

**ABSTRAK
PENELITIAN KKP3N**



**OPTIMALISASI PERANAN MIKORIZA *Glomus* spp. DALAM
MENGENDALIKAN NEMATODA *Pratylenchus coffeae*
(>80%) DAN MENINGKATKAN KETERSEDIAAN
P TANAH PADA TANAMAN KOPI DENGAN
PENAMBAHAN MYCORRHIZA HELPER BACTERIA**

Tahun ke *ketiga* dari rencana *tiga* tahun

TIM PENGUSUL

**Dr. Iis Nur Asyiah, SP.,MP
Dr. Ir. Reginawanti Hindersah, MP
Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si
Dr. Ir. Betty Natalie Fitriatin, MP
Widi Amaria, SP., MP**

**UNIVERSITAS JEMBER
Desember 2016**

OPTIMALISASI PERANAN MIKORIZA *Glomus* spp. DALAM MENGENDALIKAN NEMATODA *Pratylenchus coffeae* (>80%) DAN MENINGKATKAN KETERSEDIAAN P TANAH PADA TANAMAN KOPI DENGAN PENAMBAHAN MYCORRHIZA HELPER BACTERIA

Peneliti : Iis Nur Asyiah¹, Reginawanti H², Imam Mudakir¹, Widi Amaria³, Betty Natalie Fitriatin²

Mahasiswa yang terlibat : Oke Lolita Pratiwi¹, Arum Dina Hidayati¹

Sumber Dana : KKP3N Litbang Departemen Pertanian

¹ Prodi Pendidikan Biologi, FKIP UNEJ

² Universitas Padjajaran

³ Balai Penelitian Tanaman Industri, Sukabumi

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk 1) reformulasi dan *scale up* inokulan cair MHB sehingga siap diproduksi dalam skala besar, 2) *scale up* produksi spora mikoriza *Glomus* spp dengan penambahan formula cair MHB 10⁸ sehingga siap diproduksi dalam skala besar, 3) menguji agen hayati hasil reformulasi baik inokulan tunggal maupun konsorsium terhadap populasi *P. coffeae*, pertumbuhan benih kopi arabika dan kandungan P tanah, dan 4) memproses pengajuan HaKI.

Reformulasi dan *scaling up* inokulan cair MHB dengan media basal molase 2%, *scaling up* produksi spora mikoriza *Glomus* spp. dalam media zeolit dengan penambahan inokulan cair MHB dengan perbandingan volume *P. diminuta*: *B. subtilis* 2:3 dan kerapatan sel 10⁸. Uji hayati dilakukan terhadap inokulan cair MHB hasil reformulasi dengan rancangan acak kelompok, pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan tanaman, derajat infeksi mikoriza, kandungan P jaringan dan tanah, serta populasi nematoda dalam tanah dan akar.

Hasil penelitian **tahun ketiga** menunjukkan bahwa : media pembiakan massal terbaik untuk *B. subtilis* adalah komposisi molase 2%, NH₄Cl 0,05 %, dan KH₂PO₄ 0,1 %, sedangkan untuk *P. diminuta* adalah komposisi molase 1%, 0,1 %, dan KH₂PO₄ 0,1 %; konsorsium *P. diminuta* : *B. subtilis* yang digunakan untuk pembuatan formula cair adalah perbandingan 2:3; hasil *scale up* mikoriza yang diperkaya dengan MHB menunjukkan bahwa perlakuan jarak tanam 10 cm x10 cm; perlakuan terbaik dalam uji hayati adalah perlakuan *G. agregatum* + MHB 10⁹; penurunan *P. coffeae* mencapai 70,79% sedangkan peningkatan unsur P total mencapai 57,287 % pada tanah dan 61,909 % pada jaringan; pengamatan pada mikoriza hasil penelitian tahun kedua dengan usia simpan 10 bulan menunjukkan bahwa derajat infeksi pada tanaman jagung mencapai 80,4 % dengan kandungan *E.colli* dan *Salmonella* hanya 10¹ cfu/ml

Kata kunci : *Pratylenchus coffeae*, *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB), *scale up*, mikoriza

**EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN KKP3N**



**OPTIMALISASI PERANAN MIKORIZA *Glomus* spp. DALAM
MENGENDALIKAN NEMATODA *Pratylenchus coffeae*
(>80%) DAN MENINGKATKAN KETERSEDIAAN
P TANAH PADA TANAMAN KOPI DENGAN
PENAMBAHAN MYCORRHIZA HELPER BACTERIA**

Tahun ke *ketiga* dari rencana *tiga* tahun

TIM PENGUSUL

**Dr. Iis Nur Asyiah, SP.,MP
Dr. Ir. Reginawanti Hindersah, MP
Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si
Dr. Ir. Betty Natalie Fitriatin, MP
Widi Amaria, SP., MP**

**UNIVERSITAS JEMBER
Desember 2016**

OPTIMALISASI PERANAN MIKORIZA *Glomus* spp. DALAM MENGENDALIKAN NEMATODA *Pratylenchus coffeae* (>80%) DAN MENINGKATKAN KETERSEDIAAN P TANAH PADA TANAMAN KOPI DENGAN PENAMBAHAN MYCORRHIZA HELPER BACTERIA

Peneliti : Iis Nur Asyiah¹, Reginawanti H², Imam Mudakir¹, Widi Amaria³, Betty Natalie Fitriatin²

Mahasiswa yang terlibat : Oke Lolita Pratiwi¹, Arum Dina Hidayati¹

Kontak Email : iisnaza@gmail.com

Diseminasi : Seminar Internasional IBSC

¹ Prodi Pendidikan Biologi, FKIP UNEJ

² Universitas Padjajaran

³ Balai Penelitian Tanaman Industri, Sukabumi

EXECUTIVE SUMMARY

A. Latar Belakang

Nematoda *Pratylenchus coffeae* merupakan nematoda parasit utama pada tanaman kopi robusta maupun arabika yang berpotensi menurunkan hasil sampai 78% dan mempercepat kematian bibit kopi.

Telah diketahui bahwa mikoriza mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi dan mengendalikan nematoda *P. Coffeae*, tetapi kerapatan mikoriza dalam tanah menurun secara nyata dengan adanya nematoda. Kerapatan mikoriza bisa ditingkatkan dengan memanfaatkan *Mycorrhiza helper bacteria* (MHB), yaitu golongan bakteri yang dapat membantu mikoriza menjalankan perannya.

Diketahui pula bahwa kombinasi *Phosphate Solubilizing Bacteria* (PSB) dan mikoriza dapat meningkatkan pertumbuhan dan kandungan P tanaman. Kompleksitas interaksi di dalam mikorizosfer dapat dieksploitasi dengan menggunakan kombinasi mikoriza, MHB dan PSB dalam mengatasi serangan *P. coffeae* sekaligus meningkatkan pertumbuhan tanaman dan meningkatkan ketersediaan hara P mengingat rendahnya ketersediaan hara P pada kebanyakan tanah tropis.

Pemanfaatan formula dari hasil penelitian ini akan meningkatkan kesejahteraan petani kopi dan devisa negara melalui pengurangan biaya produksi dan peningkatan hasil tanaman.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan utama penelitian ini (dicapai dalam waktu 3 tahun) adalah mendapat **agen hayati plus** berbahan aktif mikoriza, *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB) dan *Phosphate Solubilizing Bacteria* (PSB) yang mampu mengendalikan *Pratylenchus coffeae* sekaligus meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi dan ketersediaan hara P.

Tujuan pada tahun ke-3 (2016) ini adalah:

- 1) reformulasi dan *scaling up* inokulan cair MHB sehingga siap diproduksi dalam skala besar,
- 2) *scaling up* produksi spora mikoriza *Glomus* spp dengan penambahan formula cair MHB 10⁸ sehingga siap diproduksi dalam skala besar,
- 3) menguji agen hayati hasil reformulasi baik inokulan tunggal maupun konsorsium terhadap populasi *P. coffeae*, pertumbuhan benih kopi arabika dan kandungan P tanah.
- 4) memproses pengajuan HaKI.

C. Metode Penelitian

Penelitian Tahun Berjalan (2016)

Reformulasi dan *scaling up* inokulan cair *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB)

Pada tahap ini dilakukan reformulasi dan *scaling up* inokulan cair MHB dengan media basal molase 2% .

a. Tujuan

Tahapan penelitian ini bertujuan untuk 1) mengoptimalisasi media inokulan cair MHB sehingga mempunyai umur simpan minimal 6 bulan, 2) *scaling up* inokulan cair MHB untuk mendapatkan inokulan MHB sebanyak 60 L.

b. Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan yaitu *Pseudomonas diminuta* (koleksi pribadi) dan *Bacillus subtilis* (koleksi lab mikrobiologi Faperta Unpad), NA, *Nutrient Broth*, molase, *Pseudomonas Agar Base*, dan *HiCrome™ Bacillus Agar*. Peralatan yang digunakan antara lain adalah cawan Petri, mikropipet, *shaker*, fermentor 2 L, fermentor 15 L, aerator, vorteks, tabung reaksi, refrigerator, inkubator, gelas ukur, gelas beaker, mikroskop, autoklaf, timbangan.

c. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di lab. Mikrobiologi Universitas Jember dan lab. Biologi Tanah UNPAD.

