

**ABSTRAK DAN EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN HIBAH BERSAING**



**FORMULASI BIONEMATISIDA BARU BERBAHAN AKTIF
Bacillus alvei, *B. stearothermophilus* DAN *Pseudomonas diminuta*
UNTUK MENGENDALIKAN NEMATODA
*Globodera rostochiensis***

Tahun ke *dua* dari rencana *dua* tahun

**TIM PENGUSUL
Dr. Iis Nur Asyiah, SP.,MP
NIDN 0014067304
Ir. Soekarto, MS
NIDN 0021105203**

**UNIVERSITAS JEMBER
Nopember 2014**

Formulasi Bionematisida Baru Berbahan Aktif *Bacillus alvei*, *B. Stearothermophilus* dan *Pseudomonas diminuta* untuk mengendalikan nematoda *Globodera rostochiensis*

Peneliti : Iis Nur Asyiah¹, Soekarto²
Mahasiswa yang terlibat : Resti Kusumaningtyas², M. Wildan Badikaruma²
Sumber Dana : Hibah Desentralisasi skim penelitian Hibah Bersaing/BOPTN UNEJ

¹ Prodi Pendidikan Biologi, FKIP UNEJ

² Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian UNEJ

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bionematisida baru berbahan aktif *Bacillus alvei*, *B. Stearothermophilus*, dan *Pseudomonas diminuta* yang efektif dalam mengendalikan nematoda sista kentang/NSK (*Globodera rostochiensis*). Penelitian ini dilakukan selama 2 tahun. Target khusus pada tahun kedua adalah mendapatkan formulasi bionematisida terbaik dengan dosis yang optimum dalam menurunkan populasi NSK dan jenis kemasan yang tepat.

Penelitian diawali dengan preparasi bakteri *P. diminuta* dan *B. mycoides*, dilanjutkan dengan pembuatan formula dengan menggunakan bahan pembawa berupa tepung gandum. Formula diamati kerapatan selnya setiap 10 hari sampai 2 bulan setelah formulasi. Setelah formulasi dibuat dilakukan persiapan uji *in vivo* yang dilakukan di Desa Sumber Brantas, Batu. Uji *in vivo* diawali dengan survey lokasi, pengolahan lahan, persiapan bibit, pemupukan bahan organik, kemudian dilanjutkan dengan penanaman. Penelitian *in vivo* menggunakan rancangan split plot. Pengamatan dilakukan setelah tanaman berusia 2 mst (minggu setelah tanam) sampai usia 70 hst.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kerapatan sel pada formula masih mencapai 10^{11} pada saat 2 bulan setelah formulasi. Bila dibandingkan dengan batas minimal kerapatan sel agen hayati pada pupuk hayati yang ditetapkan oleh pemerintah yaitu sebanyak 10^7 , maka formula ini masih di atas batas minimal.

Dosis dan jenis bakteri tidak berpengaruh secara nyata terhadap semua parameter pertumbuhan tanaman pada pengamatan 70 hst, yaitu tinggi tanaman, berat basah dan berat kering tanaman, serta berat umbi tetapi perlakuan dosis menurunkan secara nyata populasi NSK baik pada akar maupun tanah. Dosis 20, 30, dan 40 tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah NSK, tetapi berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Perbedaan jenis bakteri tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah nematoda.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah formula masih baik sampai usia simpan 60 hst, dosis optimum dalam mengendalikan NSK adalah 20 gr per lubang tanam, dan kedua bakteri mempunyai potensi yang sama dalam menurunkan NSK.

Kata kunci : NSK, *Globodera rostochiensis*, *Pseudomonas diminuta*, *Bacillus mycoides*

Formulasi Bionematisida Baru Berbahan Aktif *Bacillus alvei*, *B. Stearothermophilus* dan *Pseudomonas diminuta* untuk mengendalikan nematoda *Globodera rostochiensis*

Peneliti : Iis Nur Asyiah¹, Soekarto²
Mahasiswa yang terlibat : Resti Kusumaningtyas², M. Wildan Badikaruma²
Sumber Dana : Hibah Desentralisasi skim penelitian Hibah Bersaing/BOPTN UNEJ
Kontak Email : iisnaza@gmail.com
Diseminasi : Belum ada

¹ Prodi Pendidikan Biologi, FKIP UNEJ

² Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian UNEJ

EXECUTIVE SUMMARY

A. Latar Belakang

Penggunaan pestisida kimia dalam mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT) telah menimbulkan dampak negatif pada kesehatan manusia dan lingkungan, juga menyebabkan resistensi OPT. Oleh karena itu dibutuhkan pengembangan metode pengendalian alternatif dengan non-kimia, salah satunya adalah dengan pengendalian biologi (*biocontrol*).

