



**PENGARUH KOMBINASI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT ASAL
KEBUN KOPI KALIBENDO TERHADAP JUMLAH
POPULASI NEMATODA *Pratylenchus coffeae*
DAN PERTUMBUHAN BIBIT TANAMAN
KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)
SERTA PEMANFAATANNYA
SEBAGAI SERIAL POSTER**

SKRIPSI

Oleh

**Dian Ineke Damayanti
130210103085**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PENGARUH KOMBINASI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT ASAL
KEBUN KOPI KALIBENDO TERHADAP JUMLAH
POPULASI NEMATODA *Pratylenchus coffeae*
DAN PERTUMBUHAN BIBIT TANAMAN
KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)
SERTA PEMANFAATANNYA
SEBAGAI SERIAL POSTER**

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai
gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

**Dian Ineke Damayanti
130210103085**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Abdul Jalil dan Ibunda Sinta Versi Farida, terima kasih atas doa, nasihat dan dukungannya dalam membimbing saya menggapai cita-cita. Terima kasih atas pengorbanan yang telah diberikan selama ini.
2. Suami, terima kasih atas kesabaran dan dukungan penuh yang telah diberikan selama ini dalam penyelesaian pendidikan.
3. Bapak/Ibu dosen Program Studi Pendidikan Biologi, terima kasih atas ilmu dan bimbingan yang diberikan dengan penuh kesabaran.
4. Almamater Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

MOTTO

“Agar sukses, kemauanmu untuk berhasil harus lebih besar dari ketakutanmu akan kegagalan” (Bill Cosby)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dian Ineke Damayanti

NIM : 130210103085

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea Arabica L.*) serta Pemanfaatannya sebagai Serial Poster” adalah benar-benar hasil karya sendiri kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi 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 mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2018

Yang menyatakan,

Dian Ineke Damayanti
NIM. 130210103085

SKRIPSI

**PENGARUH KOMBINASI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT
ASAL KEBUN KOPI KALIBENDO TERHADAP JUMLAH
POPULASI NEMATODA *Pratylenchus coffeae*
DAN PERTUMBUHAN BIBIT TANAMAN
KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)
SERTA PEMANFAATANNYA
SEBAGAI SERIAL POSTER**

Oleh

Dian Ineke Damayanti
130210103085

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P

Dosen Pembimbing Anggota : Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd

PERSETUJUAN

**PENGARUH KOMBINASI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT
ASAL KEBUN KOPI KALIBENDO TERHADAP JUMLAH
POPULASI NEMATODA *Pratylenchus coffeae*
DAN PERTUMBUHAN BIBIT TANAMAN
KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)
SERTA PEMANFAATANNYA
SEBAGAI SERIAL POSTER**

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh:

Nama Mahasiswa	:	Dian Ineke Damayanti
NIM	:	130210103085
Jurusan	:	Pendidikan MIPA
Program Studi	:	Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun	:	2013
Daerah Asal	:	Probolinggo
Tempat, Tanggal Lahir	:	Probolinggo, 13 September 1994

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.
NIP.19730614 200801 2 008

Mochammad Iqbal, S. Pd., M.Pd
NIP. 1988012020212 1 001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) serta Pemanfaatannya sebagai Serial Poster” telah diuji dan disahkan pada:

Hari :

Tanggal :

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Pengaji

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Dr. Iis Nur Asyiah S.P., M.P
NIP.19730614 200801 2 008

Mochammad Iqbal, S. Pd., M.Pd
NIP. 1988012020212 1 001

Pengaji Utama,

Pengaji Anggota,

Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si
NIP. 19571028 198503 1 001

Drs. Wachju Subchan, M.S, Ph.D
NIP. 19630813 199302 1 001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D
NIP. 196808021 99303 1 004

RINGKASAN

Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) serta Pemanfaatannya sebagai Serial Poster; Dian Ineke Damayanti; 130210103085; 2018; 139 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA; Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Pratylenchus coffeae merupakan hama dari golongan nematoda parasit yang sangat merugikan kopi Arabika. Penggunaan agen hayati akhir-akhir ini banyak dipilih dalam pengendalian *P. coffeae* karena lebih ramah lingkungan dan dalam hal tertentu murah. Salah satu agen hayati yaitu bakteri endofit. Keefektifan bakteri endofit dalam pengendalian *P. coffeae* telah dibuktikan oleh Tim Penelitian Asyiah (2015). Isolat tunggal bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo dalam penelitian tersebut teruji mampu mengendalikan penetrasi *P. coffeae* pada bibit tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dengan persentase penekanan sebesar 49,41 hingga 93,97%. Tiga isolat bakteri endofit yang paling berpotensi dalam penelitian tersebut diujikan kembali dalam penelitian ini melalui aplikasi kombinasi dengan asumsi bahwa aplikasi kombinasi memberikan hasil aplikasi bakteri endofit yang lebih besar dan diujikan terhadap pertumbuhan bibi tanaman kopi *C. arabica* L. Uji sinergis bakteri endofit dilakukan dalam uji pendahuluan penelitian ini untuk mengetahui ada tidaknya sifat saling hambat diantara bakteri endofit yang diujikan.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA dan *Green House* milik Ibu Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P. di Perumahan Istana Tidar, Kaliurang, Jember. Penelitian dilakukan pada Mei 2016 – April 2017. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 9 perlakuan dengan masing-masing perlakuan terdapat 4 ulangan dan setiap ulangan terdapat 3 sub ulangan. Penelitian terdiri atas tahap persiapan dan aplikasi. Tahap persiapan merupakan tahap persiapan isolat bakteri endofit, bibit tanaman kopi Arabika dan nematoda *P. coffeae* sedangkan tahap aplikasi merupakan tahap aplikasi isolat bakteri endofit dan *P. coffeae* pada bibit tanaman *C. arabica* L.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi isolat bakteri asal kebun kopi Kalibendo berpengaruh nyata menurunkan jumlah populasi nematoda baik jumlah populasi pada akar, tanah maupun populasi total dengan signifikansi secara statistika secara berurutan yaitu sebesar $p=0,01$, $p=0,30$ dan $p=0,003$. Selain itu, kombinasi isolat bakteri endofit tersebut juga berpengaruh nyata meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.), meliputi peningkatan jumlah daun, peningkatan berat basah dan berat kering akar dan tajuk serta penurunan skor kerusakan akar dengan signifikansi secara statistika secara berurutan yaitu sebesar $p=0,000$, $p=0,054$ dan $p=0,58$. Sedangkan isolat bakteri endofit yang terbaik dalam peningkatan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika adalah isolat tunggal *Bacillus* sp. (KB⁶₃) dan kombinasi antara isolat bakteri endofit *Micrococcus* sp. (KB⁴₁) dan *Bacillus* sp. (KB⁶₃).

Hasil dari penelitian ini dimanfaatkan untuk pembuatan produk serial poster. Produk ini ditujukan sebagai media informasi untuk masyarakat umum agar mengetahui bahwa kombinasi bakteri endofit merupakan pembasmi alami nematoda *P. coffeae* dan pemicu pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.). serial poster ini telah diuji kelayakannya oleh dua validator dengan rerata persentase uji kelayakan sebesar 85% dan telah direvisi berdasarkan komentar dan saran dari kedua validator. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kombinasi isolat bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo mampu menurunkan jumlah populasi nematoda *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.).

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. Atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) serta Pemanfaatannya sebagai Serial Poster. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang berjudul “Pemanfaatan Bakteri Endofit dalam Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi Arabika” yang didanai oleh Hibah PUPT DIKTI dan diketuai oleh Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P. Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karen aitu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

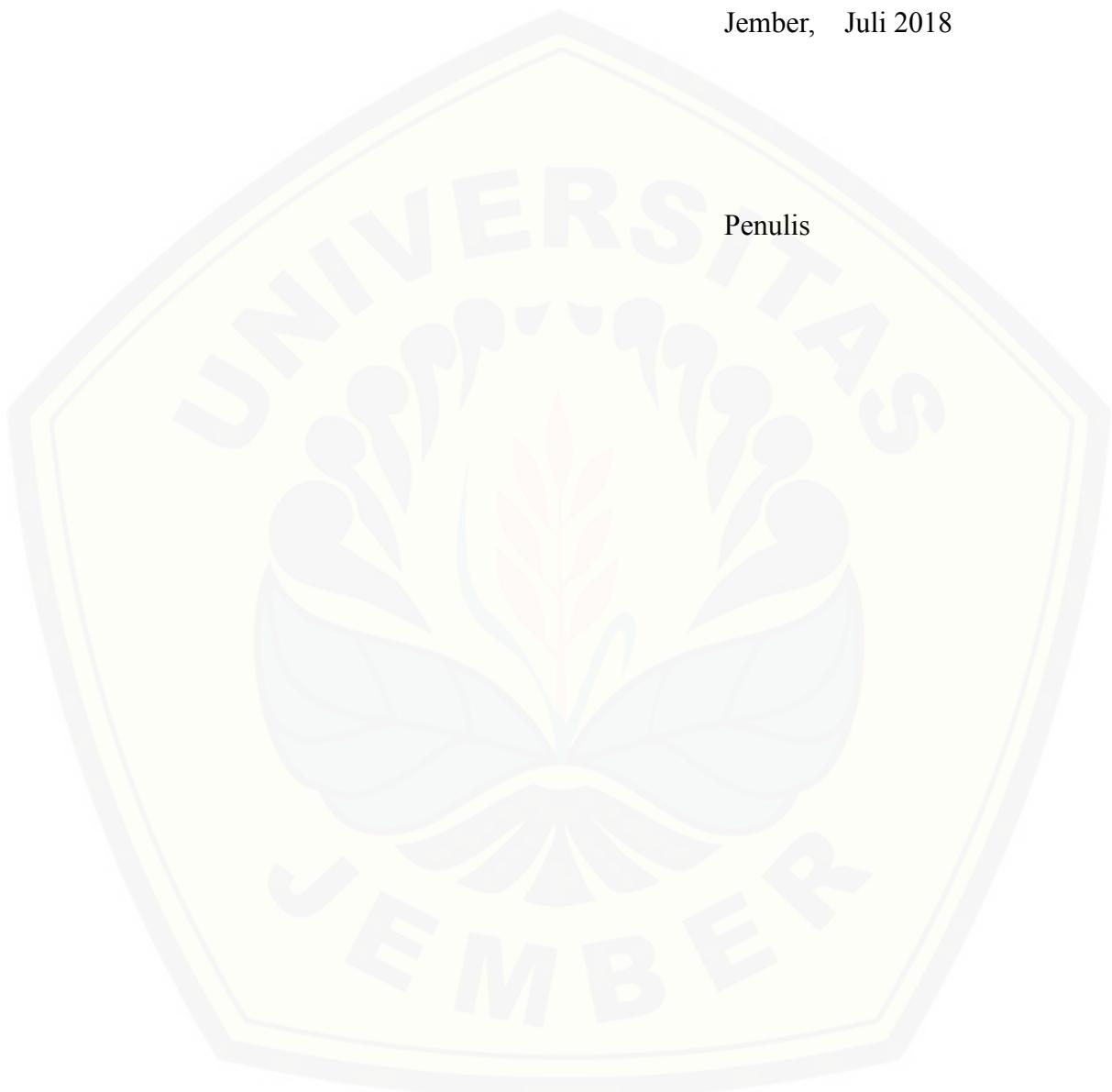
1. Bapak Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Ibu Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
3. Ibu Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember sekaligus dosen pembimbing utama;
4. Bapak Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd., selaku dosen pembimbing anggota;
5. Bapak Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si., selaku dosen penguji utama;
6. Bapak Drs. Wachju Subchan, M.S., Ph.D., selaku dosen penguji anggota;
7. Seluruh Bapak/Ibu dosen Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
8. Orang tua, suami dan seluruh keluarga besar yang telah memberi dukungan penuh, doa dan nasehat untuk penyelesaian skripsi ini;
9. Teman-teman PPBI 2013, Yanuar Saputra, Oke Lolita, Arum Dina Hidayati, Lulut Tri Rizki dan Zahroh Instantini yang telah membantu dan menemani selama penelitian;
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Terima kasih atas segala bantuan, bimbingan dan motivasi yang telah diberikan oleh semua pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini. Semoga

Allah SWT membela semua kebaikan yang telah dilakukan. Kritik dan saran akan berguna untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, Juli 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKAAN	7
2.1 Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i>.....	7
2.1.1 Deskripsi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i>.....	7
2.1.2 Klasifikasi <i>Pratylenchus coffeae</i>.....	9
2.1.3 <i>Pratylenchus coffeae</i> Merusak Tanaman Kopi.....	9
2.2 Bakteri Endofit.....	10
2.2.1 Definisi Bakteri Endofit.....	10
2.2.2 Karakteristik Bakteri Endofit.....	10
2.2.3 Bakteri Endofit Menekan Populasi Nematoda.....	11

2.2.4 Mekanisme Bakteri Endofit dalam Pengendalian Nematoda	13
2.2.5 Bakteri Endofit terhadap Tanaman Kopi	18
2.2.6 Kombinasi Bakteri Endofit.....	20
2.3 Tanaman Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	22
2.3.1 Deskripsi Tanaman Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.).....	22
2.3.2 Klasifikasi Tanaman Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.).....	23
2.4 Poster	24
2.5 Kerangka Berfikir	24
2.6 Hipotesis	25
BAB 3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.2.1 Tempat Penelitian.....	26
3.2.2 Waktu Penelitian.....	26
3.3 Variabel Penelitian	26
3.3.1 Variabel Bebas.....	26
3.3.2 Variabel Terikat.....	26
3.3.3 Variabel Kontrol.....	27
3.4 Alat dan Bahan	27
3.4.1 Alat Penelitian.....	27
3.4.2 Bahan Penelitian.....	27
3.5 Penentuan Populasi dan Sampel	28
3.5.1 Populasi Penelitian.....	28
3.5.2 Sampel Penelitian.....	28
3.6 Definisi Operasional	28
3.7 Desain Penelitian	28
3.8 Prosedur Penelitian	29
3.8.1 Persiapan Alat dan Bahan.....	29
3.8.2 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	29
3.8.3 Persiapan Biji Kopi.....	30
3.8.4 Persiapan Media Tanam dan Pembibitan Biji Kopi.....	30