d. Metode Penelitian

d.1 Reformulasi inokulan cair MHB

d.1.1 Pembuatan Propagul MHB

Propagul mikroba MHB disiapkan dengan cara sebagai berikut: biakan murni *B. subtilis* dan *P. diminuta* masing-masing ditumbuhkan pada media nutrient agar dan Pikovskaya agar. Setelah diinkubasikan dalam inkubator bersuhu 30 ± 2 °C selama 24 jam, diambil 3 *loop* penuh dan disuspensikan ke dalam 10 ml air steril, dikocok menggunakan vorteks supaya homogen, sehingga terbentuk suspensi dengan kerapatan 10^{12} cfu/ml. Sebanyak satu ml suspensi isolat tersebut dituangkan ke dalam 500 ml media Nutrient Broth (NB) dan Pikovskaya Broth di dalam erlenmeyer berkapasitas 750 ml, kemudian dimasukkan ke dalam penangas air bersuhu 30 °C sambil digoyangkan selama 24 jam. Sel bakteri kemudian dipanen dan disuspensikan ke dalam akuades steril. Selanjutnya 10% dari larutan propagul tadi dimasukkan ke dalam media perbanyakan massal.

d.1.2 Reformulasi inokulan MHB

Berdasarkan hasil penelitian tahun kedua, media perbanyakan massal MHB yang terbaik adalah molase 2% dengan pH awal 7. Inokulan cair MHB dalam bahan pembawa molase 2% dengan perbandingan volume 2:3 (*P. diminuta* : *B. subtilis*) memiliki kerapatan sel terbaik, tetapi ada penurunan kerapatan sel mulai dari umur simpan 2 bulan (60 hari). Untuk meningkatkan umur simpan, perlu dilakukan reformulasi mulai pada media pembiakan massal dengan penambahan ammonium klorida dan kalium hidroksi fosfat pada berbagai komposisi.

Tahap selanjutnya adalah penetapan komposisi *B. subtilis* dan *P. diminuta* dalam agen hayati konsorsium. Kultur *B. subtilis* dan *P. diminuta* dalam media terpilih dikombinasikan dalam 5 perbandingan, yaitu:

Perbandingan PD dan BS (v/v):

- a. 1:1
- b. 1:2
- c. 2:1
- d. 2:3 (komposisi terbaik tahun 2015)
- e. 3:2

Total kultur cair setelah dicampurkan adalah 300 mL yang ditempatkan di dalam Erlenmeyer 500 mL. Setelah dicampurkan, kultur diletakan di atas shaker dengan kecepatan

115 rpm selama 48 jam. Di akhir inkubasi dilakukan penetapan populasi kedua bakteri dengan metode TPC, pH, N, P.

d.1.4 Pengamatan

Pengamatan pada reformulasi media pembiakan massal dilakukan terhadap viabilitas bahan aktif dan pH pada umur 3 hari, sedangkan pengamatan pada perlakuan reformulasi inokulan cair dilakukan pada umur 7 hari, 1 bulan, dan 2 bulan setelah masa simpan. Perlakuan yang memiliki kerapatan sel tertinggi dan pH sesuai standar (3-8) digunakan sebagai dasar dalam scaling up inokulan cair MHB.

d.1.5 Analisis Statistik

Semua data yang diperoleh dianalisis dengan Anova menggunakan SPSS versi 16. Apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

d.2 Scaling up inokulan cair MHB

Scaling up inokulan cair MHB dilakukan dengan menggunakan media hasil tahap reformulasi. Fermentor yang digunakan berkapasitas 15 L untuk menghasilkan inokulan 60 L.

Perlakuan: Untuk menentukan aerasi yang tepat, scaling up dilakukan dalam 3 kecepatan putaran stirer, yaitu 100 rpm, 110 rpm, dan 120 rpm. Sebagai kontrol adalah inokulan cair MHB dalam fermentor kapasitas 2 L dengan kecepatan putaran stirer 100 rpm. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan. Setelah 3 hari, dilakukan formulasi dengan perbandingan volume sesuai hasil reformulasi kemudian disimpan dalam suhu kamar sampai 6 bulan.

Pengamatan: Pada umur simpan 1 bulan, 3 bulan dan 6 bulan diamati viabilitas bahan aktif dan pH. Untuk mendapatkan agen hayati dengan mutu sesuai PP 70 tahun 2011, dilakukan pengamatan kandungan *E.coli* dan *Salmonella* sp dengan metode MPN-durham dan uji lanjut pada media *E.coli* dan media *Salmonella* pada inokulan cair MHB dengan umur simpan 6 bulan.

Analisis Statistik: Semua data yang diperoleh dianalisis dengan Anova menggunakan SPSS versi 16. Apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Scaling up produksi spora mikoriza *Glomus spp.*

Pada tahap ini dilakukan *scaling up* produksi spora mikoriza *Glomus spp.* dalam media zeolit dengan penambahan inokulan cair MHB dengan perbandingan volume *P. diminuta*: *B. subtilis* 2:3 dan kerapatan sel 10^8 .

a. Tujuan

Tujuan dari tahapan ini adalah memproduksi spora mikoriza *Glomus spp.* sampai 100 kg yang diperkaya dengan inokulan cair MHB dalam skala yang lebih besar pada media zeolit.

b. Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan untuk perbanyak mikoriza adalah spora *Glomus spp.* (koleksi Faperta UGM), inokulan cair MHB dengan perbandingan volume *P. diminuta*: *B. subtilis* 2:3, asam laktat, asam fuchsin, NaCl, lactofenol blue solution, benih jagung, zeolit, dan hyponex. Peralatan yang digunakan antara lain adalah saringan (250 μm , 100 μm dan 50 μm), pot plastik ukuran 5 L, pot plastik ukuran 200 mL, gelas ukur, gelas beaker, sentrifuga, mikroskop, timbangan, dan penggaris.

c. Tempat penelitian

Tahap persiapan ini akan dilakukan di lab mikrobiologi dan *green house* Universitas Jember.

d. Metode penelitian

d.1 Perbanyak dan formulasi

Mikoriza merupakan fungi obligat dengan tanaman inang, oleh karena itu perbanyak mikoriza umumnya dengan menggunakan tanaman (Murakoshi *et al.* 1998). Pada tahap penelitian ini perbanyak mikoriza dilakukan dengan memakai spora koleksi Faperta UGM, ditumbuhkan dalam media tumbuh berupa bantuan zeolit ukuran 2 - 3 cm steril yang sudah dijenuhi larutan NaCl (5000 ppm) dan sudah ditanami benih jagung yang berumur 7 - 10 hari. Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman dan pemupukan. Penyiraman dilakukan setiap hari, dijaga dari patogen dan gulma. Pemupukan pertama dilakukan seminggu setelah tanam dengan pupuk Hyponex (25-5-20). Pemupukan lanjutan dengan dosis yang sama dilakukan dua kali seminggu. Setelah tanaman umur 2 bulan, dilakukan stressing untuk merangsang pembentukan spora dengan cara penyiraman dikurangi secara bertahap yaitu selama seminggu penyiraman dilakukan dua hari sekali dan dosis air penyiraman bertahap dikurangi sampai tidak disiram (1 minggu). Spora mulai dipanen dari saat tanaman berumur 90 hari. Volume air untuk penyiraman ditentukan dengan

cara menambahkan sejumlah air ke dalam media sampai semua media terbasahi tapi tidak sampai menetes.

Inokulasi: Inokulasi mikoriza dilakukan pada saat pindah tanam ke pot plastik yang zeolit. Seminggu setelah pindah tanam, inokulan cair MHB dengan perbandingan volume *P. diminuta*: *B. subtilis* 2:3 dan kerapatan sel 10^8 diaplikasikan. Volume inokulan cair disesuaikan dengan volume air untuk penyiraman. Jumlah starter spora mikoriza *Glomus* spp. adalah 100 spora per lubang tanam. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap dengan 3 ulangan.

d.2 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap derajat infeksi akar (%), jumlah spora, dan konsentrasi sel MHB pada media pada saat panen. Pengamatan derajat infeksi akar (%) ditentukan dengan metode pewarnaan fuhsin asam menurut Kormanik dan Gray (1982). Konsentrasi bakteri MHB di media tanam ditentukan dengan metode Pengenceran Plat (Schinner *et al.* 1995). Dilakukan juga pengamatan bakteri yang ada pada permukaan spora mikoriza dengan modifikasi metode Nunang (2011). Jumlah spora dihitung dengan metode ekstraksi bertingkat.

Untuk mendapatkan agen hayati dengan mutu sesuai PP 70 tahun 2011, dilakukan pengamatan kandungan *E.coli* dan *Salmonella* sp dengan metode MPN-durham dan uji lanjut pada media *E.coli* dan media *Salmonella*.

d.3 Analisis Statistik

Semua data yang diperoleh dianalisis dengan Anova menggunakan SPSS versi 16. Apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Menguji kemampuan agen hayati hasil reformulasi dalam berbagai umur simpan untuk mengendalikan *Pratylenchus coffeae*, meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi arabika, dan meningkatkan ketersediaan P

a. Tujuan

Pengujian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi agen hayati hasil reformulasi yang efektif dalam mengendalikan *P. coffeae* sekaligus meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi dan ketersediaan P tanah.

b. Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan untuk perbanyakan benih kopi dan nematoda *P. coffeae* adalah benih kopi arabika, nematoda *P. coffeae* (juvenil dan dewasa), tanah latosol steril, pasir steril, alkohol dan sublimat. Peralatan yang digunakan adalah saringan (250 µm, 100 µm dan 50 µm), pot plastik, plastik, gelas ukur, gelas Beaker, mikroskop, autoklaf, cawan petri, pipet, dan refrigerator.