Globodera rostochiensis atau nematoda sista kentang (NSK) merupakan nematoda parasit utama pada tanaman kentang yang berpotensi menurunkan hasil panen sampai 80%. Penelitian tentang NSK di Indonesia masih sedikit karena nematoda ini baru diketahui menyerang tanaman kentang di Indonesia pada tahun 2003. Salah satu penelitian pengendalian NSK dengan menggunakan agen hayati adalah penelitian Asyiah dkk. (2009) yang menemukan bahwa bakteri *Bacillus alvei*, *B. Stearothermophilus* dan *Pseudomonas diminuta* yang diisolasi dari tanah perkebunan kentang mampu menurunkan jumlah sista sampai 49% secara *in vitro* di rumah kaca. Hasil uji dengan HPLC menunjukkan bahwa ketiga rizobakter tersebut menghasilkan sitokinin dan giberellin yang cukup tinggi, yang berarti kedua bakteri tersebut termasuk *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR).

Potensi ketiga bakteri tersebut perlu ditindaklanjuti dengan pembuatan formula yang tepat karena keberhasilan pengendalian biologi sangat tergantung pada formulasi yang sesuai yang dapat mempertahankan keberadaan mikroorganisme dalam waktu yang lama. Hal ini terkait dengan ketepatan bahan pembawa dalam formulasi, dosis, metode aplikasi, dan jenis kemasan yang digunakan.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mendapatkan bionematisida baru berbahan aktif *Bacillus alvei*, *B. Stearothermophilus* dan *Pseudomonas diminuta* yang efektif dalam mengendalikan nematoda sista kentang/NSK (*Globodera rostochiensis*).

Tujuan khusus penelitian tahun pertama adalah:

1. menguji efikasi tiga formula bionematisida baru berbahan aktif *Bacillus alvei*, *B. Stearothermophilus* dan *Pseudomonas diminuta* terpilih dengan berbagai dosis dalam mengendalikan NSK secara *in vivo* di lapangan
2. mengoptimisasi formulasi terpilih melalui pemilihan jenis pengemasan

C. Metode Penelitian

a. Tempat Penelitian

Preparasi bionematisida akan dilakukan di laboratorium mikrobiologi Fakultas Pertanian dan laboratorium biomolekuler Universitas Jember. Pengujian *in vitro* akan dilakukan di rumah kaca milik Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSB) Malang,

b. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Isolat *B. Alvei*, *B. Stearothermophilus*, *P. diminuta*, Sista NSK yang diambil dari perkebunan kentang Batu Malang, Medium bakteri NA padat, medium *potato dextrose broth*, talk, bentonit, tepung beras, tepung gandum, buffer Phosphat, glycerol, kalsium karbonat, ekstrak yeast, *carboxymethyl cellulose* (CMC).

Alat yang akan digunakan antara lain adalah: autoklaf, spektrofotometer, cawan Petri, Erlenmeyer, shaker, refrigerator, ultra sentrifuse, strirer, fenwick, polybag, kamera digital, dll.

c. Metode penelitian

Penelitian akan dilakukan selama dua tahun. Pada tahun pertama akan dilakukan tahapan penelitian sebagai berikut:

- 1) Preparasi senyawa/bahan pembawa

Talk, bentonit, tepung gandum, dan tepung beras disterilkan pada suhu 121°C selama 30 menit kemudian dikeringkan secara aseptik pada gelas kaca selama 12 jam pada suhu 50°C sebelum digunakan.

2) Preparasi bakteri

Isolat bakteri dikulturkan pada medium NA. Setelah 2 x 24 jam dipanen dan disentrifuse pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit, kemudian di re-suspensi pada buffer fosfat (0,01 M, pH 7). Konsentrasi yang digunakan adalah 10^8 cfu/ml, ditentukan berdasarkan spektrofotometer dan digunakan sebagai inokulum (Thompson, 1996). Sebelum digunakan inokulum disimpan pada suhu -80°C dalam glyserol 44%.