3.8.5 Peremajaan dan Penyimpanan Isolat Bakteri.....	30
3.8.6 Uji Kerapatan Bakteri.....	30
3.8.7 Uji Sinergi Isolat Bakteri.....	32
3.8.8 Penanaman Bibit Tanaman Kopi.....	33
3.8.9 Pembuatan Suspensi Isolat Bakteri dan Aplikasi.....	33
3.8.10 Persiapan Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> dan Aplikasi.....	34
3.8.11 Aplikasi Nematoda pada Bibit Kopi Arabika.....	35
3.8.12 Pemeliharaan Tanaman.....	36
3.8.13 Pengamatan Hasil Aplikasi dan Analisis.....	36
3.9 Parameter Penelitian.....	37
3.9.1 Tinggi Tanaman.....	37
3.9.2 Jumlah Daun.....	37
3.9.3 Berat Basah Akar dan Tajuk.....	37
3.9.4 Berat Kering Tajuk.....	37
3.9.5 Skor Kerusakan Akar.....	38
3.9.6 Populasi Nematoda dalam Akar dan Tanah.....	38
3.10 Diagram Alur Penelitian.....	42
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1 Hasil Penelitian.....	43
4.1.1 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit.....	43
4.1.2 Identifikasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i>	45
4.1.3 Pengaruh Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Penurunan Jumlah Populasi Nematoda <i>Pratylenchus</i> <i>coffeae</i>	47
4.1.4 Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika (<i>Coffea arabica L.</i>).....	49
4.1.5 Uji Validasi Serial Poster.....	59
4.2 Pembahasan.....	60
4.2.1 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit.....	61
4.2.2 Identifikasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i>	62

4.2.3 Pengaruh Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Penurunan Jumlah Populasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i>	64
4.2.4 Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika (<i>Coffea arabica L.</i>).....	68
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	79
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN	89

DAFTAR TABEL

Halaman

2.1 Pengaruh 18 isolat bakteri endofit terhadap populasi nematoda 12 minggu	setelah	aplikasi	12
2.2 Mekanisme bakteri endofit menginduksi ketahanan tanaman nilam terhadap	<i>P.</i>	<i>brachyurus</i>	17
2.3 Pengaruh bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman kopi 12 minggu	setelah	aplikasi	19
4.1 Hasil identifikasi isolat bakteri endofit	44	
4.2 Rata-rata jumlah populasi nematoda <i>P. coffeae</i> pada akar, tanah dan total jumlah populasi	48	
4.3 Rata-rata tinggi bibit tanaman kopi Arabika	50	
4.4 Pengaruh kombinasi bakteri endofit terhadap rata-rata jumlah daun bibit	tanaman	kopi	Arabika
4.5 Rata-rata berat basah akar, berat basah tajuk dan berat kering tajuk bibit	tanaman	kopi	Arabika
4.6 Rata-rata skor kerusakan tajuk bibit tanaman kopi Arabika	56	
4.7 Hasil uji validasi serial poster	57	
	59			

DAFTAR GAMBAR

Halaman

2.1	Morfologi nematoda <i>P. coffeae</i>	8
2.2	Representatif skematik siklus hidup nematoda peluka akar <i>Pratylenchus</i>
2.3	Foto sayatan akar serabut menggunakan mikroskop elektron dengan bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> 89B-61 yang diaplikasikan saat pemberian handengan kerapatan 1×10^7 cfu/biji
2.4	Pengaruh bakteri endofit <i>Achromobacter xylosoxidans</i> (TT2), <i>Bacillus cereus</i> (MSK), <i>Alcaligenes faecalis</i> (NJ16), <i>Bacillus subtilis</i> (NJ57) dan <i>Pseudomonas putida</i> (EH11) terhadap jumlah <i>Pratylenchus brachyurus</i> yang menetrasi akar tanaman nilam setelah enam hari perlakuan
2.5	Morfologi tanaman kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	23
3.1	Gambar desain uji sinergis antar isolat bakteri	33
3.2	Alat bantu penghitung nematoda	35
3.10	Diagram alur penelitian	
	41	
4.1	Nematoda <i>P. coffeae</i> betina dengan perbesaran mikroskop 400x	
4.2	Morfologi nematoda <i>P. coffeae</i> jantan perbesaran mikroskop 50 μm	46
4.3	Grafik rata-rata tinggi bibit tanaman kopi Arabika pada minggu ke-0 dan minggu ke-18	51

4.4	Grafik rata-rata jumlah daun pada minggu ke-0 dan minggu ke-18.....	54
4.5	Kerusakan akar bibit tanaman kopi <i>C. arabica</i> L. pada minggu ke-18...	58



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks Penelitian.....	89
B. Desain rancangan Rangkaian Acak Lengkap (RAL).....	95
C. Hasil Analisis SPSS	96
D. Hasil Uji Sinergis	106
E. Alat dan Bahan Penelitian	107
F. Kegiatan Penelitian	110
G. Desain serial poster halaman 1 sebelum validasi.....	112
H. Desain serial poster halamn 2 sebelum validasi.....	113
I. Desain serial poster halaman 3 sebelum validasi	114
J. Desain serial poster halaman 1 setelah validasi.....	115
K. Desain serial poster halamn 2 setelah validasi.....	116
L. Desain serial poster halaman 3 setelah validasi	117
M. Surat Rekomendasi sebagai Validator	118
N. Hasil Validasi Ahli Materi	119
O. Hasil Validasi Ahli Media	123

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pratylenchus coffeae merupakan hama dari golongan nematoda parasit yang sangat merugikan kopi Arabika. Nematoda ini menyerang jaringan korteks akar serabut sehingga mengakibatkan serabut akar menjadi rusak, berwarna coklat dan terdapat luka-luka nekrotik. Luka-luka tersebut secara bertahap meluas hingga akhirnya seluruh serabut akar membusuk (Asyiah *et al.*, 2015:31; Wiryadiputra *et al.*, 2008).

Berbagai upaya pengendalian *P. coffeae* telah banyak dilakukan. Mustika dan Nuryani (2006: 7-8) mengatakan bahwa selama kurun waktu 60 tahun terakhir, pengendalian nematoda dengan menggunakan nematisida kimia (sintetis) masih memegang peranan penting karena cara-cara pengendalian lain belum mampu memberikan hasil yang memuaskan. Akan tetapi, penggunaan nematisida kimiawi dapat menimbulkan dampak negatif berupa keracunan pada manusia dan hewan peliharaan, pencemaran air tanah serta terbunuhnya organisme bukan sasaran termasuk musuh alami nematoda seperti jamur dan bakteri.

Akhir-akhir ini agen hayati lebih banyak dipilih sebagai pengendali hama karena lebih ramah lingkungan dan dalam hal tertentu lebih murah (Wiryadiputra *et al.*, 2003). Salah satu agen hayati adalah bakteri endofit. Menurut Jha *et al.* (2013: 74-75), aplikasi bakteri endofit lebih efisien dalam mengendalikan hama dan meningkatkan pertumbuhan tanaman, termasuk pengendalian *P. coffeae*. Jika dibandingkan dengan bakteri rizosfer, bakteri endofit lebih menjanjikan karena kompetisi dengan bakteri lain di dalam apoplas rendah (Sigee, 1993).

Kefektifan bakteri endofit telah dibuktikan oleh penelitian Harni dan Khaerati (2013) terhadap *P. coffeae* pada tanaman kopi. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa bakteri endofit mampu menekan populasi *P. coffeae* dan memicu pertumbuhan (tinggi tanaman, berat tajuk,

dan berat akar) dibandingkan kontrol. Penurunan populasi nematoda *P. coffeae* pada akar kopi tersebut disebabkan karena bakteri endofit dapat menekan penetrasi dan reproduksi nematoda di dalam akar (Sikora *et al.*, 2007). Perlindungan bakteri endofit terhadap infeksi nematoda dilakukan dengan cara mengkolonisasi jaringan internal akar dan menghasilkan metabolit yang dapat menekan perkembangan nematoda (Hallmann, 2001).

Penggunaan bakteri endofit dalam upaya pengendalian nematoda parasit juga telah diteliti oleh Tim Penelitian Asyiah (2015). Penelitian tersebut menguji potensi isolat bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo terhadap penetrasi nematoda parasit *P. coffeae* pada bibit kopi arabika (*C. arabica* L.). Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian tersebut merupakan isolat tunggal dan teruji mampu menekan penetrasi nematoda *P. coffeae* dengan persentase penekan terhadap nematoda sebesar 49,41% hingga 93,97%. Diantara isolat-isolat yang diujikan dalam penelitian tersebut, terdapat 3 isolat yang berpotensi terbesar dalam pengendalian penetrasi nematoda *P. coffeae*, yaitu isolat *Micrococcus* sp. (KB⁴), *Bacillus* sp. (KB⁶) dan *Micrococcus luteus* (KB¹) dengan masing-masing persentasi penekanan penetrasi secara berurutan 93,97%, 86,74% dan 80,74%.

Selain dapat menekan populasi nematoda, penggunaan bakteri endofit juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman baik secara langsung maupun tidak langsung (Klopper *et al.*, 1999). Penelitian Harni dan Khaerati (2013:115) membuktikan dari 422 isolat bakteri endofit yang digunakan, 60 isolat (14,22%) mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi, meliputi tinggi tanaman, berat tajuk dan berat akar dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Hasil dari aplikasi bakteri endofit menurut Whipps (2001) dapat ditingkatkan dengan mengkombinasikan beberapa strain bakteri endofit yang memiliki mekanisme berbeda tetapi saling menunjang. Mengingat pada kenyatannya di alam berbagai jenis bakteri endofit hidup secara bersamaan maka aplikasi penggabungan beberapa bakteri endofit dapat

dilakukan untuk membuktikan hasil aplikasi bakteri endofit yang lebih tinggi. Akan tetapi, dalam penggabungan beberapa bakteri endofit perlu memperhatikan sifat saling menghambat antar agens yang akan diujikan (Whipps, 2001). Oleh karena itu, uji sinergis dilakukan dalam penelitian ini untuk mengetahui ada tidaknya sifat saling hambat antara ketiga isolat bakteri endofit yang diujikan dalam penelitian ini.

Uji sinergisme dalam uji pendahuluan penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *double layer*. Metode ini memungkinkan senyawa antimikroba yang dihasilkan dapat berfungsi dengan baik pada media semi padat sehingga menghasilkan zona bening yang terlihat jelas. Zona bening tersebut merupakan bagian media yang tidak dapat ditumbuhki oleh bakteri yang sedang diujikan karena adanya difusi senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri penguji (Lisboa *et al.*, 2006). Ketiga bakteri endofit dalam uji sinergisme ini diperoleh hasil bahwa ketiganya tidak menghasilkan zon abening pada media sehingga dapat dikatakan bahwa ketiga bakteri endofit yang akan digunakan dalam penelitian ini tidak memiliki sifat saling hambat untuk dilakukan aplikasi kombinasi.

Fenomena sinergisme dapat berupa hasil interaksi dalam proses pengambilan nutrisi. Sumarsih (2003) menyatakan, jika dua atau lebih jasad yang berbeda ditumbuhkan bersama-sama dalam suatu medium, maka aktivitas metabolismenya baik secara kualitatif maupun kuantitatif akan berbeda jika dibandingkan dengan jumlah aktivitas masing-masing jasad dalam medium yang terpisah.

Fenomena sinergisme telah dibuktikan dalam penelitian Suriaman (2010:33) mengenai potensi bakteri endofitt dari akar tanaman kentang dalam memfiksasi N₂ di udara dan menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetid Acid*) secara in vitro. Dari beberapa kombinasi bakteri endofit yang digunakannya dalam penelitiannya, kombinasi antara bakteri *Bacillus mycoides* dan *Klebsiella ozaenae* menghasilkan NH₄ tertinggi dibandingkan kombinasi bakteri endofit lainnya, yaitu sebesar 1,399 ppm pada hari kelima. Tingginya nilai NH₄ yang dihasilkan dari bakteri endofit

kombinasi dibandingkan dengan bakteri endofit tunggal pada penelitian tersebut dikarenakan bakteri yang digunakan dalam kombinasi tersebut memiliki kecepatan tumbuh yang berbeda-beda dalam media M63 tanpa mineral N.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Tim Penelitian Asyiah (2015), 3 isolat bakteri paling berpotensi asal kebun kopi Kalibendo akan diujikan kembali untuk mengetahui pengaruh isolat bakteri endofit terhadap jumlah populasi *P. coffeae* dan pertumbuhan bibit tanaman kopi *C. arabica* L. serta pemanfaatannya sebagai serial poster. Pengujian dilakukan dengan aplikasi kombinasi dalam upaya peningkatan hasil aplikasi bakteri endofit. Tiga isolat bakteri yang akan diujikan dalam penelitian ini yaitu *Micrococcus luteus* (KB¹₁), *Micrococcus* sp. (KB⁴₁) dan *Bacillus* sp. (KB⁶₃).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Apakah kombinasi antara isolat bakteri endofit *Micrococcus luteus* (KB¹₁), *Micrococcus* sp. (KB⁴₁) dan *Bacillus* sp. (KB⁶₃) asal kebun kopi Kalibendo mampu menurunkan populasi *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.)?
- b. Manakah diantara isolat bakteri endofit *Micrococcus luteus* (KB¹₁), *Micrococcus* sp. (KB⁴₁) dan *Bacillus* sp. (KB⁶₃) asal kebun kopi Kalibendo yang paling berpengaruh dalam menurunkan jumlah populasi *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.)?
- c. Apakah serial poster dari hasil penelitian pengaruh kombinasi bakteri endofit terhadap jumlah populasi nematoda *Pratylenchus coffeae* dan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika layak dijadikan sebagai media informasi bagi masyarakat?