Bahan yang digunakan pada tahap pengujian formula adalah *Glomus* spp. dalam media zeolit, formula MHB cair, formula MHB padat, pupuk kandang, pupuk N P K, tanah steril, nematoda *P. coffeae*, dan benih kopi. Peralatan yang digunakan antara lain adalah gelas ukur, gelas beaker, mikroskop, autoklaf, pot plastik, termohigrometer, jangka sorong elektrik, timbangan, penggaris, dan alat tulis.

c. Tempat Penelitian

Tahap penelitian ini akan dilakukan di green house Universitas Jember dan puslit kopi dan kakao.

d. Metode Penelitian

d.1 Perbanyakan benih kopi

Benih kopi yang digunakan adalah kopi arabika dari perkebunan kopi Banyuwangi. Benih kopi sebelum dikecambahkan disterilkan terlebih dahulu dengan alkohol dan sublimat, kemudian ditempatkan pada media pembenihan berupa pasir steril. Setelah benih berumur 3 minggu kemudian dipindahkan pada pot plastik yang berisi 3,5 kg tanah latosol yang sudah disterilkan terlebih dahulu (Baon, *et al.*, 1988). Benih siap digunakan untuk pengujian pada saat berumur 2 bulan setelah tanam. Jumlah benih keseluruhan adalah 1.000 benih.

d.2 Perbanyakan nematoda

Perbanyakan nematoda *P. coffeae* dilakukan di rumah kaca menggunakan media benih kopi Arabika. Nematoda *P. coffeae* yang digunakan sebagai bahan penelitian diperoleh dari ekstraksi akar tanaman kopi yang terserang *P. coffeae*. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode Baermann yang dimodifikasi, sehingga diperoleh nematoda yang masih dalam kondisi hidup dan kuat, yang diharapkan masih mampu menginfeksi benih kopi kembali apabila akan digunakan sebagai bahan inokulasi (Sulistiyowati, *et al.*, 2012). Nematoda *P. coffeae* yang digunakan dalam penelitian terdiri dari semua fase yaitu juvenil dan dewasa (jantan dan betina), karena semua fase nematoda *P. coffeae* menginfeksi dan merusak akar tanaman kopi.

d.3 Pengujian inokulan cair MHB + *Glomus* spp.

Pengujian dilakukan terhadap inokulan cair MHB hasil reformulasi. Penelitian ini berupa percobaan pot dengan rancangan acak kelompok, masing-masing perlakuan diulang 6 kali, setiap ulangan terdiri dari 5 sampel tanaman.

d.4 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan tanaman kopi meliputi lilit batang, tinggi tanaman, dan jumlah daun setiap 2 minggu sekali. Selain itu juga diamati gejala-gejala yang timbul selama percobaan. Pada akhir percobaan diamati berat kering tajuk dan akar, derajat infeksi mikoriza, kandungan P jaringan dan tanah, skor kerusakan tajuk, skor kerusakan akar, serta populasi nematoda dalam tanah dan akar. Pengamatan dilakukan selama 4 bulan.

d.5 Analisis Data

Semua data yang diperoleh dianalisis dengan Anova menggunakan SPSS versi 16. Apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

D. Hasil Dan Pembahasan

1. Reformulasi media cair produksi MHB

Dalam memproduksi bakteri, nutrisi merupakan faktor yang berpengaruh besar dalam sintesis dan pertumbuhan sel serta dalam aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri. Beberapa nutrisi penting yang dibutuhkan mikroorganisme adalah karbon, nitrogen, dan fosfor. Pada dasarnya semua mikroorganisme memerlukan karbon sebagai sumber energi untuk aktivitasnya. Nitrogen dan fosfor merupakan penyusun senyawa-senyawa penting dalam sel yang menentukan aktivitas pertumbuhan mikroorganisme. Ketiga unsur ini harus ada dalam rasio yang tepat agar tercapai pertumbuhan bakteri yang optimal.

Hasil penelitian tahun kedua menunjukkan terdapat penurunan kerapatan sel bakteri MHB yang cukup drastis pada usia penyimpanan 2 bulan khususnya pada *B. subtilis*. Penurunan kerapatan sel bakteri MHB kemungkinan disebabkan oleh kandungan unsur hara pada media rendah, hal ini dibuktikan dengan hasil analisis kandungan hara pada molase menunjukkan kandungan unsur N sedang dan P rendah. Oleh karena itu diperlukan reformulasi inokulan cair MHB yang bertujuan untuk mendapatkan media pembiakan massal terbaik dilakukan dengan penambahan berbagai komposisi unsur hara P dan N pada molase. Pengamatan dilakukan terhadap populasi bakteri (CFU/ml), N total (%) dan P tersedia (ppm). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan 4.2, sedangkan gambaran inokulan cair hasil reformulasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 1.1 Inokulan cair agen pengendali hayati tunggal dalam media yang sudah direformulasi

Tabel 1.1 Pengaruh penambahan NH_4Cl dan KH_2PO_4 pada media molase terhadap populasi *B. subtilis*, N total (%) dan P tersedia (ppm) pada usia kultur 72 jam

Perlakuan (%Molase+ % NH_4Cl + % KH_2PO_4)	Log Populasi (CFU/ml)	N Total (%)	P Tersedia (ppm)
A (1+0,1+0,1)	8,1441 b	0,5541 f	78,7100 bcd
B (1+0,1+0,05)	7,8522 ab	0,0915 b	82,7925 cd
C (1+0,05+0,1)	7,7853 ab	0,0837 b	93,3117 d
D (1+0,05+0,05)	7,9696 ab	0,0211 a	63,3975 b
E (2+0,1+0,1)	7,8973 ab	0,1504 d	131,5700 e
F (2+0,1+0,05)	7,9891 ab	0,0922 b	81,7700 cd
G (2+0,05+0,1)	7,5965 a	0,1184 c	157,2000 f
H (2+0,05+0,05)	7,6762 ab	0,1200 c	76,7200 bc
I (kontrol: molase 1%)	8,1106 ab	0,0278 a	0,7300 a
J (kontrol molase 2%)	7,8862 ab	0,2075 e	-0,1200 a

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

Dari hasil pengamatan diperoleh hasil bahwa komposisi media yang terbaik untuk pembiakan massal *B. subtilis* adalah komposisi media G, yang terdiri atas molase 2%, NH_4Cl 0,05 %, dan KH_2PO_4 0,1 %. Untuk pembiakan massal *P. diminuta* terbaik pada media A dengan komposisi molase 1%, 0,1 %, dan KH_2PO_4 0,1 %. Perbedaan karakteristik kedua bakteri menyebabkan perbedaan pada kebutuhan nutrisinya.

Tabel 1.2 Pengaruh penambahan NH_4Cl dan KH_2PO_4 pada media molase terhadap populasi *P. diminuta*, N total (%) dan P tersedia (ppm) pada usia kultur 72 jam

Perlakuan (%Molase+ % NH_4Cl + % KH_2PO_4)	Log Populasi (CFU/ml)	N Total (%)	P Tersedia (ppm)
A (1+0,1+0,1)	8,148 ab	0,05 d	92,8025 f

B (1+0,1+0,05)	8,2958 ab	0,065 e	62,8450 d
C (1+0,05+0,1)	8,1834 ab	0,0375 c	89,8025 f
D (1+0,05+0,05)	8,3946 b	0,0325 bc	53,4050 c
E (2+0,1+0,1)	8,2225 ab	0,0325 bc	72,8275 e
F (2+0,1+0,05)	8,3546 b	0,0525 d	51,7125 c
G (2+0,05+0,1)	8,2551 ab	0,0375 c	75,1900 e
H (2+0,05+0,05)	8,1549 ab	0,03175 b	46,8800 b
I (kontrol:molase 1%)	8,0841 a	0,0175 a	4,1050 a
J (kontrol molase 2%)	8,2476 ab	0,02675 b	3,5950 a

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

Tahap selanjutnya adalah melakukan konsorsium bakteri *P. diminuta* yang dibiakkan dalam media A dengan bakteri *B. subtilis* yang dibiakkan dalam media G dalam 5 perbandingan, yaitu 1:1; 1:2; 2:1; 2:3; dan 3:2. Pengamatan dilakukan terhadap populasi bakteri, pH, N tersedia (%) dan P tersedia (ppm). Bakteri hasil konsorsium dapat dilihat pada Gambar 1.2, sedangkan hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.3.



Gambar 1.2 Konsorsium agen pengendali hayati cair dalam berbagai perbandingan

Tabel 1.3 Pengaruh perbandingan *P. diminuta* dan *B. subtilis* terhadap populasi bakteri, pH, N tersedia (%) dan P tersedia (ppm) pada usia kultur 72 jam

Perbandingan PD : BS	Log populasi <i>B. subtilis</i> (CFU/ml)	Log populasi <i>P. diminuta</i> (CFU/ml)	pH	N tersedia (%)	P tersedia (ppm)
1:1	9,9233ab	10,275ab	3,46 c	0,02 a	0,135 a
1:2	9,6500a	10,125a	3,71 d	0,03 c	0,145 a
2:1	10,0475ab	10,3125ab	3,24 a	0,03 c	0,21 b
2:3	10,2575b	10,455b	3,67 d	0,03 c	0,235 bc
3:2	10,2050ab	10,165a	3,38 b	0,025 b	0,25 c

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

Tabel 1.3 menunjukkan bahwa perbandingan 2:3 memiliki populasi bakteri tertinggi, baik untuk *B. subtilis* maupun *P. diminuta*, begitu juga kandungan N tersedia dan P tersedianya relatif lebih baik dibanding perlakuan yang lain. Untuk selanjutnya konsorsium bakteri MHB dilakukan dengan perbandingan volume 2:3, yaitu 2 untuk *P. diminuta* dan 3 untuk *B. subtilis*.