3) Pembuatan Formula

Satu lup inokulum dipindahkan ke dalam 100 ml medium NA cair dalam Erlenmeyer 250 ml dan diinkubasi dalam shaker pada suhu ruang ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Setelah diinkubasi selama 48 jam, medium cair siap untuk dipreparasi dalam senyawa pembawa. Semua bahan dicampur dalam kondisi steril dengan mengacu pada metode Vidhyasekaran dan Muthuamilan (1995). Produk yang dihasilkan dikeringkan untuk mengurangi kandungan air (lebih kurang 20%), kemudian disimpan dalam kantung polypropilen yang tertutup rapat.

4) Uji daya simpan dan efikasi bionematisida.

- i. Untuk mengetahui daya simpan bionematisida berbahan aktif *B. Alvei*, *B. Stearothermophilus* dan *P. diminuta*, bioformula disimpan dalam kantung polypropilen pada suhu kamar. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak lengkap dengan 3 kali ulangan. Pada hari ke 20, 30, 40, dan 60 hari setelah dibuat formulasi dilakukan pengamatan terhadap jumlah sel bakteri.
- ii. Untuk mengetahui efikasi bionematisida terhadap pertumbuhan tanaman dan perkembangan NSK secara *in vivo* di rumah kaca dilakukan dengan dua metode aplikasi, yaitu aplikasi pada bibit kentang dan aplikasi pada tanah.
 - a) Aplikasi pada bibit: permukaan umbi kentang disterilkan dengan 1% sodium hipoklorit, kemudian dilapisi bioformula (10g/1 kg umbi) yang telah diencerkan dengan air suling steril dan disimpan selama 24 jam. Sebagai kontrol, umbi kentang direndam dalam air suling steril (modifikasi metode Bharati *et al.*, 2004). Setelah 24 jam, bibit kentang ditanam dalam polybag yang berisi tanah steril dan telah diberi sista NSK. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak kelompok dengan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah juvenil NSK.

- b) Aplikasi pada tanah: 10 g formula dicampur dengan pasir secukupnya kemudian ditaburkan ke dalam tanah steril dalam polybag (berisi 5 kg tanah) yang sudah ditanami bibit kentang dan telah diberi 60 sista NSK. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak kelompok dengan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah juvenil NSK.

D. Hasil Dan Pembahasan

1. Preparasi bakteri

Untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang digunakan masih murni, maka dilakukan pengamatan morfologis dan fisiologis isolat. Hasil pengamatan memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah *P. diminuta* dan *B. mycooides*.

2. Preparasi bahan pembawa, pembuatan formula, dan pengamatan daya simpan

Bahan pembawa yang digunakan adalah tepung gambut. Sebagai perbandingan, juga dibuat formula dengan bahan pembawa berupa talk. Persiapan dan pembuatan formula dilakukan sejak bulan Juni 2014. Formula yang sudah tercampur baik dimasukkan ke dalam kantong polypropilen kemudian di tutup rapat (sampai kedap udara). Setelah usia formula mencapai 10 hari dilakukan pengamatan kerapatan sel setiap 10 hari sekali sampai lama penyimpanan 2 bulan (60 hari) . Hasil pengamatan kerapatan sel dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 1.1 Rerata kerapatan sel bakteri pada formula

perlakuan	jumlah koloni bakteri cfu/ml					
	10 hari	20 hari	30 hari	40hari	50hari	60hari
Pdt	283×10^{10}	296×10^{11}	301×10^{12}	241×10^{11}	95×10^{11}	54×10^{11}
Bmt	159×10^{10}	275×10^{11}	59×10^{12}	197×10^{11}	186×10^{11}	91×10^{11}
Pdtg	236×10^{10}	300×10^{11}	160×10^{12}	196×10^{11}	157×10^{11}	151×10^{11}
Bmtg	223×10^{10}	231×10^{11}	65×10^{12}	226×10^{11}	220×10^{11}	160×10^{11}

Keterangan:

Pdt : *P. diminuta* dengan bahan pembawa talk

Bmt : *B. mycooides* dengan bahan pembawa talk

Pdtg : *P. diminuta* dengan bahan pembawa tepung gambut

Bmtg : *B. mycooides* dengan bahan pembawa tepung gambut

3. Persiapan dan pelaksanaan uji *in vivo*

Penelitian tahap ini diawali dengan pengurusan izin penelitian dan survey lokasi, dilanjutkan dengan persiapan bahan penelitian berupa benih kentang, pupuk organik, pengolahan tanah, penanaman, dan pengamatan. Pelaksanaan uji *in vivo* dilakukan di desa