1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah dalam penelitian ini, maka perlu adanya batasan masalah sebagai berikut:

- a. Isolat bakteri endofit yang digunakan yaitu *Micrococcus luteus* (KB¹), *Micrococcus* sp. (KB⁴) dan *Bacillus* sp. (KB⁶) asal kebun kopi Kalibendo yang paling berpotensi dalam penelitian Tim Penelitian Asyiah (2015);
- b. Bibit tanaman kopi Arabika yang digunakan berasal dari kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur, berusia 2 bulan atau yang telah memiliki sepasang daun pertama;
- c. Nematoda *P. coffeae* yang digunakan merupakan nematoda dari fase *juvenile* hingga dewasa. Nematoda tersebut diperoleh dari akar tanaman kopi yang terserang *P. coffeae* dan diekstrak menggunakan metode *Baerman* yang dimodifikasi. Tanaman kopi yang terserang *P. coffeae* diperoleh dari hasil proses *rearing* yang dilakukan di *Green House* beralamat di Perumahan Tidar kabupaten Jember;
- d. Pengamatan terhadap jumlah populasi nematoda *P. coffeae* dilakukan dengan menghitung jumlah populasi akhir nematoda di akar dan tanah di akhir penelitian (setelah 4 bulan penelitian);
- e. Pengamatan terhadap pertumbuhan bibit tanaman kopi *C. arabica* L. dilakukan pada tinggi tanaman, jumlah daun, berat basah dan berat kering akar, berat basah tajuk serta skor kerusakan akar. Pengamatan tinggi dan jumlah daun dilakukan sejak penanaman bibit kopi usia 3 bulan sedangkan pengamatan berat basah dan berat kering akar, berat basah dan berat kering tajuk, skor kerusakan tajuk serta skor kerusakan akar dilakukan di akhir penelitian;
- f. Serial poster yang dihasilkan adalah berupa beberapa lembar kertas yang berisi informasi mengenai pengaruh kombinasi bakeri endofit terhadap jumlah nematoda *Pratylenchus coffeae* dan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika berdasarkan hasil penelitian.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh kombinasi antara isolat bakteri endofit *Micrococcus luteus* (KB^1_1), *Micrococcus* sp. (KB^4_1) dan *Bacillus* sp. (KB^6_3) asal kebun kopi Kalibendo terhadap jumlah populasi *P. coffeae* dan pertumbuhan bibit kopi arabika (*C. arabica* L.);
- b. Untuk mengetahui isolat bakteri endofit diantara *Micrococcus luteus* (KB^1_1), *Micrococcus* sp. (KB^4_1) dan *Bacillus* sp. (KB^6_3) asal kebun kopi Kalibendo yang paling berpengaruh dalam menurunkan jumlah populasi *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan bibit kopi arabika (*C. arabica* L.);
- c. Untuk mengetahui kelayakan serial poster tentang pengaruh kombinasi bakteri endofit terhadap jumlah nematoda *Pratylenchus coffeae* dan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.).

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

- a. Bagi ilmu pengetahuan dapat menambah wawasan keilmuan dan pengetahuan tentang pengaruh kombinasi isolat bakteri endofit yang terhadap populasi *P. coffeae* dan pertumbuhan bibit kopi arabika (*C. arabica* L.).
- b. Bagi penulis dapat membuktikan secara ilmiah pengaruh kombinasi isolat bakteri endofit yang terhadap populasi *P. coffeae* dan pertumbuhan bibit kopi arabika (*C. arabica* L.).
- c. Bagi peneliti lain dapat digunakan sebagai bahan penelitian selanjutnya terkait pengaruh kombinasi isolat bakteri endofit yang terhadap populasi *P. coffeae* dan pertumbuhan bibit kopi arabika (*C. arabica* L.).
- d. Bagi masyarakat dapat memberikan motivasi untuk memanfaatkan bakteri endofit sebagai agensia pengendali hayati pada tanaman kopi.

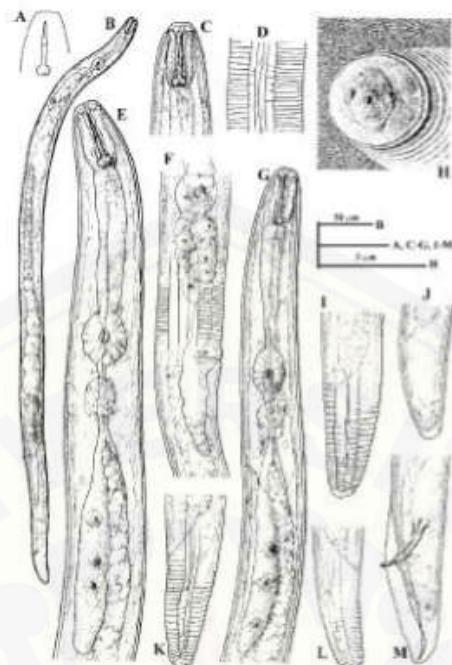
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nematoda *Pratylenchus coffeae*

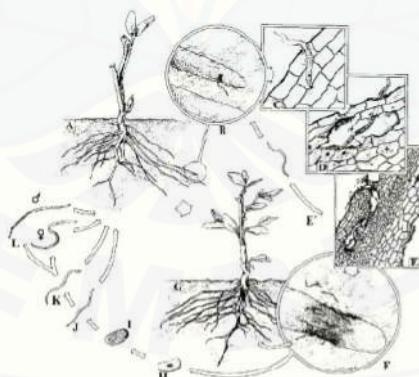
2.1.1 Deskripsi Nematoda *Pratylenchus coffeae*

Nematoda *Pratylenchus coffeae* merupakan hama yang sangat merusak pada tanaman kopi, baik pada jenis kopi Arabika maupun Robusta (Wiryadiputra & Tran, 2008). Nematoda *P. coffeae* merupakan jenis nematoda endoparasit berpindah yang tersebar pada zona perakaran tanaman kurang dari 30 cm (Hulupi, 2008:19-20). *P. coffeae* bertelur di dalam jaringan akar. Daur hidupnya berkisar antara 45-48 hari dengan rinciannya, yaitu 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. Nematoda ini mempunyai lebar tubuh antara 40 μm hingga 160 μm dengan panjang tubuh antara 0,4-0,7 mm sedangkan diameter tubuh 20 -25 μm . Bentuk nematoda ini pada umumnya memanjang, bagian ujung anterior kepala mendatar dengan kerangka kepala yang kuat, mempunyai stilet pendek dan kuat, panjangnya 14-20 μm dengan basal knop yang jelas (lihat Gambar 2.1) (Dropkin, 1992).

Nematoda *P. coffeae* memiliki keseluruhan siklus hidup sekitar 4 minggu dalam kondisi optimal. Telur diletakkan dalam jaringan akar hingga selesai seluruh siklus hidupnya. Nematoda melewati empat tahap remaja dari fase telur hingga dewasa. Pergantian kulit pertama berlangsung dalam telur sedangkan pergantian kulit kedua hingga keempat terjadi di luar sel telur. Telur menetas dalam 6-8 hari di dalam air 28-30°C. Dalam umbi kentang di Jepang, dewasa *P. coffeae* muncul di sekitar 2 minggu setelah menetas dengan rentang hidup sekitar 27 hari di 25-30°C (Tuyet, 2010: 7).



A. Stilet betina; B. Keseluruhan tubuh betina; C. Bagian tubuh betina; D. Bagian samping tubuh betina; E. Daerah pharingeal betina; F. Daerah vulva; G. Daerah pharingeal jantan; H. Kepala betina; I-L. Variasi ekor betina; M. Ekor jantan.
Gambar 2.1 Morfologi nematoda *P. coffeae* (Sumber: Castillo dan Vovlas, 2007:86)



A. Akar tanaman sehat; B-D. Penetrasi nematoda kedalam akar; E-F. Kerusakan kortikal; G. Akar tanaman yang terinfeksi (nekrotik); H-I. Telur *Pratylenchus*; J-K. Spesimen juvenil; L. Spesimen dewasa
Gambar 2.2 Representatif skematik siklus hidup nematoda peluka akar *Pratylenchus* spp. (Sumber: Castillo dan Vovlas, 2007:309)

2.1.2 Klasifikasi *Pratylenchus coffeae*

Nematoda *P. coffeae* memiliki kedudukan seperti di bawah ini menurut itis.gov (2016) di dalam sistematika kingdom hewan:

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Nematoda
Class	:	Adenophorea
Subclass	:	Diplogasteria
Order	:	Tylenchida
Superfamily	:	Tylenchoidea
Family	:	Pratylenchidae
Genus	:	Pratylenchus
Spesies	:	<i>Pratylenchus coffeae</i>

2.1.3 *Pratylenchus coffeae* Merusak Tanaman Kopi

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: 117).

Nematoda bersifat endoparasit berpindah seperti *P. coffeae* memakan kulit akar sehingga akar menguning dan akhirnya berwarna cokelat kehitaman. Luka berkembang melingkari akar dan pada tingkat lanjut kulit akar terkelupas (Luc dan Sikora, 1995). Akar serabut menjadi rusak, berwarna coklat dan terdapat luka-luka nekrotik. Luka-luka tersebut secara bertahap meluas, sehingga akhirnya seluruh akar serabut membusuk (Nugroharini, 2012). Kerusakan akar serabut yang telah parah akan mengakibatkan tanaman kopi tidak mampu lagi menyerap unsur hara dan tanaman akan mati (Nur *et al.*, 2000; Agrios, 2005).

Daun yang terserang nematoda *P. coffeae* mengalami klorosis (menguning) dimulai dari daun yang terletak dekat batang, cabang-cabang utama hanya tumbuh sedikit dan batang pohon menjadi mudah digoyang karena akarnya habis, akhirnya tanaman mati (Campos *et al.*, 1990). Pada bibit dan tanaman muda,

pertumbuhan menjadi lambat, tanaman kurus dan kerdil, daun mengecil serta klorosis. Pada daun juga tampak bercak nekrosis berwarna coklat tua seperti terbakar yang dimulai dari ujung daun (Hulupi, 2008:21).

Menguningnya daun yang terserang nematoda disebabkan karena kebutuhan tanaman tidak terpenuhi sehingga pertumbuhan terhambat dan proses fotosintesis terganggu. Terhambatnya fotosintesis tersebut menyebabkan tanaman menjadi kerdil. Selain itu, konsentrasi zat pengatur tumbuh pada tanaman, seperti auksin, sitokin dan giberelin, yang banyak terdapat pada ujung akar, menjadi berkurang. Penurunan zat-zat pengatur tumbuh tersebut disebabkan nematoda mengeluarkan enzim selulase dan pektinase yang mampu mendegradasi sel, sehingga ujung akar terluka, pecah dan auksin menjadi tidak aktif (Harni, 2014:8).

2.2 Bakteri Endofit

2.2.1 Definisi Bakteri Endofit

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup mengkolonisasi jaringan bagian dalam tanaman tanpa menyebabkan gangguan pada tanaman tersebut dan kebanyakan dari bakteri endofit adalah menguntungkan, karena mampu sebagai agens biokontrol, dan pemacu pertumbuhan karena dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi tertentu, dan menghasilkan hormon pertumbuhan (Bacon dan Hinton, 2007).

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup bersimbiosis mutualisme dengan tanaman (Harni, 2013: 2; Harni, 2014: 2). Menurut Kado (1992) dalam Harni (2014: 2), bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman tetapi tidak merugikan tumbuhan inangnya. Hallman *et al.* (1997) mendefinisikan bakteri endofit sebagai bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman, yang dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang telah dilakukan sterilisasi permukaan.

2.2.2 Karakteristik Bakteri Endofit

Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tubuhan tanpa merugikan tanaman inangnya dan aktif di dalam jaringan tersebut (Hallman *et al.*, 1997). Keberadaan bakteri endofit secara alami, dapat berasosiasi dengan tanaman dalam jangka waktu yang cukup lama, akan tetapi bukan berupa organ spesifik dari tanaman (Ryan *et al.*, 2007:2). Kemampuan bakteri mengkolonisasi jaringan tanaman merupakan faktor penting dalam mekanisme penekanan perkembangan patogen. Proses kolonisasi akar oleh bakteri endofit sama dengan proses patogenesis bakteri mengkolonisasi inang, yaitu kontak dengan permukaan akar, pengenalan, penetrasi, multiplikasi, dan kolonisasi (Hallmann, 2001).

Bakteri endofit sebagai agens pengendali hayati memiliki kelebihan, diantaranya mampu untuk mengendalikan penyakit tumbuhan secara tidak langsung melalui senyawa tertentu yang dihasilkan, yang dapat merangsang sistem pertahanan inang (Kobayashi dan Palumbo, 2000). Manfaat lain dari bakteri endofit menurut Zinniel *et al.*, (2002), yaitu mampu meningkatkan produksi penyerapan mineral, fiksasi nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman dari penyakit.

Bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jaringan tanaman seperti akar, batang, daun, buah, dan bunga. Populasi bakteri endofit memiliki kerapatan yang beragam, tergantung pada jenis tanaman, tipe jaringan (akar, batang, daun), umur tanaman, habitat, dan faktor lingkungan geografis, spesies, genotipe tanaman, dan teknik budidaya (Hallmann dan Berg, 2006: 17). Pada akar, kerapatan populasi bakteri endofit adalah 10^5 cfu/g berat akar, sedangkan pada batang adalah 10^4 cfu/g berat batang dan pada daun jumlahnya sekitar 10^5 cfu (Hallman *et al.*, 1997).

2.2.3 Bakteri Endofit Menekan Populasi Nematoda

Pengendalian nematoda menggunakan bakteri endofit merupakan salah satu komponen pengendalian ramah lingkungan yang pada akhir-akhir ini banyak digunakan sebagai pengendalian biologi. Banyak penelitian telah membuktikan

bahwa bakteri endofit mampu menekan populasi nematoda. Rahanandeh *et al.* (2012: 246) menyatakan dalam jurnal penelitiannya bahwa penggunaan isolat Bacillus untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus lossi* pada tanaman efektif menekan populasi nematoda *P. lossi* sebesar 62,88 hingga 86,01%. Kefektifan bakteri Pseudomonas dan Bacillus dikaitkan dengan adanya produksi senyawa volatil antara lain keton, dimetil sulfida, dan HCN.

Bakteri endofit juga telah diujikan terhadap nematoda *P. coffeae* dalam penelitian Harni (2012), dimana dari 18 isolat bakteri endofit yang antagonis terhadap nematoda parasit kopi diperoleh 6 isolat isolat (PG132, PG76, LW15, LW13, dan PG56) yang berpotensi menekan populasi nematoda dengan persentase pengurangan populasi sebesar 92,14 – 94,98% (lihat Tabel 2.1). Hal ini disebabkan bakteri endofit mengkolonisasi jaringan internal akar dan menghasilkan metabolit yang dapat menekan penetrasi dan reproduksi nematoda (Hallmann, 2001; Sikora *et al.*, 2007).