2. *Scaling up* inokulan cair MHB tunggal dan konsorsium

Pada tahap ini dilakukan pembiakan massal inokulan cair MHB dengan menggunakan media terpilih, yaitu komposisi media A (molase 1% + NH₄Cl 1% + KH₂PO₄ 1%) untuk *P. diminuta* dan komposisi media G (molase 2% + NH₄Cl 0,05% + KH₂PO₄ 1%) untuk *B. subtilis*. Untuk memenuhi persyaratan inokulan cair sesuai PP 70 tahun 2011, maka pengamatan dilakukan terhadap jumlah populasi bakteri, pH, kandungan *E. coli*, dan *Salmonella* sp. Pembiakan massal inokulan cair tunggal dilakukan dalam fermentor kapasitas 2 L (Gambar 1.3). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.4.



Gambar 1.3 Pembiakan massal agen hayati tunggal dalam fermentor kapasitas 2 L

Tabel 1.4 Data hasil pembiakan massal pada media terpilih pada usia kultur 72 jam

Bakteri	Populasi (CFU/ml)	pH	N tersedia (%)	P Tersedia (PPM)	<i>E. coli</i> (CFU/ml)	<i>Salmonella</i> (CFU/ml)
<i>Bacillus subtilis</i>	1, 775 x 10 ¹⁰	3,3	0,03	109,17	0	900
<i>P. diminuta</i>	0,45 x 10 ¹⁰	3,64	0,03	136,54	0	300
Batas minimum	10 ⁷	3-8	-	-	<10 ³	<10 ³

Berdasarkan Tabel 1.7, inokulan cair tunggal hasil penelitian ini masih memenuhi syarat mutu sesuai PP 70 tahun 2011, yaitu harus memenuhi beberapa syarat sebagai

berikut: 1) Total sel hidup $\geq 10^7$ cfu/ml, 2) Kontaminan *E. coli/Salmonella* sp $< 10^3$ MPN/ml, dan 3) pH 3 – 8. Pengamatan ini masih berlangsung untuk mengetahui daya simpannya minimal 3 bulan masa simpan (pengamatan terakhir tanggal 30 Nopember 2016).

Selanjutnya dilakukan *scaling up* agen pengendali hayati konsorsium dengan perbandingan 2:3 (*P. diminuta*: *B. subtilis*). *Scaling up* dilakukan pada fermentor dengan kapasitas 30 L milik pupuk kujang (Gambar 1.4). Berdasarkan uji konsorsium, kerapatan sel *B. subtilis* sebesar $1,835 \times 10^{10}$ dan *P. diminuta* sebesar $3,85 \times 10^{10}$ pada usia kultur 72 jam. Proses scale up akan menghasilkan inokulan cair konsorsium sebanyak ± 60 L dengan mutu sesuai PP 70 tahun 2011.



Gambar 1.4 Fermenter kapasitas 30 L (milik pupuk kujang)



Gambar 1.5 Peneliti bersama staf pupuk kujang

3. *Scaling up* inokulan mikoriza *Glomus* spp.

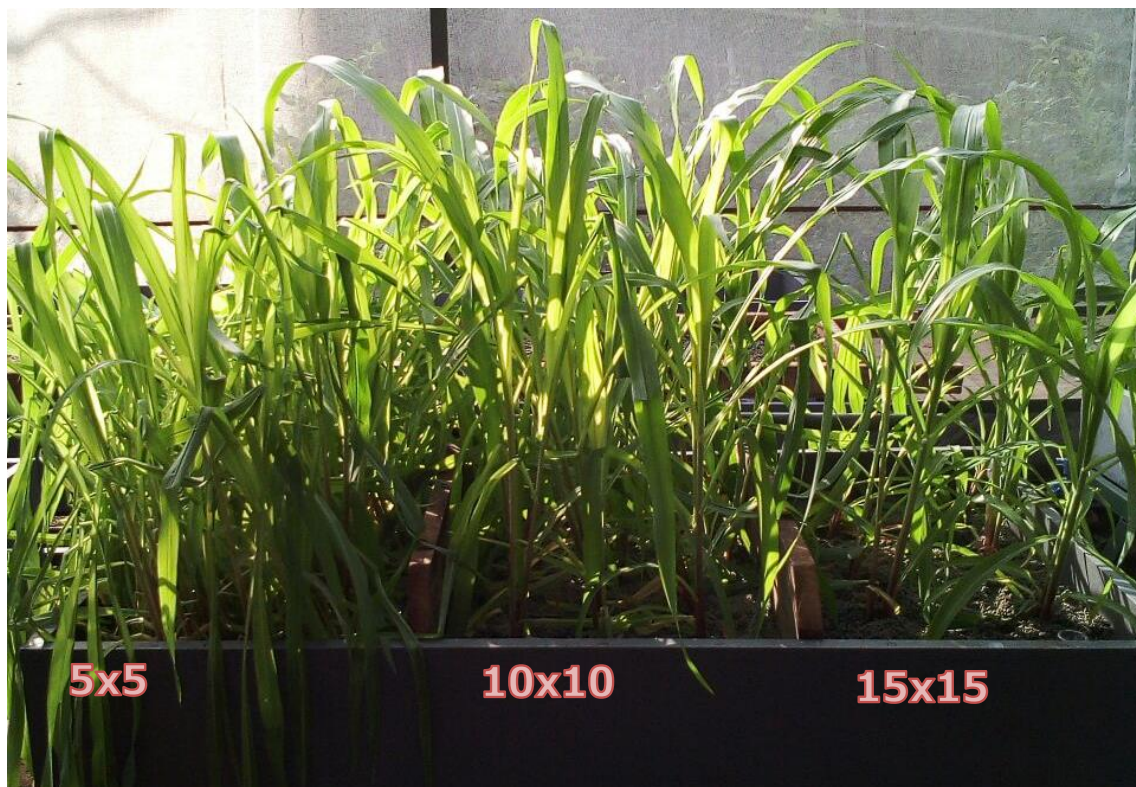
Scaling up mikoriza *Glomus* spp. menggunakan tanaman jagung sebagai tanaman inang. Komposisi MHB yang digunakan untuk memacu derajat infeksi mikoriza sesuai dengan hasil penelitian tahun pertama yaitu menggunakan molase 2% dengan perbandingan bakteri 2:3 (*B. subtilis*: *P. diminuta*). Tahap *scaling up* diawali dengan uji pendahuluan untuk menetapkan jarak tanam yang bisa digunakan untuk tahap selanjutnya. Pengamatan dilakukan terhadap derajat infeksi mikoriza pada akar jagung usia 1 bulan. Hasil pengamatan (Tabel 1.5) menunjukkan bahwa derajat infeksi pada jarak tanam 5 x 5 cm lebih rendah dibanding dengan jarak tanam 10 x 10 cm dan 15 x 15 cm.

Tabel 1.5 Pengaruh jarak tanam jagung terhadap derajat infeksi dan jumlah spora mikoriza

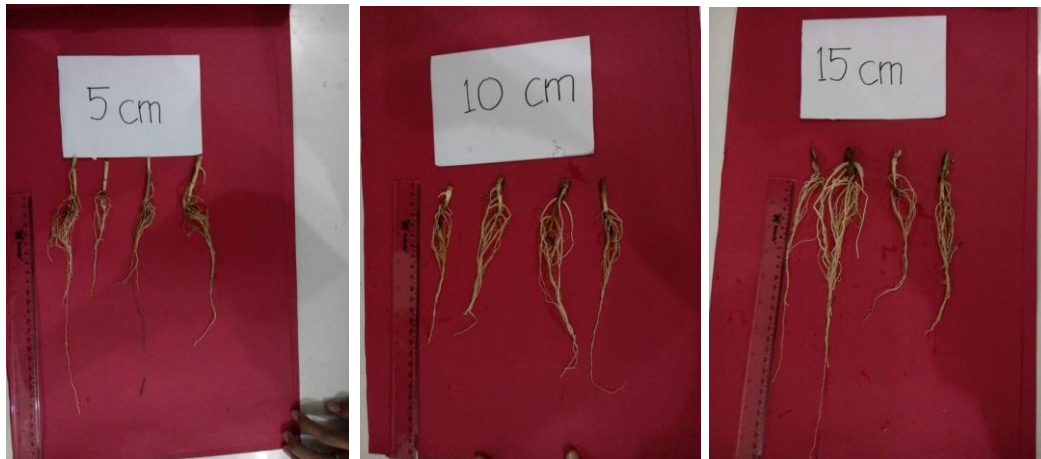
Perlakuan	Rerata derajat infeksi (%)		Jumlah spora per 1 g
	1 bulan	2 bulan	
Jarak tanam 5 x 5 cm	70,0	59,67	16,0
Jarak tanam 10 x 10 cm	94,5	80	15,5
Jarak tanam 15 x 15 cm	80,0	70	17,5

Batas minimum	50,0	50,0	10 spora/g BK contoh
---------------	------	------	----------------------

Pertumbuhan tanaman jagung pada jarak tanam 5 x 5 cm tidak sebaik pada jarak tanam lainnya yang ditunjukkan dengan tinggi tanaman yang jauh lebih rendah dan mulai roboh pada usia 1 bulan. Begitu juga akar pada tanaman jagung yang ditanam pada jarak 5 x 5 cm terlihat lebih kurus dan bulu akarnya sedikit. Sebaliknya tanaman jagung yang ditanam dengan jarak 10 x 10 cm dan 15 x 15 cm lebih subur dan kuat serta bulu akarnya lebih banyak. Gambar pertumbuhan jagung dan akarnya pada usia 1 dan 2 bulan serta stressing tanaman jagung pada tahap uji pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 1.6 s.d 1.10. Berdasarkan hal ini maka untuk *scaling up* mikoriza yang digunakan adalah jarak tanam 10 x10 cm dan 15 x 15 cm, sebagai pembanding digunakan cara perbanyakan mikoriza seperti pada tahun kedua yaitu menggunakan pot plastik yang berisi 200 gram zeolit.