Sumber Brantas, kecamatan Bumi Aji, kota Batu dengan ketinggian tempat 1650 dpl. Benih kentang yang akan digunakan adalah varietas granola G3 (generasi tiga) dengan ukuran M yang sudah mulai bertunas (ngupo). Sebelum penanaman, dilakukan pengolahan tanah secara intensif dilanjutkan dengan pemberian pupuk organik dan penanaman benih kentang.

Sebelum dilakukan pengolahan tanah, dilakukan pengambilan sampel tanah dari lahan yang akan digunakan untuk penelitian untuk dihitung populasinya. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa jumlah NSK per 100 g tanah adalah 100 sista. Desain penelitian berupa split plot dengan dosis sebagai main plotnya. Pengamatan pertumbuhan mulai dilakukan setelah tanaman berusia 2 minggu. Hasil pengamatan pertumbuhan tanaman saat umur tanaman 70 hst dapat dilihat pada Tabel 1.2.

Tabel 1.2 Pengaruh dosis dan jenis bakteri terhadap tinggi tanaman, berat basah (BB) dan berat kering (BK) tanaman kentang, serta Berat Umbi kentang pada saat 70 HST

Perlakuan	Tinggi Tanaman	BB	BK	Berat Umbi
Dosis				
0 gr	46,9622 a	181,6656 a	28,1033 a	215,0011 a
20 gr	47,5933 a	186,6644 a	30,5644 a	223,3333 a
30 gr	49,4444 a	154,6300 a	30,6567 a	205,0011 a
40 gr	47,2589 a	185,9278 a	29,8411 a	214,8156 a
Jenis Bakteri				
P. diminuta	48,3325 a	163,1942 a	31,3533 a	196,2508 a
B. mallei	47,8617 a	185,1383 a	30,9775 a	226,3900 a
PD + BM	47,2500 a	183,3333 a	27,0433 a	196,2508 a

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

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengaruh dosis tidak berkaitan dengan pengaruh jenis bakteri, sehingga pertumbuhan dipengaruhi masing-masing perlakuan. Pada Tabel 1.3 dapat dilihat bahwa perlakuan dosis menurunkan secara nyata jumlah nematoda keseluruhan, yaitu jumlah nematoda jantan, betina dan total dalam akar, serta dan jumlah sista dalam tanah. Pemberian dosis 20 gr per lubang tanam sudah cukup untuk menurunkan populasi nematoda.

Tabel 1.3 Pengaruh dosis dan jenis bakteri terhadap jumlah nematoda jantan, betina dan total dalam akar per 1 gr akar, serta jumlah sista dalam tanah pada per 100 gr tanah saat 70 HST

Perlakuan	Nema jantan	Nema betina	Nema Total	Sista Tanah
Dosis				
0 gr	3,8889 b	9,0000 b	12,8889 b	3,8889 b
20 gr	3,0000 ab	5,3333 a	8,3333 a	3,0000 ab
30 gr	1,0000 a	4,2222 a	5,2222 a	1,0000 a
40 gr	1,7778 a	5,3333 a	7,1111 a	1,7778 a
Jenis Bakteri				
<i>P. diminuta</i> (PD)	1,8333 a	6,5833 a	8,4167 a	1,8333 a
<i>B. mallei</i> (BM)	2,4167 a	6,7500 a	9,1667 a	2,4167 a
PD + BM	3,0000 a	4,5833 a	7,5833 a	3,0000 a

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

Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah :

1. Daya simpan formula dengan senyawa pembawa tepung gambut masih baik sampai 2 bulan setelah formulasi melalui parameter kerapatan sel yang masih mencapai 10^{11} .
2. Dosis formula 20 gr per lubang tanam sudah cukup untuk menurunkan populasi NSK baik pada akar maupun pada tanah.
3. Bakteri *P. diminuta* dan *B. mycooides* mempunyai efektivitas yang sama dalam mengendalikan NSK, baik diaplikasikan sendiri-sendiri maupun berupa campuran.

Kata kunci : *Pseudomonas diminuta*, *Bacillus mycoide* tepung gambut, *Globodera rostochiensis* (NSK)