Tabel 2.1 Pengaruh 18 isolat bakteri endofit terhadap populasi nematoda 12 minggu setelah aplikasi

No.	Isolat	Populasi Nematoda	Pengurangan Populasi (%)
1.	LW28	248	58,53
2.	LW33	270	54,85
3.	PG2	80	86,62
4.	PG94	243	59,36
5.	MER	404	32,44
6.	TT	197	67,06
7.	PG56	47	92,14
8.	L45	297	50,33
9.	LW19	257	57,02
10.	PG36	231	61,37
11.	LW13	46	92,31
12.	LW15	33	94,48
13.	LW16	57	90,47
14.	PG132	30	94,98
15.	PG43	48	91,97
16.	PG76	40	93,31
17.	PG33	379	36,62
18.	L24	382	36,12
19.	K+	598	-

Sumber: Harni (2012).

Menurut Harni *et al.*, (2012), bakteri endofitik yang salah satunya jenis di dalamnya adalah *Bacillus*, dapat menghasilkan zat-zat kimia tertentu yang dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap nematoda *Pratylenchus brachyurus*, diantaranya kitinase, asam salisilat, katalase, dan peroksidase.

2.2.4 Mekanisme Bakteri Endofit dalam Pengendalian Nematoda

Penggunaan bakteri endofit dalam pengendalian nematoda banyak digunakan akhir-akhir ini sebagai pengendali biologi atau sebagai agens biokontrol hidup. Menurut Sige (1993), mekanisme pengendalian biologi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu memproduksi bahan antimikroba (antibiosis) dan persaingan ruang dan nutrisi di tempat yang spesifik pada permukaan tanaman. Berdasarkan bahan antimikroba yang dihasilkan, terdapat tiga macam bahan antimikroba yaitu antibiotik, bakteriosin dan siderofor (Sige, 1993).

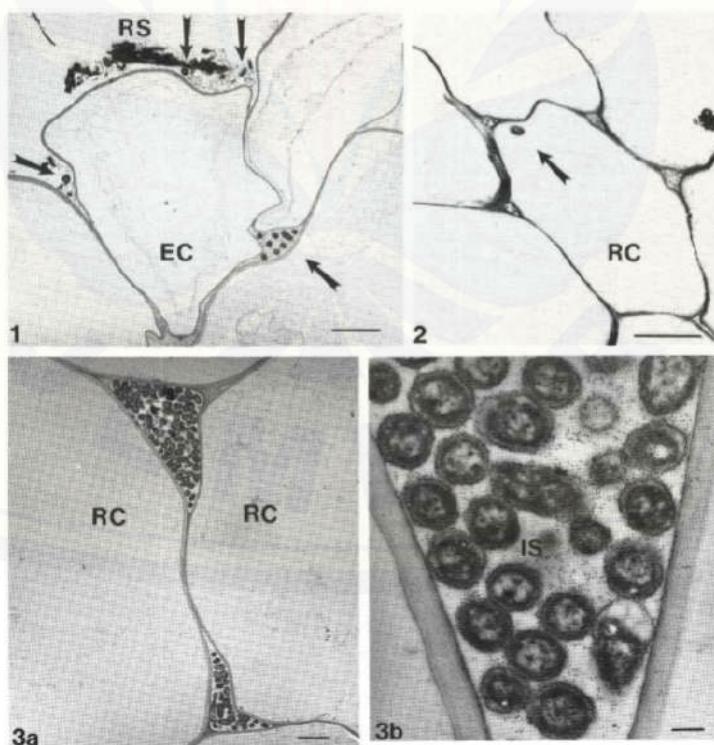
Antibiotik merupakan senyawa organik metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba yang mempunyai berat molekul yang rendah dan bersifat toksin bagi mikroba lain (Lo, 1998). Antibiotik sangat berbahaya bagi pertumbuhan dan keefektifan metabolisme patogen dalam konsentrasi rendah. Antibiotik merupakan bahan antimikroba yang memiliki aktivitas dengan kisaran paling luas. Kebanyakan antibiotik resisten terhadap protease, sehingga dapat dilihat pada media yang mengandung protease (Sige, 1993).

Bakteriosin merupakan substansi bakteri yang tidak bereplikasi dan dapat memberikan efek penghambatan terhadap organisme yang dekat kekerabatannya. Mekanisme bahan antimikroba jenis bakteriosin ini dapat membunuh sel patogen melalui cara perlekatan pada sel patogen. Setiap patogen hanya dapat ditempel oleh bakteriosin yang tertentu saja karena bakteriosin hanya dapat menempel pada sel patogen yang memiliki reseptor saja. Hal inilah yang menjadikan bakteriosin digunakan dalam pengendalian biologi (Sige, 1993).

Siderofor adalah senyawa yang diproduksi agens biokontrol pada lingkungan yang stress besi (Fe) dan berperan sebagai agen pengkhelat ion besi yang spesifik dari lingkungan. Mekanisme pengendalian siderofor terhadap patogen yaitu dengan cara menghindarkan ion besi dari patogen sehingga

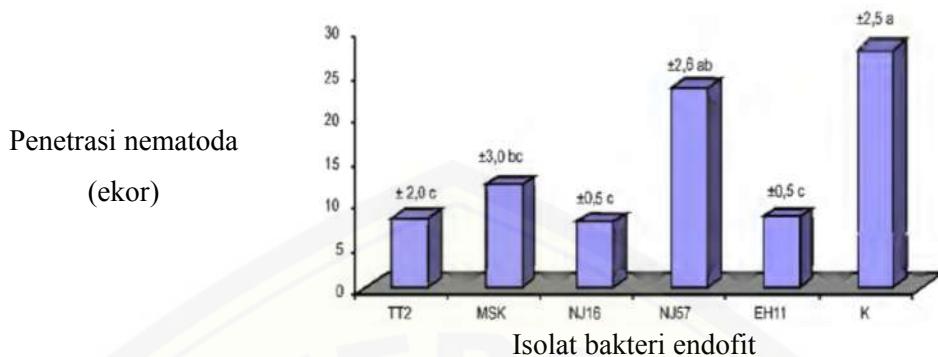
pertumbuhan patogen dapat terhambat (Villegas *et al.*, 2002:115). Siderofor dapat ditumbuhkan bila agen biokontrol bila ditumbuhkan dalam media yang rendah besi (media King's B). Produksi siderofor ditandai dengan produksi pigmen fluorescens dan demonstrasi aktivitas antagonistik terhadap bakteri lain (Siguee, 1993).

Bakteri endofit sebagai agens biokontrol nematoda parasit mempengaruhi penetrasi, reproduksi dan populasi nematoda (Sikora *et al.*, 2007). Pengurangan tingkat penetrasi nematoda ke dalam akar tanaman disebabkan karena bakteri endofit mengkolonisasi epidermis sel akar. Proses koloniasi epidermis sel akar oleh bakteri endofit menyebabkan terjadinya penebalan dinding sel akar tanaman (Kimmons *et al.*, 1989). Fenomena koloniasi epidermis akar ini dibuktikan oleh Harni (2010) dalam penelitiannya melalui pengamatan histologis menggunakan mikroskop *fluorescens* dan pewarnaan *fluorescens* DAPI (*4',6-diamidino-2-phenylindiole*) (lihat Gambar 2.3).



1: Sel bakteri 89B-61 di permukaan akar dan di dalam ruang antarsel epidermis akar; 2: Sel tunggal JM22 di ruang interseluler korteks akar; 3a-3b: JM22 di ruang interseluler korteks akar

Gambar 2.3 Foto sayatan akar serabut menggunakan mikroskop elektron dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens* 89B-61 yang diaplikasikan saat pembenihan dengan kerapatan 1×10^7 cfu/biji (Sumber: Hallman, 1997)



Gambar 2.4 Pengaruh bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus cereus* (MSK), *Alcaligenes faecalis* (NJ16), *Bacillus subtilis* (NJ57) dan *Pseudomonas putida* (EH11) terhadap jumlah *Pratylenchus brachyurus* yang menetrasi akar tanaman nilam setelah enam hari perlakuan (Sumber: Harni *et al.*, 2011).

Selain mengurangi tingkat penetrasi, bakteri endofit juga dapat menekan populasi dan reproduksi nematoda pada tanaman nilam. Harni *et al.* (2011) melaporkan bahwa bakteri endofit dapat menekan reproduksi *Pratylenchus brachyurus* dengan tingkat penekanan sebesar 54,8-70,6%. Penghambatan populasi nematoda oleh bakteri endofit melalui penghambatan reproduksi telah dilaporkan oleh Grundler dan Bockenhoff (1977) serta Rache dan Sikora (1992). Grundler dan Bockenhoff (1977) melaporkan bahwa nematoda *Heterodera schachtii* betina muda yang menginfeksi tanaman kentang mati setelah nematoda tersebut membentuk sintisium. Hal ini disebabkan karena saat terbentuk sintisium terjadi peningkatan asam amino bebas seperti lisin, metionin, penilalanin dan triptopan yang menghambat perkembangbiakan nematoda. Selanjutnya, Rache dan Sikora (1992) melaporkan bahwa bakteri endofit *Bacillus sphaericus* B34 dan *Rhizobium etili* G12 dapat menekan reproduksi nematoda *G. pallida* melalui pengurangan jumlah telur per kista.

Mekanisme penekanan nematoda melalui penekanan reproduksi telah dilaporkan Mustika dan Nuryani (2006:11). Mekanisme dimulai dengan nematoda melakukan penetrasi dengan pertumbuhan spora pada kutikula nematoda. Spora akan berkecambah dan menembus kutikula nematoda (Mustika dan Nuryani,

2006:11) kemudian enzim kitinase akan menghidrolisis kulit telur nematoda yang sebagian besar tersusun oleh zat kitin (Indarti, 2008:1). Dengan demikian, perkembangbiakan nematoda menjadi terhambat dan mati (Mustika dan Nuryani, 2006:11).

Mekanisme pengendalian populasi nematoda oleh bakteri endofit di dalam akar adalah dengan cara menginduksi ketahanan dan kompetisi *nische* (Sikora *et al.*, 2007; Bacon dan Hinton, 2007; Tian *et al.*, 2007; M’Piga *et al.*, 1997). Kompetisi yang dimaksud tak lain adalah kompetisi tempat dan makanan (Sikora *et al.*, 2007). Sedangkan cara menginduksi yang dimaksud dilakukan melalui peningkatan asam salisilat, peroksidase, fitoaleksin, *pathogenesis related* protein (PR) dan senyawa fenolik (Tian *et al.* (2007); Harni *et al.* (2012: 110).

Induksi ketahanan cara bakteri endofit mengaktifkan lintasan transduksi sinyal yang melibatkan asam jasmonik dan etilen tanaman untuk mengaktifkan gen-gen ketahanan terhadap nematoda. Induksi ketahanan tersebut disebut induksi ketahanan sistemik (ISR). Faktor pemicu ISR adalah senyawa kimia (siderofor, antibiotik dan ion Fe) yang dihasilkan bakteri dan komponen sel bakteri, seperti dinding sel mikroba, flagella, villi, dan membran *lipopolysacharida* (Loon dan Bakker, 2006). ISR akar tanaman akan mempengaruhi proses fisiologis nematoda di dalam akar seperti mencegah proses makan, mencegah terbentuknya *feeding site*, menghambat penetrasi dan reproduksi (Sikora *et al.*, 2007; Trudgill, 1991).

Selain induksi ketahanan sistemik, mekanisme pengendalian populasi nematoda oleh bakteri endofit juga dilakukan melalui induksi ketahanan terhadap nematoda juga dapat melalui induksi ketahanan perolehan (*Systemic Acquire Resistance/SAR*). SAR merupakan jenis ketahanan yang terinduksi karena penambahan senyawa kimia atau menginokulasi patogen nekrotik. Induksi ketahanan SAR dicirikan dengan terbentuknya akumulasi asam salisilat dan PR protein (*pathogenesis-related proteins*) (Loon dan Bakker, 2006).

Mekanisme kerja bakteri endofit dalam menekan nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam telah dilaporkan oleh Harni *et al.* (2012) yaitu dengan cara menginduksi ketahanan nematoda dengan peningkatan asam salisilat, peroksidase dan senyawa fenol dalam jaringan tanaman, peningkatan senyawa-senyawa

tersebut pada tanaman nilam terbukti berpengaruh terhadap perkembangan jumlah populasi nematoda di dalam akar (lihat Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Mekanisme bakteri endofit menginduksi ketahanan tanaman nilam terhadap *P. brachyurus*

Isolat	Induksi Ketahanan		
	Peroksidase	Asam salisilat	Fenol
<i>A. xylosoxidans TT2</i>	-	+	+
<i>P. putida EH11</i>	+	-	-
<i>A. faecalis NJ16</i>	-	-	+
<i>B. subtilis NJ57</i>	-	-	-
<i>B. Cereus MSK</i>	-	-	-

(-) tidak menghasilkan; (+) menghasilkan (Sumber: Harni *et al.*, 2012).

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* telah dilaporkan oleh Siddiqui dan Shaukat (2003) mampu mendorong induksi ketahanan sistemik (ISR) tanaman terhadap infeksi nematoda puru akar melalui sinyal transduksi independen dari asam salisilat yang terakumulasi di akar. Aktivitas senyawa fenol telah dilaporkan Anita *et al.* (2004) mampu membuat suatu lingkungan toksik bagi nematoda yang bersifat berpindah. Akumulasi senyawa fenol terjadi setelah pemberian bakteri *P. fluorescens* Pfl agen biokontrol nematoda *M. incognita*. Selain itu, bakteri endofit lainnya seperti *burkholderia phytofirmans* telah dilaporkan Compant *et al.* (2005) mampu menginduksi terjadinya akumulasi senyawa fenolik dan penguatan dinding sel dalam eksodermis tanaman anggur.

Selain mekanisme-mekanisme yang telah disebutkan diatas, sedikit yang mengetahui mekanisme antagonis bakteri endofit terhadap patogen, yaitu antibiotik, kompetisi dan lisis (Schulz *et al.*, 2006:58-59).

a. Antibiotik

Mekanisme ini merupakan kemampuan bakteri endofit untuk menghambat pertumbuhan patogen dengan memproduksi antibiotik atau toksin.

b. Kompetisi

Mekanisme ini merupakan salah satu faktor penting sebagai kontrol bakteri endofit terhadap patogen sejak adanya koloni organisme yang memanfaatkan nutrisi yang sama. Fenomena yang menunjukkan kompetisi

sebagai salah satu mekanisme kontrol bakteri endofit terhadap patogen ialah tetap berada dalam kondisi kekurangan nutrisi.

c. Lisis

Bakteri endofit melisikan dinding sel patogen sebagai salah satu mekanisme potensial untuk mengontrol patogen. Bakteri endofit diisolasi dari akar kentang yang menghasilkan enzim hidrolisis selulase, kitinase dan glukanase.