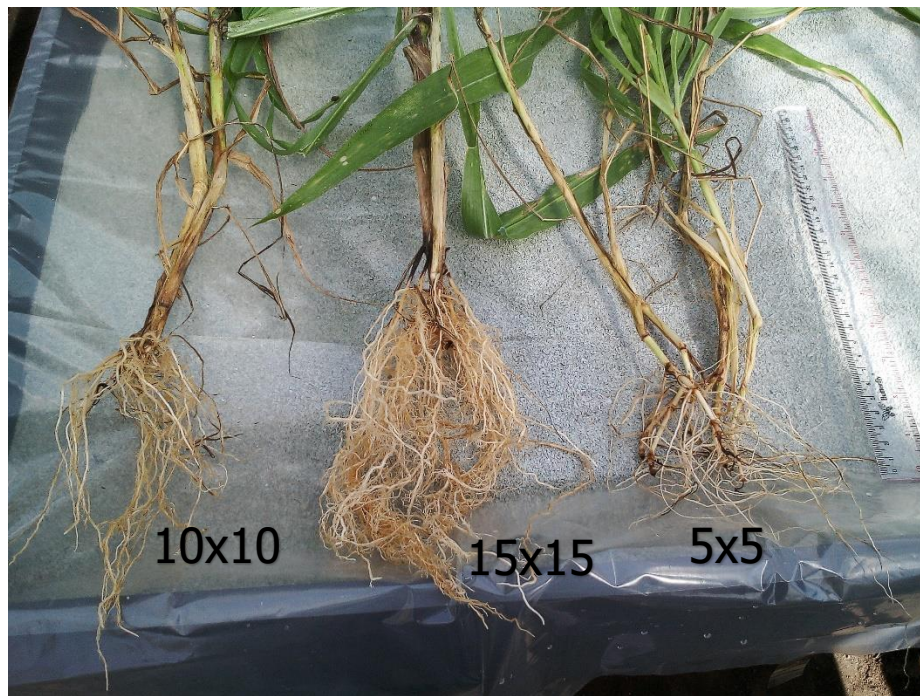
Gambar 1.6 Tanaman jagung usia 1 bulan pada uji pendahuluan



Gambar 1.7 Akar jagung usia 1 bulan pada uji pendahuluan



Gambar 1.8 Tanaman jagung usia 2 bulan pada uji pendahuluan



Gambar 1.9 Akar jagung usia 2 bulan pada uji pendahuluan



Gambar 1.10 Tanaman jagung dalam proses stressing pada uji pendahuluan

Selanjutnya dilakukan *scaling up* mikoriza dengan menggunakan kotak ukuran 100 cm x 60 cm x 10 cm yang bisa memuat zeolit sebanyak 60 kg (Gambar 1.11). Pelaksanaan *scaling up* baru diawali dengan aplikasi konsorsium MHB dan persemaian benih jagung

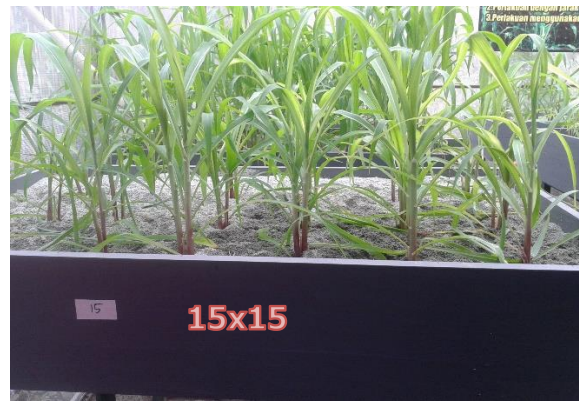
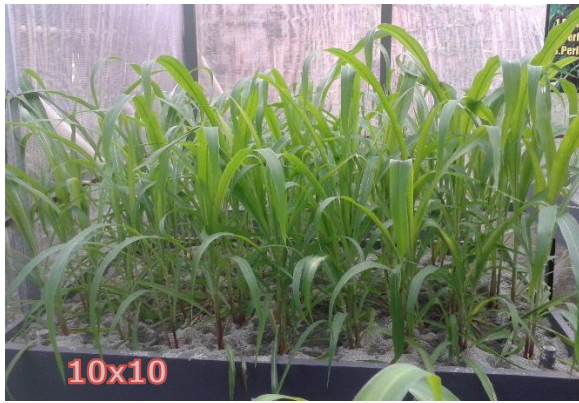
(Gambar 1.12). *Scaling up* akan selesai pengamatannya pada awal bulan Desember 2016 dengan menghasilkan \pm 370 kg inokulan mikoriza. Pertumbuhan tanaman pada proses *scaling up* mikoriza dapat dilihat pada Gambar 1.13 s.d 1.15.



Gambar 1.11 *Scaling up* mikoriza sebelum ditanami tanaman inang



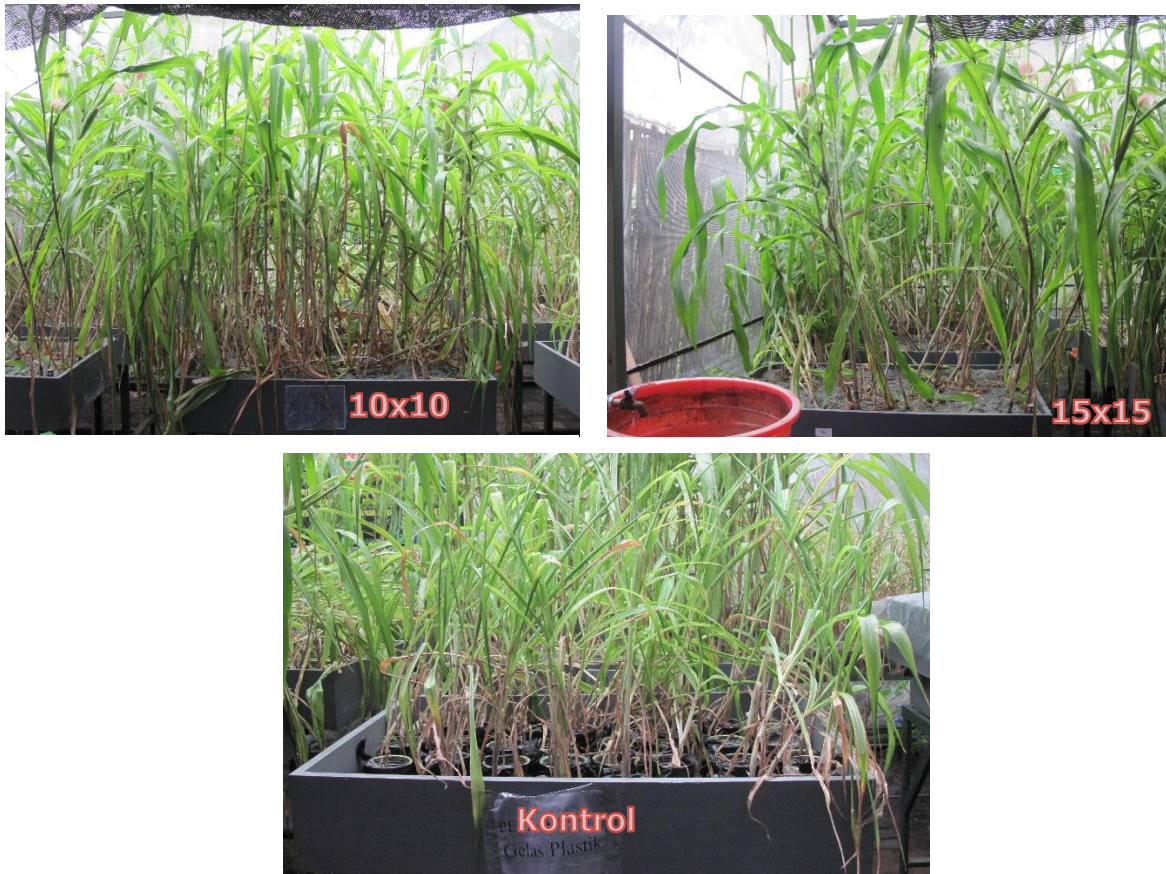
Gambar 1.12 Persemaian bibit jagung untuk *scale up* mikroza



Gambar 1.13 Tanaman jagung usia 2 minggu pada proses scale up



Gambar 1.14 Tanaman jagung usia 1,5 bulan pada proses scale up



Gambar 1.15 Tanaman jagung usia 2,5 bulan pada proses scale up (tahap stressing)

