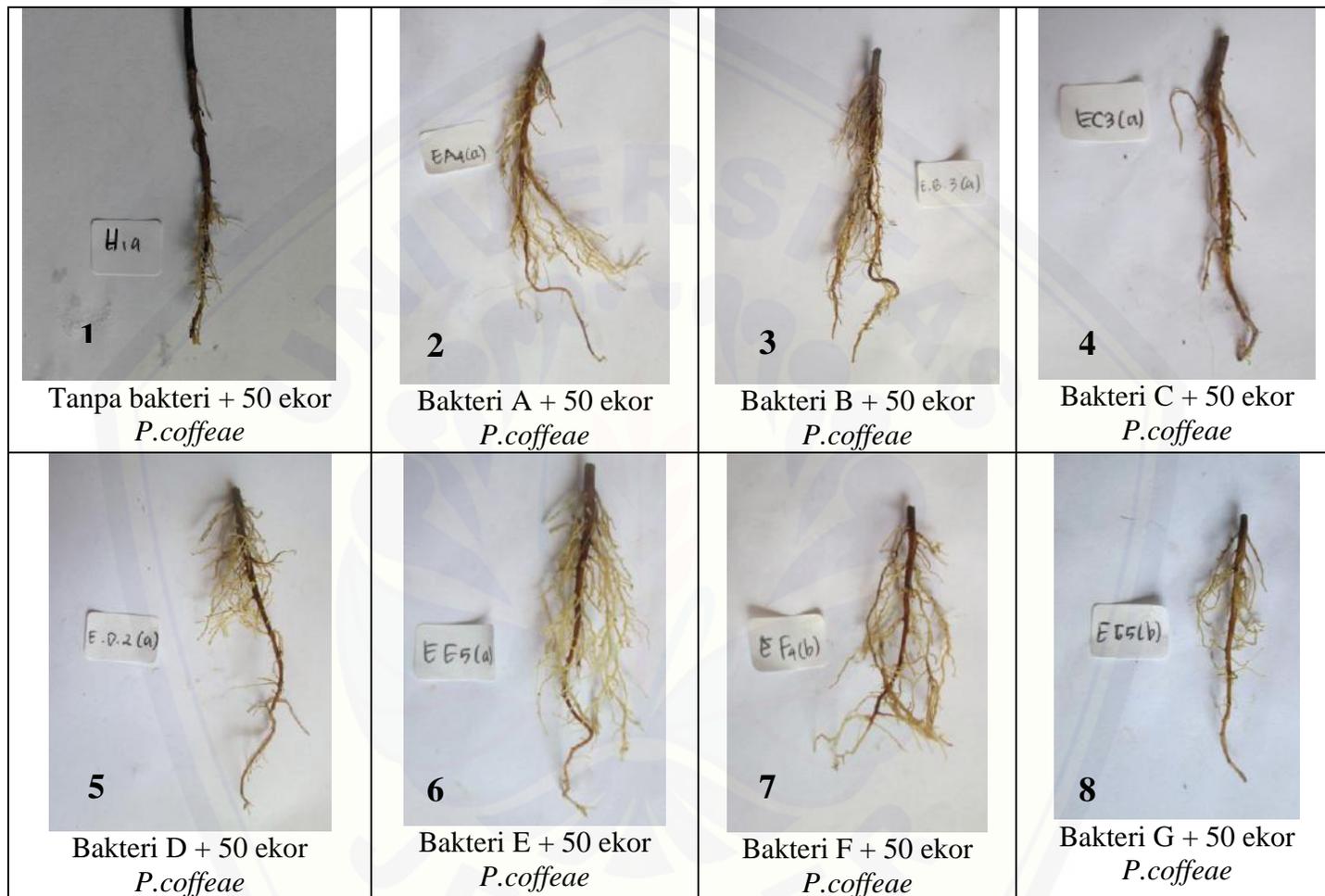
Gambar J.6 Pemotongan akar untuk proses pewarnaan



Gambar J.7 Proses pewarnaan akar untuk pengamatan penetrasi nematoda



Gambar J.8 Proses pengamatan penetrasi nematoda pada jaringan akar



Gambar J.9 Gambar akar bibit kopi Arabika di akhir penelitian

## Lampiran K SURAT IJIN PENELITIAN



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121  
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475  
Laman: www.fkip.unej.ac.id

13 MAY 2015

Nomor : 2904/UN25.1.5/LT/2015  
Lampiran : -  
Perihal : Permohonan Izin Penelitian

Yth. Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Jember

Diberitahukan dengan hormat, bahwa mahasiswa FKIP Universitas Jember di bawah ini:

No.	Nama	NIM	Program Studi
1	Eva Paramita	110210103071	Pendidikan Biologi
2	Qurotul A'yuni	120210103001	Pendidikan Biologi
3	Danti Prellasita S.	120210103004	Pendidikan Biologi
4	Ellena Lillipaly F.L.	120210103005	Pendidikan Biologi
5	Gepsi Aprilia	120210103037	Pendidikan Biologi
6	Mar'atus Solikhah	120210103040	Pendidikan Biologi
7	Wulan Anggraeni	120210103048	Pendidikan Biologi
8	Winda Alfianti	120210103068	Pendidikan Biologi
9	Lutfiatul Hasanah	120210103077	Pendidikan Biologi
10	Intan Khoiriah	120210103083	Pendidikan Biologi
11	Ervan Prasetyo	120210103084	Pendidikan Biologi
12	Rizka Haqi Abadi	120210103100	Pendidikan Biologi
13	Yenny Rahma	120210103101	Pendidikan Biologi

Berkenaan dengan penelitian dosen, mahasiswa tersebut bermaksud melakukan penelitian di laboratorium steril gedung E Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Biologi Universitas Jember. Sehubungan dengan hal tersebut, mohon Saudara berkenan memberikan izin dan sekaligus memberikan bantuan informasi yang diperlukannya.

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik kami sampaikan terima kasih.



## Tembusan Yth:

1. Laboratorium Steril FKIP Unej
2. Arsip.