2.2.5 Bakteri Endofit terhadap Tanaman Kopi

Hubungan tanaman kopi terhadap bakteri endofit adalah tanaman kopi sebagai patogen, sedangkan tanaman kopi merupakan tanaman inang. Interaksi antara tanaman inang dan bakteri endofit menurut Bacon & Hinton (2007) dapat bersifat netralisme (tidak ada pengaruh terhadap tanaman inang), mutualisme (menguntungkan terhadap tanaman inang dan bakteri endofit) atau komensalisme (menguntungkan terhadap tanaman inang atau bakteri endofit).

Proses patogenesis bakteri endofit terhadap tanaman inang menurut Sinaga (2006) dalam Marwan *et al.* (2011: 118-119) adalah sebagai berikut:

- a. Inokulasi, kontaknya inokulum pada permukaan jaringan inang.
- b. Penetrasi, masuknya patogen ke dalam jaringan inang infeksi patogen dalam jaringan inang.
- c. Kolonisasi patogen dalam jaringan-jaringan inang.
- d. Diseminasi, penyebaran inokulum ke jaringan/tanaman lain.

Kelebihan bakteri endofit selain mampu menekan populasi nematoda juga dapat memicu pertumbuhan tanaman kopi. Penelitian Harni dan Khaerati (2013:115) membuktikan dari 422 isolat bakteri endofit yang digunakan, 60 isolat (14,22%) mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi (tinggi tanaman, berat tajuk dan berat akar) dibandingkan dengan kontrol (lihat Tabel 2.3). Peningkatan pertumbuhan tersebut disebabkan oleh penekanan populasi nematoda oleh bakteri endofit, sehingga kerusakan akar berkurang. Selain itu, bakteri endofit dapat merangsang pembentukan akar lateral dan jumlah akar sehingga dapat memperluas penyerapan unsur hara (Vasudevan *et al.*, 2002).

Tabel 2.3 Pengaruh bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman kopi 12 minggu setelah aplikasi

Perlakuan	Tinggi Tanaman (cm)	Bobot Tajuk (g)	Bobot Akar (g)
LW28	20,9	11,60	4,86
LW33	23,6	11,84	4,56
PG2	21,2	12,22	4,87
PG94	22,6	12,86	3,31
MER	20,6	9,14	3,46
TT	23,0	12,96	3,80
PG56	39,3	13,09	4,65
L45	22,8	11,40	2,89
LW19	26,6	12,98	3,04
PG36	25,2	12,84	4,72
LW13	32,6	15,07	3,41
LW15	24,6	15,49	4,00
LW16	26,6	12,37	4,81
PG132	27,0	16,38	7,16
PG43	33,0	13,74	4,74
PG76	28,4	14,94	6,09
PG33	23,8	13,29	2,97
L24	24,6	12,22	1,93
K+	21,6	10,81	2,15

Sumber: Harni dan Khaerati (2013)

Peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri endofit dilakukan melalui mekanisme baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, bakteri endofit menyediakan nutrisi bagi tanaman, seperti nitrogen, fosfat, dan mineral lainnya serta menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auxin, dan sitokinin (Khalid *et al.*, 2004; Hallman *et al.*, 1997). Hormon auksin (IAA) yang dihasilkan bakteri endofit pada gandum dapat meningkatkan panjang akar 17,3%, berat kering akar 13,5%, panjang tajuk 37,7% dan berat kering tajuk 36,3% dibandingkan tanaman kontrol (Khalid *et al.*, 2004).

Sedangkan mekanisme peningkatan pertumbuhan secara tidak langsung dilakukan bakteri endofit dengan terlebih dahulu menekan pertumbuhan mikroorganisme pengganggu melalui mekanisme kompetisi, predasi dan antibiotik yang dihasilkannya (Kloepper *et al.*, 1999). Selain itu, bakteri endofit juga mampu mempertahankan dan meningkatkan kesuburan tanah melalui penyediaan P dan fiksasi N₂ sehingga mendukung peningkatan pertumbuhan tanaman (Sturz *et al.*, 2000; Bacon dan Hinton, 2007). Bakteri pemfiksasi N₂diantaranya seperti *Azospirillum*, *Enterobacter cloacae*, *Alcaligenes*, *Acetobacter diazotrophicus*,

Herbaspirillum seropedicae, *Ideonella dechlorantans* dan *Azoarcus* sp. akan menyediakan N₂ bagi tanaman-tanaman non-legume sehingga menurunkan kebutuhan pupuk nitrogen. Ladha dan Reddy (1995) memperkirakan sekitar 200 kg N₂ per ha/tahun diproduksi oleh bakteri endofit.

Bakteri endofit biasanya masuk ke dalam tanaman pertama kali melalui perakaran sekunder dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektiase (Agarwal dan Shende, 1987), atau melalui bagian atas tanaman seperti batang, bunga, radikel kecambah, stomata ataupun kotiledon dan daun yang sobek (Kobayashi dan Palumbo, 2000). Bakteri endofit kemudian membentuk koloni di titik tempat masuk atau menyebar ke seluruh bagian tanaman (Halmann *et al.*, 1997) hidup dalam sel, ruang interseluler, atau dalam sistem pembuluh.

Kolonisasi bakteri endofit di dalam tumbuhan terjadi secara inter dan intraseluler dalam waktu 2-3 minggu. Kolonisasi inter menyebabkan aerenkim (korteks) menjadi berair dan ini merupakan tempat terbesar bagi terbentuknya mikrokoloni. Sebagian besar kolonisasi terjadi secara intraseluler yang menyebabkan terjadinya pengambilan nutrien, terutama karbon. Kadangkala bakteri endofit mampu melakukan penetrasi ke dalam akar hingga ke stele, pareknim dan xylem (Prakamhang, 2007).

2.2.6 Kombinasi Bakteri Endofit

Perlakuan bakteri endofit dapat ditingkatkan melalui kombinasi beberapa strain bakteri endofit yang memiliki mekanisme berbeda namun tetap saling menunjang. Pengaplikasian secara kombinasi ini perlu memperhatikan ada tidaknya sifat saling hambat antar agens biokontrol (Whipps, 2001; Nawangsih, 2006).

Agar dua agens biokontrol dapat dilakukan kombinasi atau lebih dapat bekerja secara optimal, ada beberapa persyaratan diantaranya: 1) bekerja pada tempat yang berbeda, misalnya pada rizosfer atau sisa-sisa bahan organik, 2) memiliki mekanisme pengendalian yang berbeda, misalnya kompetisi dan antibiosis, 3) memerlukan substrat yang berbeda, misalnya lendir tanaman untuk

bakteri dan cendawan dan eksudat akar untuk bakteri kelompok Pseudomonas, dan 4) kompatibel dengan lingkungan tanah serta perubahan yang terjadi karena peningkatan cara bercocok tanam (Mishra *et al.* 2011; Robert *et al.* 2004).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kombinasi bakteri memerlukan adanya dinamis dan sinergis agar memberikan hasil yang lebih tinggi dibanding kultur tunggal (Suriaman, 2010:34). Hasil penelitian Munif (2001) membuktikan bahwa kombinasi antara *Enterobacter* spp. MK24 dengan *P. putida* MT16 lebih efektif menekan jumlah *Meloidogyne incognita* pada kentang dibanding *P. putida* yang diaplikasikan secara tunggal. Guetsky *et al.* (2001) menyatakan bahwa kombinasi antagonis yang tepat mampu meningkatkan daya hambat terhadap penyakit.

Sumarsih (2003) menyatakan, jika dua atau lebih jasad yang berbeda ditumbuhkan bersama-sama dalam suatu medium, maka aktivitas metabolismenya baik secara kualitatif maupun kuantitatif akan berbeda jika dibandingkan dengan jumlah aktivitas masing-masing jasad dalam medium yang terpisah. Fenoma tersebut merupakan hasil interaksi sinergisme.

Peningkatan aplikasi bakteri endofit melalui perlakuan kombinasi ternyata tidak selalu memberikan hasil yang diharapkan. Yigit dan Dikilitas (2007:161) melaporkan bahwa hasil penggunaan gabungan beberapa antagonis tidak menentu, tergantung kondisi lingkungan dan waktu aplikasi. Selain itu, Felde *et al.*, (2006:16) juga telah melaporkan bahwa kombinasi tidak memberikan hasil baik dikarenakan masing-masing agens tidak hanya mempengaruhi metabolisme patogen secara langsung melainkan juga mempengaruhi mekanisme sesama agens biokontrol. Hasil yang tidak baik pada perlakuan kombinasi ini dapat diatasi dengan rotasi agen biokontrol secara simultan (Janousek *et al.*, 2009).

2.3 Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

2.3.1 Deskripsi Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Tanaman kopi Arabika memiliki batang dan cabang kopi berkayu, tegak lurus dan beruas-ruas. Tiap ruas hampir selalu ditumbuhi kuncup. Tanaman ini

mempunyai dua macam pertumbuhan cabang, yaitu cabang *Orthotrop* dan *Plagiotrop*. Cabang *Orthotrop*, disebut juga tunas air atau wiwilan atau cabang air, merupakan cabang yang tumbuh tegak seperti batang. Cabang ini tidak menghasilkan bunga atau buah. Sedangkan cabang *Plagiotrop* merupakan cabang yang tumbuh ke samping. Cabang ini menghasilkan bunga dan buah (Aak, 1988:41).

Daun kopi Arabika berbentuk bulat dengan ujung agak meruncing sampai bulat dan bagian pinggir yang bergelombang. Daun tumbuh pada batang, cabang dan ranting. Daun pada cabang *Orthotroptersusun* berseling seling, sedangkan pada cabang *Plagiotrop* tersusun pada satu bidang. Daun kopi Arabika memiliki ukuran lebih kecil dari Robusta (Aak, 1988:40).

Tanaman kopi Arabika umumnya berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Bunga kopi berukuran kecil dengan mahkota berwarna putih dan berbau harum serta kelopak bunga berwarna hijau. Bunga tersusun dalam kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4-6 kuntum bunga. Tanaman kopi yang sudah cukup dewasa dan dipelihara dengan baik dapat menghasilkan ribuan bunga. Bila bunga sudah dewasa, kelopak dan mahkota akan membuka dan terjadi penyerbukan. Setelah itu bunga akan berkembang menjadi buah (Aak, 1988:43).

Buah kopi Arabika terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri dari tiga bagian yaitu lapisan kulit luar (*eksokarp*), lapisan daging buah (*mesokarp*) dan lapisan kulit tanduk (*endokarp*) yang tipis namun keras. Buah kopi Arabika yang masih muda berwarna hijau dan menguning setelah tua lalu menjadi merah jika masak (gambar 2.5). Besar buah kira-kira 1,5 x 1 cm dan bertangkai pendek (Aak, 1988:43).



A. Morfologi keseluruhan; B. Morfologi daun dan biji

Gambar 2.5 Morfologi tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) (Sumber: Hulupi, 2013: 4)

2.3.2 Klasifikasi Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Kedudukan tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.) dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan menurut itis.gov (2016) yaitu sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Viridiplantae
Infrakingdom	:	Streptophyta
Superdivisi	:	Embryophyta
Divisi	:	Tracheophyta
Subdivisi	:	Spermatophytina
Class	:	Magnoliopsida
Superordo	:	Asteranae
Ordo	:	Gentianales
Family	:	Rubiaceae
Genus	:	<i>Coffea</i> L.
Species	:	<i>Coffea arabica</i> L.

2.4 Serial Poster

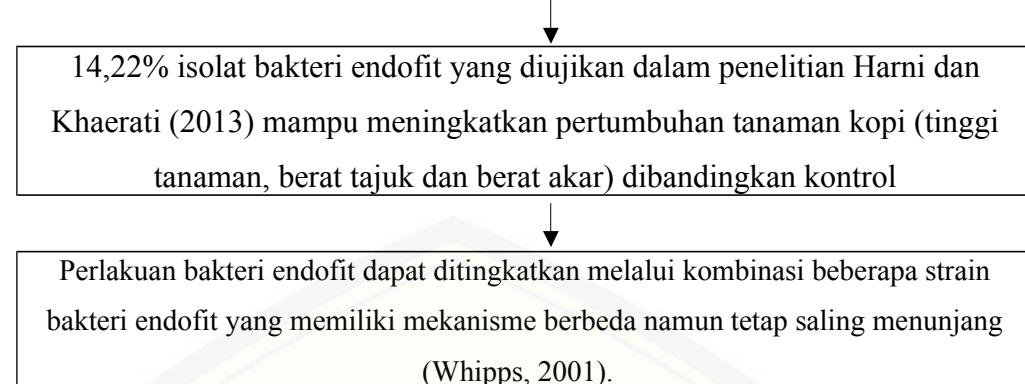
Poster memiliki pengertian gambar pada selembar kertas berukuran besar yang digantung atau ditempel di dinding maupun permukaan lain. Poster menurut Kusrianto (2006:338) merupakan alat untuk mengiklankan sesuatu, sebagai alat propaganda, protes, suatu kegiatan pendidikan, acara entertainment, even-even tertentu, serta maksud-maksud lain untuk menyampaikan berbagai pesan. Adapula poster ilmiah yang merupakan jenis poster yang sering digunakan di kalangan akademisi untuk mempromosikan kegiatan ilmiah yang hendak dilakukan. Pembuatan poster perlu dilakukan apabila seseorang atau kelompok hendak melakukan suatu riset dengan isi poster biasanya meliputi rencana kegiatan maupun hasil penjelasan tentang riset yang telah dilakukan (Adikusuma, 2012: 2).

Poster ilmiah yang baik memiliki ciri-ciri diantaranya informasi yang terdapat didalamnya disampaikan secara tepat (tidak bertele-tele) dan paling substantial sesuai dengan tema yang dipilih. Dameria (2005) mengemukakan bahwa poster yang baik mampu mempengaruhi opini atau pandangan orang yang melihat serta mampu menarik perhatian khalayak. Desain poster dalam proses pembuatannya perlu memperhatikan pilihan warna dan huruf yang tepat sehingga mampu membuat orang nyaman untuk melihat karena poster yang baik bukanlah poster yang memiliki banyak pilihan warna dan huruf melainkan cukup menarik untuk dilihat dan padat informasi (Masry, 2010: 19).