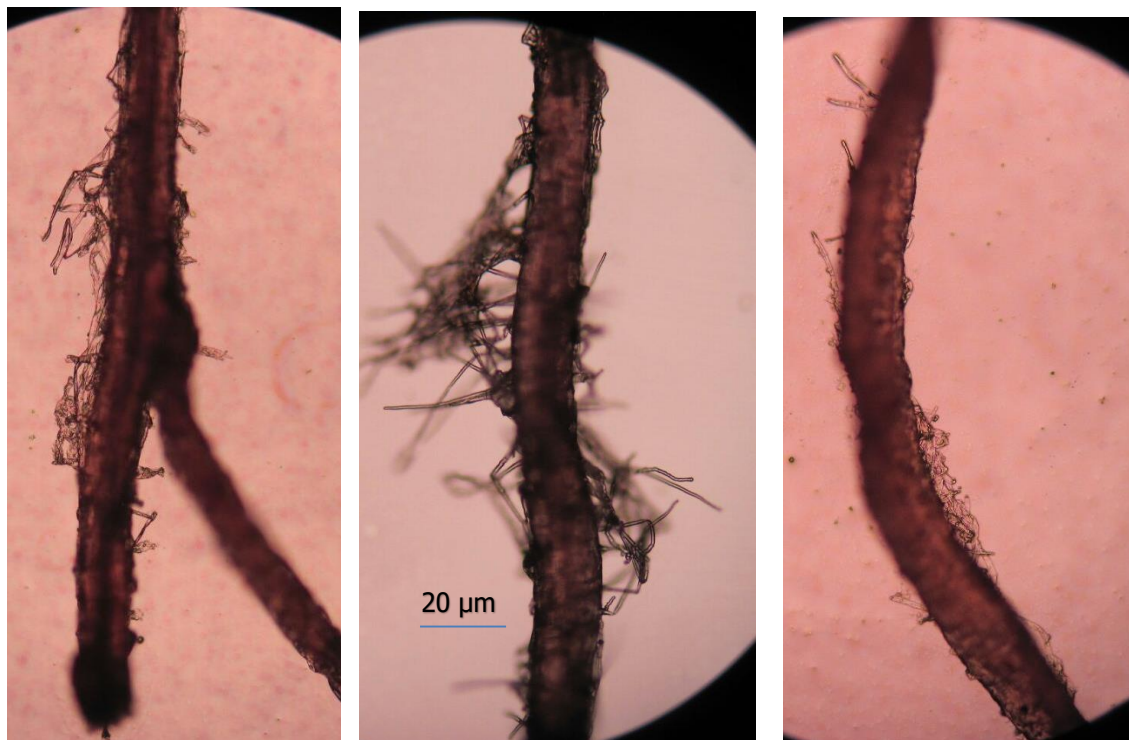
Pengamatan baru dilakukan terhadap derajat infeksi mikoriza pada saat tanaman jagung berusia 2 bulan. Proses pengeringan memerlukan waktu cukup lama disebabkan musim hujan dan jumlah zeolit yang cukup banyak, oleh karena itu pengamatan jumlah spora akan dilakukan di bulan Desember 2016. Tabel 1.6 menunjukkan persentase derajat infeksi pada masing-masing perlakuan, terlihat bahwa derajat infeksi tertinggi pada perlakuan jarak tanam 10 cm x 10 cm, diikuti kontrol dan perlakuan jarak tanam 15 cm x 15 cm. Hasil pewarnaan akar yang dapat dilihat pada Gambar 1.16 menunjukkan hifa pada perlakuan jarak tanam 10 x 10 cm lebih padat dan panjang dibanding perlakuan lainnya. Hifa yang banyak dan panjang akan menghasilkan spora yang lebih banyak pula. Berdasarkan derajat infeksi dan performansi hifa, perlakuan jarak 10 x 10 cm akan memberikan jumlah spora lebih baik dibanding perlakuan yang lain.

Glomus sp. memiliki karakteristik spora berwarna coklat berbentuk bulat, berukuran 125-325 μ m, permukaan spora halus, terdapat bintik hitam pada bagian dalam spora. Serta dinding sporanya jelas dan hanya terdapat satu jenis dinding spora. Lapisan dinding spora pada *Glomus* sp. berasal dari dinding hifa pembawa. Spesies *Glomus* sp. tidak membentuk dinding perkecambahan fleksibel, akan tetapi dinding spora berakhir dengan pori pada

daerah melekatnya hifa pembawa. Spora *Glomus* terbentuk dari dinding yang sama dengan dinding "subtending" hifa. Spora berasal dari bagian terminal ataupun interkalar "subtending" hifa yang silindris dan mengembang membentuk spora-spora mikoriza. Spora *Glomus* hanya memiliki satu dinding yang berhubungan dengan "subtending" hifa dan memiliki lapisan dinding spora yang berasal dari dinding hifa pembawa. Spesies *Glomus* sp. tidak membentuk dinding perkecambahan fleksibel, akan tetapi dinding spora berakhir dengan pori pada daerah melekatnya hifa pembawa (INVAM, 2006 dalam Yovita, 2008).

Tabel 1.6 Pengaruh perlakuan jarak tanam pada proses scaling up mikoriza terhadap derajat infeksi (%)

Perlakuan	Derajat infeksi (%)
Kontrol	77,1667
Jarak 10 cm x 10 cm	85,0017
Jarak 15 cm x 15 cm	64,3783
Batas minimum	50,00



Kontrol

jarak 10 cm x 10 cm

Jarak 15 cm x 15 cm

Gambar 1.16 Hifa mikoriza pada akar tanaman jagung yang berusia 2 bulan

Pengamatan juga dilakukan terhadap spora mikoriza yang dihasilkan pada tahun kedua dengan masa simpan 10 bulan, meliputi pengamatan derajat infeksi (%) terhadap

akar tanaman jagung dan kandungan *E.colli* serta *Salmonella*. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.7.

Tabel 1.7 Pengujian derajat infeksi dan kandungan *E.colli* serta *Salmonella* pada mikoriza dengan usia simpan 10 bulan

Perlakuan	Derajat infeksi (%)	<i>E. coli</i> (CFU/ml)	<i>Salmonella</i> (CFU/ml)
Mikoriza + MHB 10 ⁸	80,4	10 ¹	10 ¹
Batas minimal	50,0	10 ³	10 ³

Mutu inokulan mikoriza *Glomus* spp harus sesuai dengan PP 70 tahun 2011 mengenai pupuk hayati mikoriza, yaitu memenuhi syarat berikut:

- ≥ 10 spora/g berat kering contoh
- Derajat infeksi $\geq 50\%$
- Kontaminan *E. coli/Salmonella* sp $<10^3$ MPN/ml

Berdasarkan hal tersebut, inokulan *Glomus* spp yang dihasilkan dalam penelitian ini memenuhi kriteria mutu sesuai dengan PP 70 tahun 2011.

4. Uji aplikasi agen hayati plus (MHB cair hasil reformulasi dan inokulan *Glomus* spp.)

a. Persiapan

Tahapan persiapan meliputi perbanyakkan bibit kopi, rearing nematoda, dan sterilisasi tanah. Ketiga kegiatan tersebut sudah selesai dilakukan. Gambar 1.17 menunjukkan bibit kopi usia 3 bulan dan Gambar 1.18 menunjukkan bibit kopi digunakan untuk rearing nematoda.



Gambar 1.17 Bibit kopi usia 3 bulan



Gambar 1.18 Bibit kopi yang digunakan dalam proses rearing nematoda

b. Bioassay agen hayati

Tahapan penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan agen pengendali hayati hasil reformulasi yang efektif dalam mengendalikan *P. coffeae* sekaligus meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi dan ketersediaan P tanah. Pengamatan meliputi analisis kandungan tanah pada media tanam sebelum perlakuan, pengamatan jumlah daun dan tinggi tanaman setiap dua minggu sekali, sedangkan pengukuran berat basah dan berat

kering tanaman, perhitungan jumlah populasi nematoda pada akar dan tanah, skor kerusakan akar, derajat infeksi dan analisis P pada tanah dan jaringan dilakukan pada saat 2 bulan setelah perlakuan. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.8 s.d Tabel 1.15, didukung Gambar 1.19 s.d Gambar 1.23.

Tabel 1.8 Hasil analisa kandungan tanah

Parameter	Satuan	Hasil	Kriteria
N-Total	%	0,24	sedang
P-Total	mg/100 mg	16,70	rendah
P-tersedia	ppm	14,65	tinggi
K-tersedia	ppm	79,82	sangat tinggi
C-org	%	2,39	sedang
C/N Ratio	-	9,95	rendah

*Berdasarkan kriteria penilaian hasil analisis tanah (2005)



Gambar 1.19 Bibit kopi dalam proses Bioassay



Gambar 1.20 Bibit kopi dalam proses Bioassay

Pengamatan pertumbuhan meliputi pengamatan pada tinggi tanaman (Tabel 1.9) dan jumlah daun (Tabel 1.10) yang diamati pada minggu ke-9 setelah perlakuan. Performansi bibit kopi arabika umur 2 bulan setelah perlakuan Tabel 1.9 dan Tabel 1.10 menunjukkan bahwa perlakuan mikoriza *G. agregatum* tanpa diberi MHB mempunyai tinggi tanaman dan jumlah lebih baik dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. *G. agregatum* yang diaplikasikan dalam penelitian ini adalah hasil dari perbanyakan mikoriza yang sudah diperkaya dengan konsorsium MHB dengan perbandingan 2: 3 (*B. subtilis*: *P. diminuta*). Pada pengamatan minggu ke-9, perlakuan *G. agregatum* + MHB 10^9 mampu menyusul pertumbuhan, dibuktikan dengan tinggi tanaman dan jumlah daun yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan *G. agregatum* tanpa diberi MHB.

Tabel 1.9 Pengaruh perlakuan *G. agregatum* dan MHB terhadap tinggi tanaman (cm) bibit kopi arabika

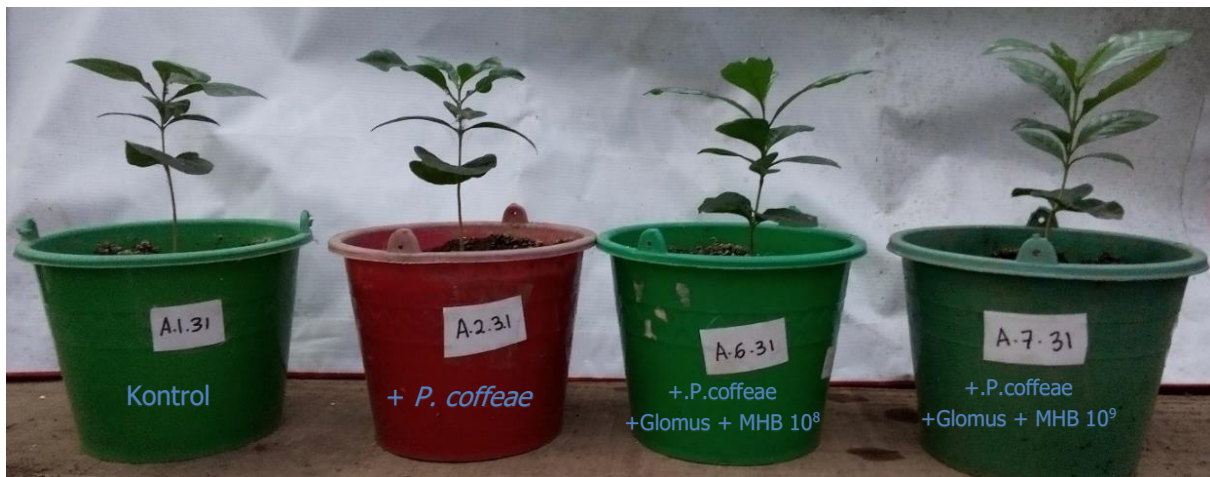
Perlakuan	Tinggi tanaman (cm) Minggu ke -				
	1	3	5	7	9
Kopi tanpa <i>P. coffeae</i>	12,62b	13,62a	15,95bc	19,25b	22,23a
Kopi + <i>P. coffeae</i>	11,24a	13,03a	15,99bc	19,09b	21,91a
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i>	13,36b	15,67b	17,08c	20,05b	23,13a
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10^8	12,07ab	13,53a	15,46ab	17,55a	20,84a
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10^9	12,05ab	13,93a	14,58a	17,27a	21,27a

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

Tabel 1.10 Pengaruh perlakuan *G. agregatum* dan MHB terhadap jumlah daun bibit kopi arabika

Perlakuan	Jumlah daun Minggu ke -				
	1	3	5	7	9
Kopi tanpa <i>P. coffeae</i>	4,00a	6,00a	8,00a	8,00a	10,00c
Kopi + <i>P. coffeae</i>	4,00a	7,00b	9,00b	9,00b	9,00b
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i>	4,00a	5,67a	7,33a	9,17b	10,00c
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁸	3,50a	5,50a	7,33a	7,50a	7,50a
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁹	3,50a	5,50a	7,50a	7,50a	9,67c

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%



Gambar 1.21 Performansi bibit kopi arabika umur 2 bulan setelah perlakuan

Selain pengamatan tinggi tanaman dan jumlah daun, juga dilakukan pengukuran berat basah dan berat kering tanaman. Untuk mengetahui efektivitas mikoriza dilakukan pengamatan derajat infeksi. Ketahanan tanaman terhadap serangan nematoda diukur melalui skor kerusakan akar. Data pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.11.

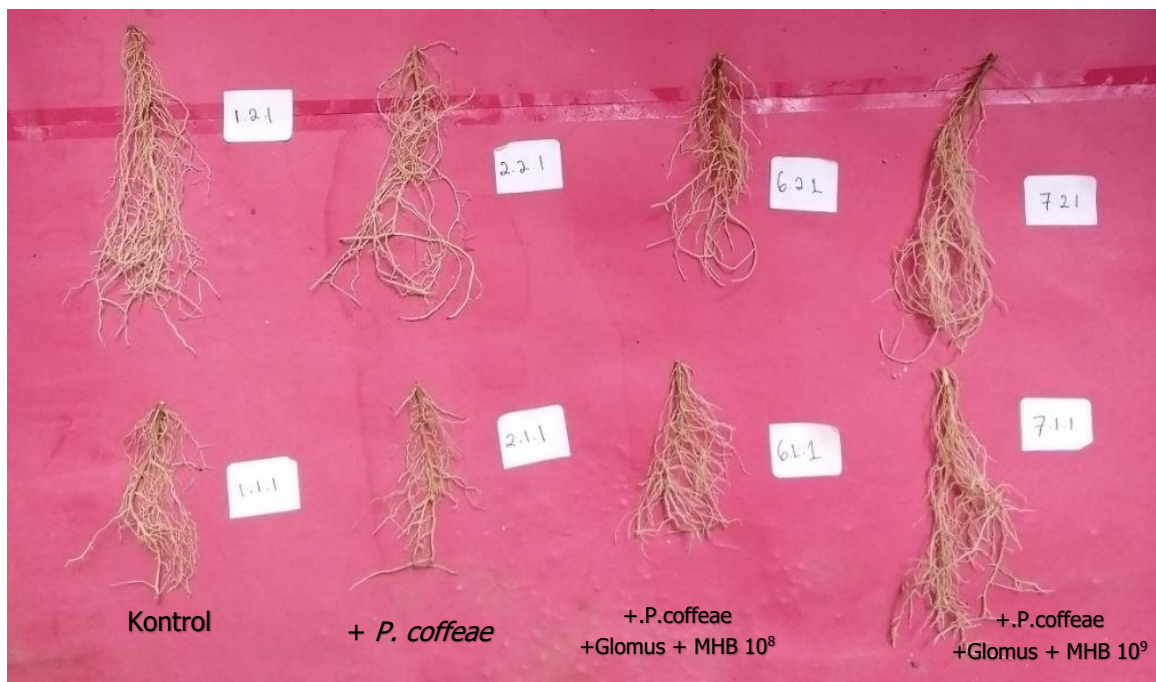
Tabel 1.11 Pengaruh pemberian *Glomus* spp. + Formula MHB cair terhadap berat tanaman dan derajat infeksi pada pengamatan 9 minggu setelah perlakuan

Perlakuan	Berat basah akar	Berat basah tajuk	Berat kering tajuk	Derajat infeksi (%)	Skor kerusakan akar (%)
Kopi tanpa <i>P. coffeae</i>	0,3000a	1,9700b	0,5700a	-	-
Kopi + <i>P. coffeae</i>	0,2550a	1,6250a	0,5067a	-	45

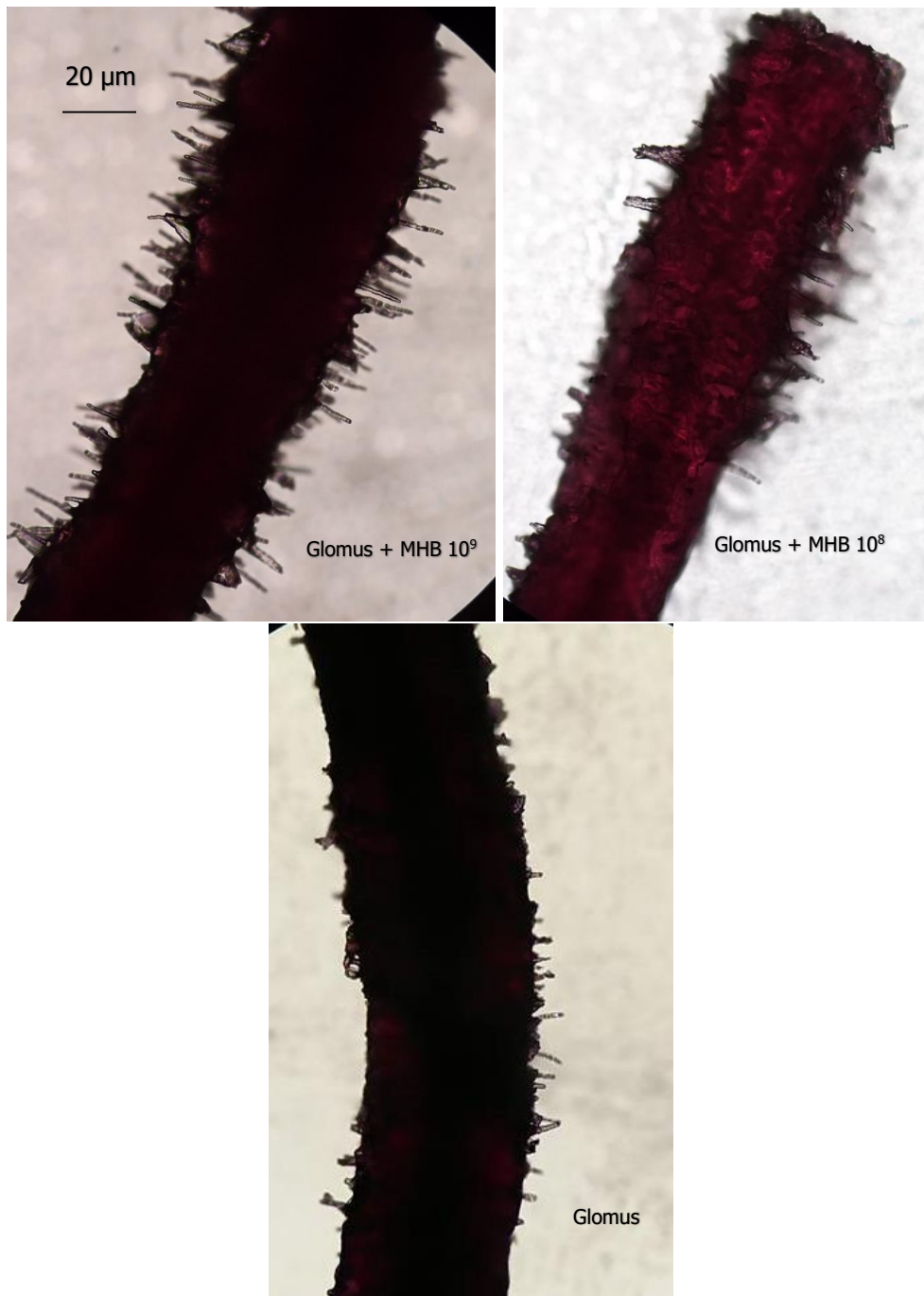
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i>	0,2050a	1,4817a	0,4833a	96	28
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁸	0,2367a	1,5933a	0,5067a	96	30
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁹	0,2600a	1,6533a	0,4900a	99	13