2.5 Kerangka Berfikir

Nematoda *P. coffeae* menyerang akar tanaman kopi dan menyebabkan terjadinya luka akar (root lesion) sehingga pengangkutan hara tanaman terganggu (Harni, 2013).

↓
Isolat tunggal bakteri asal kebun kopi Kalibendo mampu menekan penetrasi nematoda *P. coffeae* dalam bibit kopi *C. arabica* dengan persentasi sebesar 49,41% hingga 93,97% (Tim Penelitian Asyiah, 2015)



2.6 Hipotesis

- a. Kombinasi antara isolat bakteri isolat bakteri endofit *Micrococcus luteus* (KB^1_1), *Micrococcus* sp. (KB^4_1) dan *Bacillus* sp. (KB^6_3) asal kebun kopi Kalibendo dapat menekan jumlah populasi nematoda *P. coffeae* dalam bibit tanaman kopi *C. arabica* L.
- b. Kombinasi antara isolat bakteri endofit *Micrococcus luteus* (KB^1_1), *Micrococcus* sp. (KB^4_1) dan *Bacillus* sp. (KB^6_3) asal kebun kopi Kalibendo dapat meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi *C. arabica* L. (tinggi tanaman, jumlah daun, berat basah tajuk, berat basah akar, berat kering akar serta skor kerusakan akar).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dan eksperimental lapang. Jenis penelitian eksperimental laboratoris pada penelitian ini terletak pada tahapan persiapan isolat bakteri, sedangkan eksperimental lapang terletak pada tahapan aplikasi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Tahapan persiapan isolat bakteri, perhitungan CFU's dan uji sinergis bakteri dilakukan di Laboatorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Jember, sedangkan tahapan aplikasi uji pengaruh isolat bakteri endofit terhadap tanaman kopi arabika dilakukan di rumah kaca, di Perumahan Tidar, Sumbersari, Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada April 2016 – Mei 2017.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat tunggal bakteri endofit dan kombinasi berbagai isolat bakteri endofit tersebut. Isolat bakteri tersebut berasal dari akar tanaman kopi asal kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah populasi *P. coffeae* dan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.).

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel kontrol dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Bibit tanaman kopi jenis Arabika (*C.arabica*L.) usia 3 bulan dari kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur.
- b. Nematoda *P. coffeae* dari berbagai fase pertumbuhan sebanyak 50 ekor pada tiap bibit tanaman *C.arabica*L.
- c. Tempat dan cara pemeliharaan: bibit kopi berusia 3 bulan ditanam di rumah kaca Tidar, Jember, dalam pot yang berisikan tanah steril, pasir steril dan pupuk dengan perbandingan 1:1:1 dan ditumbuhkan dalam media pot. Selang seminggu berikutnya, isolat bakteri endofit

diaplikasikan pada bibit kopi. Minggu berikutnya, aplikasi nematoda *P. coffeae* dilakukan.

- d. Lama perlakuan: lama masa penelitian adalah 4 bulan.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan antara lain adalah autoklaf, mikroskop, cawan petri, centrifuse, *laminar air flow*, ose, tabung reaksi, gelas ukur, kompor listrik, L *glass*, kaca benda dan kaca penutup, pipet tetes, bunsen, mikropipet, alat bercocok tanam, gunting, kertas HVS, kamera, penggaris, oven, timbangan analitik, blender, *beaker glass*, timba, kain perca, saringan tepung, saringan 325 mesh, wadah plastik, kantong plastik, selang plastik berdiameter ±3mm, gelas plastik, *shaker*, *counting disk*, *hand counter*, dan stopwatch.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Tryptic Soy Agar (TSA), media Tryptic Soy Broth (TSB), media Natrium Agar (NA), alkohol 70%, air destilasi, kaolin, larutan gula BJ=1.18, isolat bakteri endofit hasil isolasi akar tanaman kopi arabika yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya, nematoda *P. coffeae* dan biji tanaman kopi arabika asal Kebun Kopi Kalibendo.

3.5 Penentuan Populasi dan Sampel

3.5.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh lahan kopi arabika (*C. arabica* L.) kawasan kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur.

3.5.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah akar sehat tanaman kopi arabika (*C. arabica* L.) berusia 3 bulan yang telah diberi nematoda *P. coffeae* dan isolat bakteri endofit yang telah diisolasi dari akar tanaman kopi arabika (*C. arabica* L.) asal kebun Kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur.

3.6 Definisi Operasional

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

- a. Kombinasi isolat bakteri endofit ialah kombinasi dari isolat-isolat bakteri endofit KB¹, KB⁶₃ dan KB⁴₁ (dari tanaman kopi asal kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur) yang telah dilakukan uji sinergis.
- b. Populasi nematoda *P. coffeae* adalah jumlah nematoda yang dihitung secara manual melalui pengamatan menggunakan mikroskop pada seluruh sampel akar kopi dan tanah yang digunakan saat penelitian.

- c. Parameter pertumbuhan bibit tanaman kopi yang diukur adalah tinggi tanaman, jumlah daun, berat basah dan berat kering tajuk, berat basah akar dan berat kering akar, skor kerusakan tajuk dan skor kerusakan akar.

3.7 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan total perlakuan sebanyak 9 perlakuan. Setiap perlakuan terdapat 4 pengulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 sub ulangan, sehingga total tanaman untuk setiap perlakuan adalah 12 tanaman. Total keseluruhan tanaman uji yang digunakan adalah sebanyak $(12 \times 9) = 108$ tanaman uji. Desain rancangan acak lengkap terlampir pada Lampiran 1. Adapun rancangan penelitiannya adalah sebagai berikut:

- 1) Perlakuan 1: Bakteri KB¹₁ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 2) Perlakuan 2: Bakteri KB⁴₁ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 3) Perlakuan 3: Bakteri KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 4) Perlakuan 4: Bakteri KB¹₁ + KB⁴₁ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 5) Perlakuan 5: Bakteri KB¹₁ + KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 6) Perlakuan 6: Bakteri KB⁴₁ + KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 7) Perlakuan 7: Bakteri KB¹₁ + KB⁴₁ + KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 8) Perlakuan 8: Tanpa bakteri + 50 ekor nematoda *P. coffeae*.

- 9) Perlakuan 9: Tanpa bakteri dan nematoda *P. coffeae*.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Persiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang dibutuhkan dalam penelitian terlebih dahulu dipersiapkan. Persiapan yang dilakukan meliputi persiapan alat dan bahan yang diperlukan untuk tahap persiapan isolat bakteri yang meliputi tahapan pengenceran dan perhitungan CFU untuk mendapatkan isolat bakteri kerapatan 10^7 dan 10^9 serta tahapan uji sinergisme antar isolat bakteri. Tahapan persiapan tersebut dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Jember.

3.8.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan medium yang akan digunakan disterilkan dengan autoklave pada temperatur 121°C pada tekanan uap 15 lb/in selama 15 menit (Marlina, 2008).

3.8.3 Persiapan Biji Kopi

Biji kopi Arabika diperoleh dari kebun kopi Kalibendo di Banyuwangi, Jawa Timur. Biji kopi dikupas bagian kulit yang keras dan direndam dalam air selama 24 jam. Persiapan biji kopi ini dilakukan di rumah kaca Perumahan Tidar, Jember, Jawa Timur.

3.8.4 Persiapan Media Tanam dan Pembibitan Biji Kopi

Biji kopi yang akan digunakan dalam penelitian dibibitkan terlebih dahulu pada media tanam dengan komposisi tanah atasan,pasir dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1. Media pembibitan terlebih dahulu diayak disterilkan pada suhu 121 °C dengan tekanan >2,0 kg/cm² selama minimal 2 jam. Benih kopi yang digunakan disemaikan pada media pasir steril hingga mencapai stadium kepelan (berdaun sepasang) dipindah ke media pembibitan. Media pembibitan diletakkan dalam ember plastik volume 1.250 mL yang diisi media steril sebanyak 1.000 mL (Asyiah *et al.*, 2015).

3.8.5 Peremajaan dan Penyimpanan Isolat Bakteri

Isolat bakteri KB¹, KB¹₄ dan KB⁶₃ ditumbuhkan dan diremajakan pada media nutrien agar (NA) dan diinkubasi pada suhu ruang (29-31°C) selama 2 hari. Sedangkan bakteri uji ditumbuhkan pada media TSA atau TSB lalu diinkubasi pada suhu ruang (29-31°C) selama 2 hari. Stok kultur isolat bakteri disimpan dalam lemari dingin pada suhu (6-8 °C) pada media yang sama (Asyiah *et al.*, 2015).

3.8.6 Uji Kerapatan Bakteri

Uji kerapatan merupakan tahapan perhitungan bakteri untuk memperoleh isolat bakteri berkerapatan 10⁷ yang akan digunakan untuk uji sinergis dan isolat bakteri berkerapatan 10⁹yang akan digunakan untuk aplikasi lapang. Uji kerapatan bakteri ini menggunakan satuan CFU/ml (CFU = *Colony Forming Unit*), yang menyatakan jumlah koloni bakteri persatuan ml.

Tahapan uji kerapatan bakteri dilakukan melalui beberapa langkah berikut:

- 1) Isolat bakteri KB^1_1 , KB^1_4 dan KB^6_3 diremajakan dalam media TSA miring pada tabung reaksi selama 48 jam pada suhu 37°C .
- 2) Isolat bakteri yang telah diremajakan dilakukan tahap pengenceran dengan langkah sebagai berikut:
 - a) Isolat bakteri usia 48 jam diinokulasikan ke dalam 100 ml medium TSB pada erlenmeyer menggunakan kawat ose steril.
 - b) Isolat bakteri yang telah diinokulasikan dalam media TSB dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* selama 48 jam dengan kecepatan 100 rpm.
 - c) Isolat bakteri usia 48 jam tersebut diambil sebanyak 1 ml lalu dituang ke dalam 9 ml aquades steril dan dikocok menggunakan *vortex* (pengenceran pertama atau pengenceran 10^{-1}).
 - d) Hasil pengenceran pertama diambil sebanyak 1 ml lalu dituang ke dalam aquades steril 9 ml lalu dikocok menggunakan *vortex* (pengenceran kedua atau pengenceran 10^{-2}). Begitu seterusnya hingga pengeceran 10^{-8} .
 - e) Hasil pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-8} diambil sebanyak 50 μml menggunakan mikropipet lalu diinokulasikan ke dalam medium TSA 10 ml yang telah memadat di dalam cawan petri menggunakan teknik *spread plate* dan diratakan dengan menggunakan *L glass* steril.

- f) Isolat pada cawan tersebut diinkubasi selama 24 jam dan dilakukan perhitungan kerapatan setelahnya.
- g) Perhitungan kerapatan bakteri dilakukan dengan mengalikan jumlah koloni bakteri yang terhitung dengan faktor pengenceran.
- h) Jumlah pengenceran yang menghasilkan kerapatan 10^7 digunakan saat uji sinergis dan jumlah pengenceran yang menghasilkan kerapatan 10^9 digunakan saat aplikasi bakteri (aplikasi lapang).

3.8.7 Uji Sinergi Isolat Bakteri

Uji sinergi dilakukan guna menguji sifat antagonis dari ketiga isolat bakteri endofit yang akan diujikan pada penelitian ini. Uji sinergis ini merupakan persiapan yang perlu dilakukan sebelum membuat kombinasi isolat bakteri endofit agar isolat bakteri yang dikombinasikan mampu bekerja sama secara sinergis dalam menekan populasi nematoda *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi.

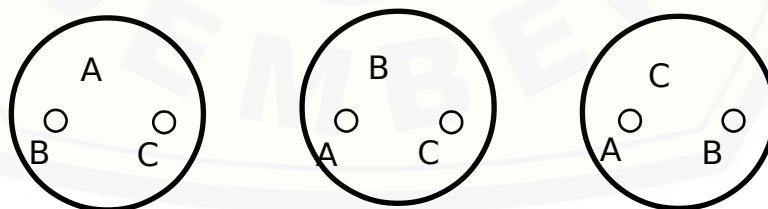
Uji sinergis antar ketiga isolat bakteri tersebut dilakukan dengan desain uji sebagai berikut (gambar 3.1):

- 1) Isolat KB¹₁ dilakukan uji antagonis terhadap isolat KB¹₄ dan isolat KB⁶₃
- 2) Isolat KB¹₄ dilakukan uji antagonis terhadap isolat KB¹₁ dan isolat KB⁶₃
- 3) Isolat KB⁶₃ dilakukan uji antagonis terhadap KB¹₁ dan isolat KB¹₄.

Uji sinergis dilakukan dengan menggunakan metode *double layer*. Metode ini memungkinkan senyawa antimikroba yang dihasilkan dapat berfusi dengan baik pada media semipadat sehingga didapat zona bening yang terlihat jelas. Zona bening tersebut merupakan bagian media yang tidak dapat ditumbuhinya oleh bakteri uji karena adanya difusi senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri penguji (Lisboa *et al.*, 2006).

Uji sinergis pada penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan berikut:

- 1) Menuang medium TSA ke dalam tiga cawan petri dengan masing-masing volume TSA sebanyak 10 ml tiap cawan.
- 2) Meninginokulasikan kultur cair ketiga bakteri ke dalam 50 ml TSA semipadat dengan masing-masing kultur cair sebanyak 500 μ l (kerapatan 10^7 cfu/ml).
- 3) Menuang TSA semipadat yang telah diinokulasikan kultur cair bakteri tersebut pada permukaan cawan TSA padat masing-masing sebanyak 10 ml.
- 4) Setelah permukaan media TSA *double layer* memadat, isolat bakteri penguji berumur dua hari diinokulasikan pada *ldoubel layer* dengan cara menotolkan isolat bakteri penguji tersebut menggunakan tusuk gigi steril lalu diinkubasi pada suhu 30 °C.
- 5) Melakukan pengamatan dan pengukuran zona bening (apabila terbentuk) setelah 48 jam inkubasi.
- 6) Cawan yang terbentuk zona bening menandakan uji sinergis negatif atau tidak dapat digunakan dalam kombinasi isolat bakteri.