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

Pengaruh pemberian agen pengendali hayati tidak berpengaruh nyata terhadap berat segar dan berat kering tanaman kopi, walaupun demikian pemberian agen pengendali hayati mampu menekan kerusakan akar. Seperti dapat dilihat pada Gambar 1.22, performansi akar tanaman kopi yang diberi perlakuan agen pengendali hayati lebih baik dibanding tanpa perlakuan agen hayati. Prosentase derajat infeksi pada tanaman yang diberi perlakuan *G. agregatum* besarnya hampir sama, tetapi Gambar 1.23 menunjukkan bahwa hifa pada perlakuan *G. agregatum* + MHB lebih panjang dan lebih rapat dibanding tanpa pemberian MHB.



Gambar 1.22 Performansi akar bibit kopi arabika umur 2 bulan setelah perlakuan



Gambar 1.23 Hifa mikoriza pada akar bibit kopi arabika umur 2 bulan setelah perlakuan

Tujuan utama penelitian ini adalah menguji efektivitas agen pengendali hayati terhadap populasi nematoda. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah nematoda pada akar, tanah dan jumlah nematoda total. Juga dihitung prosentase penurunan populasi nematoda akibat perlakuan agen pengendali hayati. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.12.

Tabel 1.12 Pengaruh pemberian *Glomus* spp. + Formula MHB cair terhadap populasi nematoda pada pengamatan 9 minggu setelah perlakuan

Perlakuan	Jumlah Nematoda Akar	Jumlah Nematoda Tanah	Jumlah Nematoda Total	% penurunan populasi nematoda
Kopi tanpa <i>P. coffeae</i>	-	-	-	-
Kopi + <i>P. coffeae</i>	154,67b	143,33b	293,33b	-
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i>	149,67b	65,67ab	220,00ab	24,99
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁸	65,67a	37,57a	103,33a	64,73
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁹	50,00a	35,57a	85,67a	70,79

Keterangan: angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%

Tabel 1.12 menunjukkan bahwa perlakuan agen hayati mampu menurunkan populasi nematoda secara nyata baik nematoda dalam akar, tanah, dan nematoda total. Penambahan MHB lebih baik dalam menurunkan populasi nematoda dibanding tanpa pemberian MHB. Perlakuan *G. agregatum* + MHB 10⁹ menurunkan populasi terbaik yaitu mampu menurunkan populasi sampai >70%. Hasil ini lebih baik dibanding penelitian tahun kedua yang hanya menurunkan populasi sampai 65%.

Bakteri MHB bukan hanya membantu meningkatkan efektifitas infeksi mikoriza terhadap akar tanaman tetapi juga sebagai agen pengendali hayati. Asyiah *et al.* (2010) membuktikan bahwa *P. diminuta* merupakan bakteri gram negatif yang terbukti mampu menurunkan populasi nematoda sista kuning (*Globodera rostochiensis*) pada tanaman kentang. Beberapa diantaranya MHB yakni bakteri dari Genus *Bacillus* dan Genus *Pseudomonas* juga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman yang dikenal dengan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), karena mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan (Bacon dan Hinton, 2007).

Menurut (Fitriatin 2012), *B. subtilis* dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh berupa kinetin, zeatin, IAA (auksin) dan GA3 (giberelin). Kinetin dan zeatin merupakan turunan dari hormon pertumbuhan sitokinin, sitokinin adalah hormon yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel, dan pemanjangan sel. Kemudian IAA memiliki fungsi untuk mematahkan dominansi pucuk sehingga tumbuhan dapat tumbuh dan juga memacu pertumbuhan akar. GA3 dapat merangsang pemanjangan sel dan juga bersinergi dengan hormon pertumbuhan lainnya untuk membantu perkembangan (Fahmi, 2014). Sedangkan menurut (Asyiah, 2009), bakteri *P. diminuta* dapat menghasilkan sitokinin dan GA3.

Pengamatan juga dilakukan terhadap kandungan unsur P pada tanah dan jaringan, baik total maupun tersedia. Data pada Tabel 1.13 menunjukkan bahwa pemberian mikoriza+MHB mampu meningkatkan kandungan P tersedia dan P total pada jaringan maupun pada tanah.

Tabel 1.13 Pengaruh pemberian *Glomus* spp. + Formula MHB cair terhadap rerata kandungan unsur P tanah pada pengamatan 9 minggu setelah perlakuan

Perlakuan	P tanah		P jaringan	
	P-Tsd (ppm)	P ₂ O ₅ -Total (me/100 g)	P-Tsd (ppm)	P ₂ O ₅ -Total (me/100 g)
Kopi tanpa <i>P. coffeae</i>	9,895	16,340	9,305	11,395
Kopi + <i>P. coffeae</i>	11,455	19,140	10,970	13,895
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁸	10,505	36,170	11,235	27,040
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁹	12,140	38,255	11,615	29,915
Peningkatan kandungan P total dibanding kontrol (%)				
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁸	5,807	54,824	17,176	57,859
Kopi + <i>P. coffeae</i> + <i>G. agregatum</i> + MHB 10 ⁹	18,492	57,287	19,888	61,909

G. agregatum, *B. subtilis* dan *P. diminuta* merupakan mikroorganisme pelarut fosfat. Aplikasi ketiga mikroorganisme tersebut terbukti secara nyata meningkatkan kandungan fosfat. Hasil penelitian Fitriatin *et al.* (2008) menunjukkan bahwa terjadi interaksi yang nyata antara pemberian inokulasi mikroorganisme (bakteri dan jamur) pelarut fosfat dengan mikoriza terhadap kolonisasi mikoriza. Inokulasi ganda bakteri dan jamur pelarut fosfat meningkatkan secara nyata serapan P, kolonisasi mikoriza, pertumbuhan dan hasil tanaman jagung dibandingkan dengan hanya inokulasi bakteri atau jamur pelarut fosfat secara tunggal. Inokulasi ganda mikroorganisme (bakteri dan jamur) pelarut fosfat dan mikoriza takaran 20 g per pot memberikan hasil tanaman jagung tertinggi. Fosfat adalah unsur hara utama yang diserap tanaman bermikoriza dan juga unsur- unsur mikro seperti Cu, Zn, dan Bo (Linderman, 1994).

E. KESIMPULAN

1. Media pembiakan massal terbaik untuk *B. subtilis* adalah komposisi molase 2%, NH₄Cl 0,05 %, dan KH₂PO₄ 0,1 %, sedangkan untuk *P. diminuta* adalah komposisi molase 1%, 0,1 %, dan KH₂PO₄ 0,1 %.
2. Konsorsium *P. diminuta* : *B. subtilis* yang digunakan untuk pembuatan formula cair dan padat adalah perbandingan 2:3.
3. Inokulan cair tunggal MHB hasil penelitian ini masih memenuhi syarat mutu sesuai PP 70 tahun 2011.
4. Hasil *scale up* mikoriza yang diperkaya dengan MHB menunjukkan bahwa perlakuan jarak tanam 10 cm x10 cm memiliki derajat infeksi lebih baik dibanding kontrol dan perlakuan jarak tanam 15 cm x 15 cm.
5. Perlakuan terbaik dalam uji hayati adalah perlakuan *G. agregatum* + MHB 10⁹ karena meningkatkan tinggi tanaman, berat basah dan berat kering tanaman, kandungan unsur P tersedia dan total, serta menurunkan populasi *P. coffeae*. Penurunan *P. coffeae* mencapai 70,79% sedangkan peningkatan unsur P total mencapai 57,287 % pada tanah dan 61,909 % pada jaringan.
6. Pengamatan pada mikoriza hasil penelitian tahun kedua dengan usia simpan 10 bulan menunjukkan bahwa derajat infeksi pada tanaman jagung mencapai 80,4 % dengan kandungan *E.colli* dan *Salmonella* hanya 10¹ cfu/ml.

Kata kunci : *Pratylenchus coffeae*, *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB), *Phosphate Solubilizing Bacteria* (PSB), mikoriza, kopi arabika