A menunjukkan isolat bakteri KB¹₁, B menunjukkan isolat bakteri KB¹₄, dan C menunjukkan isolat bakteri KB⁶₃

Gambar 3.1 Gambar desain uji sinergis antar isolat bakteri

3.8.8 Penanaman Bibit Tanaman Kopi

Penanaman bibit kopi dilakukan dengan cara memindahkan bibit tanaman kopi Arabika berusia 3 bulan ke dalam pot plastik berdiameter ±15 cm yang telah berisi media tanam steril. Penanaman bibit tanaman kopi dimulai dengan memotong akar bibit tanaman hingga panjang akar ±2.5 cm diukur dari pangkal akar. Selanjutnya, bibit tanaman kopi ditanam dengan posisi akar berjarak ±1/3 bagian diukur dari dasar pot.

3.8.9 Pembuatan Suspensi Isolat Bakteri dan Aplikasi

Suspensi bakteri dibuat berdasarkan hasil perhitungan koloni bakteri kerapatan 10⁹. Isolat bakteri endofit diremajakan dalam media TSA hingga 48 jam pada suhu 24°C. Isolat tersebut kemudian dipindah ke media TSB 100 ml menggunakan kawat loop dan diinkubasi dalam shaker 100 rpm pada suhu 22-24°C selama 48 jam (Munif *et al.*, 2013). Selanjutnya masing-masing isolat bakteri endofit dipindahkan dalam media aquadest dengan masing-masing kerapatan bakteri adalah 10⁹. Akar kopi yang telah membentuk sepasang daun disiram isolat bakteri endofit dengan volume total isolat bakteri masing-masing akar bibit kopi adalah sebanyak 10 ml. Aplikasi bakteri endofit ini dilakukan satu minggu setelah penanaman bibit kopi(Harni dan Khaerati, 2013).

3.8.10 Persiapan Nematoda *Pratylenchus coffeae*

Pada penelitian ini nematoda yang akan diujikan ke tanaman bibit kopi Arabika merupakan hasil ekstraksi dari hasil *rearing* nematoda *P. coffeae* pada akar tanaman kopi. Nematoda *P. coffeae* yang dilakukan *rearing* berasal dari sampel akar tanaman kopi Arabika asal kebun kopi Kalibendo yang diduga terserang nematoda *P. coffeae*. Ekstraksinematoda dilakukan di Laboratorium Nematologi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Metode ekstraksi nematoda yang digunakan adalah metode Baermann yang telah dimodifikasi.

Ekstraksi nematoda *P. coffeae* dilakukan melalui tahapan berikut:

- 1) Mencuci akar tanaman kopi yang terserang nematoda *P. coffeae* dengan air mengalir kemudian ditiriskan diatas kertas tisu.
- 2) Memotong-motong akar sepanjang \pm 0.5 cm dengan menggunakan gunting lalu ditimbang seberat 10 gram.
- 3) Potongan akar yang telah ditimbang selanjutnya diletakkan ke dalam wadah yang telah dilandas dengan saringan kemudian ditambah dengan 100 ml air.
- 4) Menghaluskan campuran akar dan air pada tahapan no. 3 menggunakan blender selama 15 detik dan dilakukan sebanyak 2 kali.
- 5) Hasil penghalusan pada tahapan no. 4 dituang pada wadah piringan plastik dengan saringan berukuran 40 mesh (0.358 mm) diatasnya yang telah dipasang kain tipis.

- 6) Menuangkan 100 ml air diatas kain tipis tersebut dan mengendapkannya selama 24 jam agar nematoda yang ada di dalam potongan akar keluar.
- 7) Setelah 24 jam, air dalam wadah disaring menggunakan saringan khusus berukuran 325 mesh (0.045 mm) untuk menyaring nematoda lalu air saringan ditampung dalam beaker glass dan diendapkan selama 1 jam.
- 8) Mengurangi hasil saringan (*tap*) hingga tersisa 100 ml dengan menggunakan selang berdiameter 0.5 cm.
- 9) Melakukan perhitungan nematoda pada air hasil ekstraksi tersebut menggunakan mikroskop, *counting disk* dan *hand counter* hingga diperoleh 50 ekor nematoda untuk setiap tanaman uji.



Gambar A. Cawan penghitung nematoda (*counting disk*); Gambar B. Alat bantu pencatat hitungan nematoda (*hand counter*)

Gambar 3.2 Alat bantu penghitung nematoda (Sumber: Koleksi pribadi)

3.8.11 Aplikasi Nematoda pada Bibit Kopi Arabika

Aplikasi nematoda pada bibit kopi dilakukan 1 minggu setelah aplikasi isolat bakteri pada bibit kopi (Harni dan Khaerati, 2013). Aplikasi dilakukan dengan cara menyiramkan larutan berisikan nematoda *P. coffeae* di sekeliling tanaman dan tidak boleh sampai mengenai tanaman secara langsung. Aplikasi dilakukan sebanyak 9 perlakuan dan masing-masing perlakuan dilakukan empat kali pengulangan dan 3 kali sub ulangan.

Macam perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

- 1) Perlakuan 1: Bakteri KB¹₁ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 2) Perlakuan 2: Bakteri KB⁴₁ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 3) Perlakuan 3: Bakteri KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 4) Perlakuan 4: Bakteri KB¹₁ + KB⁴₁ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 5) Perlakuan 5: Bakteri KB¹₁ + KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 6) Perlakuan 6: Bakteri KB⁴₁ + KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*
- 7) Perlakuan 7: Bakteri KB¹₁ + KB⁴₁ + KB⁶₃ + 50 ekor nematoda *P. coffeae*

8) Perlakuan 8: Tanpa bakteri + 50 ekor nematoda *P. coffeae* (kontrol +).

9) Perlakuan 9: Tanpa bakteri + tanpa nematoda (kontrol -).

Di akhir aplikasi, dilakukan pengacakan letak pot sebagai Rangkaian Acak Lengkap (RAL). Desain RAL dapat dilihat pada Lampiran A.

3.8.12 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan bibit tanaman kopi pada penelitian ini dilakukan dengan cara menyiram bibit dengan air dua hari sekali. Selain itu, tanaman juga diberi antijamur dan pupuk urea. Pemberian anti jamur dilakukan satu bulan setelah penanaman bibit kopi dengan cara mengaplikasikan antijamur pada batang bibit tanaan kopi (tanpa menyentuh daun) menggunakan kuas. Pemberian pupuk dilakukan satu bulan sekali dengan takaran 1 g pupuk urea per pot.

3.8.13 Pengamatan Hasil Aplikasi dan Analisis

Pengamatan hasil aplikasi pada pengamatan ini dilakukan terhadap populasi nematoda dan parameter pertumbuhan bibit tanaman kopi. Pengamatan tersebut meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, berat basah dan berat kering akar, berat basah tajuk, skor kerusakan akar serta jumlah populasi nematoda pada akar dan tanah tanaman kopi uji. Pengamatan terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun dilakukan setiap dua minggu sekali sejak penanaman bibit tanaman kopi, sedangkan parameter lainnya diamati pada akhir penelitian. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan uji Anova bertaraf signifikansi 95% dan dilanjutkan dengan uji Duncan(Asyiah *et al.*, 2015).

3.9 Parameter Penelitian

Parameter penelitian pada penelitian ini meliputi:

3.9.1 Tinggi Tanaman

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan setiap dua minggu setelah penanaman bibit kopi hingga akhir penelitian (4 bulan). Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dengan cara mengukur tinggi bibit dari pangkal batang (diatas permukaan tanah) hingga ujung tanaman tertinggi. Pengukuran tinggi tanaman ini dilakukan dengan alat bantuan berupa penggaris.

3.9.2 Jumlah Daun

Pengamatan terhadap jumlah daun ini dilakukan setiap dua minggu sekali sejak penanaman bibit kopi hingga akhir penelitian (4 bulan). Pengamatan terhadap jumlah daun dilakukan dengan menghitung seluruh jumlah daun yang tumbuh, kecuali daun kotiledon.

3.9.3 Berat Basah Akar dan Tajuk

Pengamatan terhadap berat basah akar dan tajuk dilakukan di akhir penelitian setelah tanaman dibongkar. Pengukuran berat akar dan tajuk dilakukan dengan cara memotong bibit tanaman kopi menjadi dua bagian pada pangkal batang. Bagian di bawah pangkal batang merupakan bagian akar sedangkan

bagian sisanya merupakan bagian tajuk. Pengukuran parameter ini dilakukan dengan menggunakan alat bantu berupa timbangan analitik.

3.9.4 Berat Kering Akar

Pengamatan berat kering akar dilakukan dengan cara mengeringkan akar dalam oven pada temperatur 60°C. Selanjutnya, akar dan tajuk tersebut ditimbang menggunakan timbangan analitik. Pengukuran dilakukan hingga diperoleh berat konstan.

3.9.5 Skor Kerusakan Akar

Skor kerusakan akar dilakukan di akhir penelitian setelah bibit tanaman kopi dibongkar dengan asumsi akar yang rusak berwarna coklat kehitaman dan umumnya akar lateralnya habis. Pengamatan dilakukan menggunakan metode dengan nilai 0 menunjukkan akar bibit sehat dan nilai 4 menunjukkan akar bibit mati. Pengukuran skor kerusakan tajuk dapat dilakukan dengan penyekoran sebagai berikut:

1-25 = Akar sakit dengan luka nekrosis 1-25%

26-50 = Akar sakit dengan luka nekrosis 26-50%

51-75 = Akar sakit dengan luka nekrosis 51-75%

76-100 = Akar sakit dengan luka nekrosis 76-100%

3.9.6 Populasi Nematoda dalam Akar dan Tanah

Populasi nematoda dihitung pada saat akhir penelitian setelah tanaman dibongkar. Perhitungan populasi nematoda dilakukan dengan menggunakan metode sentrifuse. Cara ekstraksi nematoda pada akar adalah sebagai berikut:

- a. Akar dibersihkan dari sisa-sisa tanah dan kotoran lain yang melekat menggunakan air hingga bersih.
- b. Akar yang telah dibersihkan dikering-anginkan.
- c. Akar dipotong-potong $\pm 0,5$ cm menggunakan gunting.
- d. Potongan akar dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan air sebanyak ± 100 ml.
- e. Memasukkan campuran pada tahapan no. d ke dalam blender dan dihaluskan sebanyak 2 kali, dengan masing-masing durasi penghalusan 15 detik.
- f. Hasil penghalusan disaring dengan menggunakan saringan 40 mesh (0.358 mm) yang diletakkan diatas piringan plastik.
- g. Hasil saringan dituangkan ke dalam beaker glass dan diendapkan selama 1 jam.
- h. Hasil endapan dilakukan pengurangan volume (*tap*) menggunakan selang plastik hingga tersisa ± 100 ml.

- i. Hasil *tap* dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse berisi bubuk kaolin sebanyak 1 sendok teh (± 10 g) dan diaduk sampai merata. Ketinggian permukaan larutan dalam tabung sentrifuse harus sama sebelum dimasukkan ke dalam alat sentrifuse.
- j. Alat sentrifuse dioperasikan dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit.
- k. Hasil sentrifuse akan menghasilkan 2 lapisan, yaitu air pada lapisan atas (dibuang) lapisan endapan kaolin pada lapisan bawahnya (diproses lebih lanjut).
- l. Menuangkan larutan gula dengan berat jenis $1,18 \text{ g/cm}^3$ kedalam tabung sentrifuse setinggi endapan kaolin yang terbentuk, kemudian diaduh hingga merata. Ketinggian larutan harus sama sebelum dimasukkan ke dalam alat sentrifuse.
- m. Mengoperasikan alat sentrifuse selama 3 menit dengan kecepatan 4000 rpm.
- n. Hasil sentrifuse tahapan no. m menghasilkan 2 lapisan, yaitu lapisan gula dan lapisan kaolin. Lapisan gula diproses lebih lanjut dengan dituangkan ke dalam beaker glass yang berisi ± 500 ml air kemudian disaring dengan menggunakan saringan 325 mesh (0,045 mm). Hasil saringan diendapkan selama 1 jam.
- o. Hasil pengendapan dilakukan *tap* hingga tersisa ± 100 ml.
- p. Hasil *tap* diamati di bawah mikroskop dengan *counting disk* dan *hand counter* untuk pengamatan jumlah nematoda dalam akar.

Tidak jauh berbeda dengan cara ekstraksi akar, cara ekstraksi tanah meliputi tahapan sebagai berikut:

- a. Tanah hasil panen diambil sebanyak 100 g per pot.
- b. Tanah dituangkan ke dalam saringan 1 mm yang sudah diletakkan di atas piring plastik, kemudian ditambah air sebanyak 100 ml dan dihancurkan dengan bantuan jari tangan.
- c. Saringan diangkat, kotoran yang melekat disemprot dengan air menggunakan botol semprot.
- d. Hasil penyaringan dituangkan ke dalam *beaker glass* kemudian ditambahkan air sampai volume ±500 ml.
- e. Larutan larutan tanah di dalam beaker diaduk dan diendapkan selama 30 detik, hasilnya dituangkan ke dalam beaker glass lain. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali.
- f. Larutan tanah pada proses no. e disaring dengan saringan 325 mesh (0,045 mm) dan hasilnya dituangkan ke dalam *beaker glass* kemudian diendapkan selama 1 jam.
- g. Hasil pengendapan dilakukan *taphingga* tersisa 100 ml.
- h. Hasil *tap* dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse dengan ketinggian permukaan larutan dalam tabung sentrifuse harus sama.

- i. Mengoperasikan alat sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit.
- j. Hasil sentrifuse di bagian atas (berupa air) dibuang, sedangkan endapan tanah pada lapisan bawahnya di proses lanjut.
- k. Menambahkan larutan gula dengan berat jenis $1,18 \text{ g/cm}^3$ kedalam tabung sentrifuse setinggi endapan tanah yang terbentuk, kemudian diaduh hingga merata. Ketinggian larutan harus sama sebelum dimasukkan ke dalam alat sentrifuse.
- l. Mengoperasikan alat sentrifuse selama 3 menit dengan kecepatan 4000 rpm.
- m. Hasil sentrifuse pada bagian atas (larutan gula) diproses lebih lanjut sedang endapan tanah pada lapisan bawah dibuang.
- n. Menuangkan lapisan gula tersebut kedalam *beaker glass* berisi $\pm 500 \text{ ml}$ air kemudian disaring dengan menggunakan 2 saringan berukuran 325 mesh (0,045 mm).
- o. Hasil saringan diendapkan selama 1 jam.
- p. Hasil endapan dilakukan *tap* hingga tersisa $\pm 100 \text{ ml}$.
- q. Hasil *tap* diamati di bawah mikroskop untuk menentukan jumlah populasi nematoda pada tanah.

Hasil ekstraksi nematoda baik pada akar maupun tanah dilakukan perhitungan di bawah mikroskop dengan langkah sebagai berikut:

- a. Hasil ekstraksi diaduk sampai merata menggunakan pipet dengan cara dihisap dengan kemudian disemprotkan kembali sebanyak 3 kali pengulangan.
- b. Menuangkan hasil ekstraksi nematoda kedalam cawan penghitung (*counting disk*) menggunakan pipet tetes sebanyak 10 ml.
- c. Melakukan perhitungan populasi nematoda di bawah mikroskop binokuler. Suspensi nematoda yang telah selesai dihitung dituang kembali kedalam beaker gelas.
- d. Perhitungan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

Populasi nematoda hasil perhitungan dapat diketahui melalui rumus berikut:

$$P = \frac{(p_1 + p_2 + p_3) \times 10}{3}$$

Keterangan:

P = Populasi nematoda setiap satuan contoh yang diambil

p₁, p₂ dan p₃ = Perhitungan setiap 10 ml suspensi nematoda dengan tiga ulangan

10 = 100 ml hasil ekstraksi per 10 ml tiap pengambilan.

3.10 Analisis Data

3.10.1 Analisis Data Penilitian

Data yang hasil penelitian akan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS. Analisis yang digunakan untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu uji Anova. Hal ini dikarenakan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi isolat bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo terhadap jumlah populasi nematoda *Pratylenchus coffeae* dan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.). Perbandingan hasil perlakuan kontrol dengan perlakuan dengan isolat bakteri endofit dianalisis menggunakan uji Anova dengan signifikansi 95% ($p<5\%$). Jika terdapat beda yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan signifikansi 95% untuk mengetahui manakah perlakuan yang paling berpengaruh nyata.

3.10.2 Analisi Uji Validasi Serial Poster

Serial poster yang telah dibuat berdasarkan hasil penelitian diuji kelayakannya oleh dua validator pada lembar validasi berdasarkan instrumen penilaian. Hasil penilaian tersebut kemudian dianalisis dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase Skor} (\%) = \frac{\text{Skor yang diperoleh}}{\text{Skor maksimal}} \times 100$$

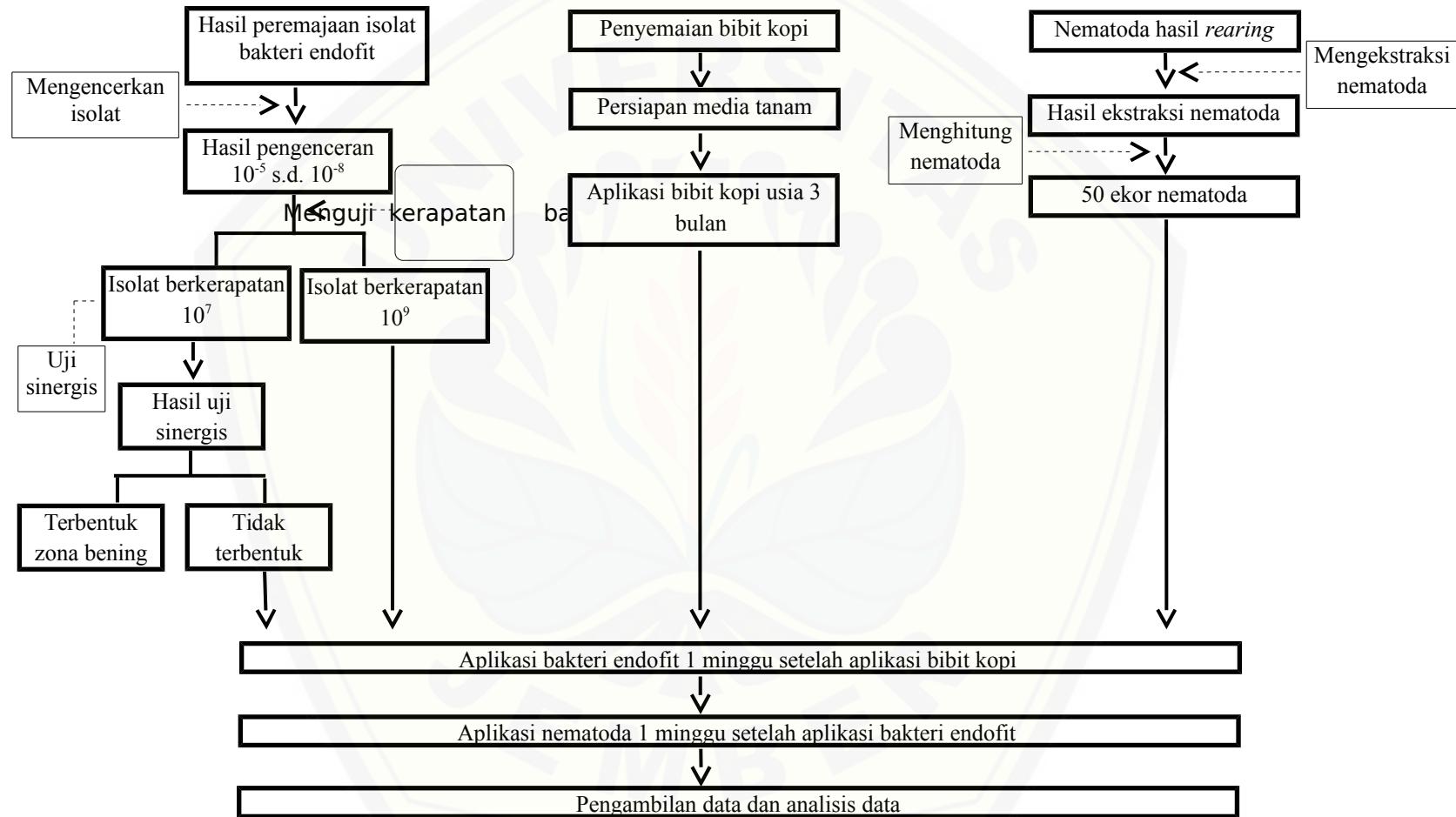


Tabel 3.1 Kualifikasi kelayakan serial poster

Persentase Skor (%)	Interpretasi	Makna
76 – 100%	Layak	Sangat valid, produk layak digunakan dan tidak perlu perbaikan
56 – 75%	Cukup layak	Cukup valid, produk layak digunakan tetapi perlu sedikit perbaikan
40 – 55%	Kurang layak	Kurang valid, produk belum layak digunakan dan perlu perbaikan
0 – 39%	Tidak layak	Tidak valid, produk tidak layak digunakan dan perlu kajian ulang



3.11 Diagram Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kombinasi isolat bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo mampu menurunkan jumlah populasi nematoda *Pratylenchus coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)
2. Isolat bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo yang terbaik dalam penurunan jumlah populasi nematoda *P. coffeae* adalah kombinasi antara isolat *Micrococcus luteus*, *Micrococcus* sp. dan *Bacillus* sp. Sedangkan isolat bakteri endofit yang terbaik dalam peningkatan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (*C. arabica* L.) adalah isolat tunggal *Bacillus* sp. dan kombinasi antara isolat *Micrococcus* sp. dan *Bacillus* sp..
3. Poster serial yang berjudul “Kombinasi Bakteri Endofit Pengendali Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Pemicu Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika” dinyatakan layak digunakan sebagai media informasi bagi masyarakat umum berdasarkan hasil penilaian dua orang validator.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit sehingga mampu mengendalikan jumlah nematoda dan meningkatkan pertumbuhan bibit kopi Arabika.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tingkat molekuler yaitu pada DNA bakteri endofit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aak. 2008. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta: Kanisius
- Agarwal, S. dan S. T. Shende. 1987. Tetrazolium reducing microorganisms inside the root of Brassica species. *Current Science*. 56:187-188. Dalam Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. Vol. 11 No. 2
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Anita, B., G. Rajendran dan R. Samiyapan. 2004. Induction of Systemic in Tomato Against Root-Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* by *Pseudomonas fluorescens*. *Nematologica Mediterranea*, 32:47-51
- Asyiah, I. N., S. Wiryadiputra, I. Fauzi, dan R. Harni. 2015. Populasi *Pratylenchus coffeae* (Z.) dan Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika Akibat Inokulasi *Pseudomonas diminuta* (L.) dan *Bacillus subtilis* (C.). *Pelita Perkebunan*, 31(1) 30-40
- Bacon, C. W. Hinton, S. S. 2007. *Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility*. Dalam Harni, R. 2013. Potensi Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda Parasit pada Tanaman Kopi. *Sirinov*, Vol 1 No. 3
- Campos, V.P., P. Sivapalan dan N.C. Gnanapragasam. 1990. Nematodes Parasites of Coffee, Cocoa and Tea. p. 387—460. Dalam Hulupi, R. 2008. Pemuliaan Tanaman Kopi terhadap Nematoda Parasit. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*, 24(1), 16-34
- Castillo, P. dan N. Vovlas. 2007. *Pratylenchus (Nemtoda:Pratylenchidae): Diagnosis Biology, Pathogenecity and Management*. Leiden: Kominklijke Brill NV
- Compan, S., B. Reiter, J. Nowak dan E. A. Barka. 2005. Endophytic Colonization of *Vitis vinifera*. *Applied Environmental Microbiology*, 71:1685-1693
- Dropkin, V. H. 1992. *Pengantar Nematologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada

- Felde, A. Z., L. E. Pocasangre, CAC. Monteros, R. A. Sikora, F. E. Rosales dan A. S. Riveros. 2006. Effect of Combined Inoculations of Endophytic Fungi on Biocontrol of *Radhopholus similis*. *Info Musa*. 15(1-2): 12-18.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. Elad dan A. Dinoor. 2001. Combining Biocontrol Agents to reduce the variability of biological control. *Phytopathol*, 91: 6 21-627
- Grundler, F. M. W. dan A. Bockenhoff. 1997. Physiology of Nematode Feeding and Feeding Sites. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Hallmann, J. A., A. Quadt-Hallmann, W.F. Mahaffee, dan J.W. Kloepfer. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43:895-914
- Hallmann, J. 2001. *Plant interaction with endophytic bacteria*. Germany: Institut for Plant Diseases, University of Bonn. Dalam Harni, R., A. Munif, Supramana dan I. Mustika. 2007. Potensi Bakteri Endofit Pengendali Nematoda Peluka Akar (*Pratylenchus coffeae*) pada Nilam. *Hayati Jurnal Biosciences*, p 7-12 Vol 14, No. 1 ISSN: 1978-3019
- Hallmann, J. dan G. Berg. 2006. Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. *Soil Biology Microbial Root Endophytes*, 9, 15-31
- Harni, R. 2010. Bakteri Endofit untuk Mengendalikan nematoda Peluka Akar (*Pratylenchus coffeae*) pada Tanaman Nilam. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Harni, R., Supramana, S. M. Sinaga, Giyanto dan Supriadi. 2011. Keefektifan Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17(1):6-10. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Harni, R. 2012. Peranan Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan *Radopholus similis* pada Tanaman Kopi. *Laporan Tahunan Balitri*. Dalam Harni, R. 2013. Potensi Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda Parasit pada Tanaman Kopi. *Sirinov*, Vol 1 No. 3
- Harni, R., Supramana., M. S. Sinaga, Giyanto, dan Supriadi. 2012. Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Bul. Littro*, Vol. 23 No. 1 102-114

- Harni, R. 2013. Potensi Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda Parasit pada Tanaman Kopi. *Sirinov, Vol 1 No. 3*
- Harni, R. dan Khaerati. 2013. Evaluasi Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi. *Buletin Ristri, 4(2) 109-116*
- Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif, 13(1)*
- Hulupi, R. 2008. Pemuliaan Ketahanan Tanaman Kopi terhadap Nematoda Parasit. *Review Penelitian Kopi dan Kakao, 24(1);16-34*
- Holt, et al. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition.* USA: Williams and Wilkins Baltimore
- Indarti, S. 2008. Biopeptisida Berbahan Aktif Mikroba Kitinolitik untuk Pengendalian Nematoda Parasit (*Pratylenchus coffeae*) pada Tanaman Kopi. <http://lib.ugm.ac.id>. Diakses pada 15 Februari 2017
- Itis.gov. 2016. <https://www.itis.gov/> Diakses pada 2 November 2016
- Janousek, CN, J. D. Lorber dan W. D. Gubler. 2009. Combination and Rotation of Bacterial Antagonists to Control Powdery Mildew on Pumpkin. Journal of Plant Diseases and Protection. Dalam Wardani, F. F. 2012. Efikasi Bakteri Endofit dan Plant Growth Promoting Rhizobacteria dalam Menekan Perkembangan Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tomat. *Skripsi.* Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Jha, P. N., G. Gupta, P. Jha, R. Mehrotra, 2013. Association of Rhizospheric/Endophytic Bacteria with Plants: a Potential Gateway to Sustainable Agriculture. *Greener Journal of Agricultural Sciences, 3(2)*
- Jutono, Soedarsono, Joedoro. Hartadi, Sri. S., Siti Kabirun. D., Suhadi dan Soesanto. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi).* Yogyakarta: Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada
- Kado, C. I. 1992. *Plant Pathogenic Bacteria.* New York: Springer Verlag. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif, 13(1)*
- Khalid, A., M.Arshad, dan Z. A.Zahir, 2004. Screening Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Improving Growth and Yield of Wheat (Abstract). *Applied Microbiology, 96: 473*

- Kimmons, C. A., K. D. Gwinn dan E. C. Bernard. 1989. Reproduction of Selected Nematode Species on Endophyte Infected Tall Fescue. *Phytopathology*, 79:374. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Kloepper, J. W., R. Rodriguez-Kabana, J. A. McInroy, and R. W. Young. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne disease and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology*. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Kobayashi, D.Y. dan 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. New York: Pp 199-236
- Ladha, J.K. dan P.M. Reddy. 1995. Extension of Nitrogen Fixation to Rice—Necessity and Possibilities. *Geo Journal*. 35:363-372. Dalam Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. Vol. 11 No. 2
- Loharsika, T. Dan V. W. Williamson. 1997. Resistance to Root Knot Nematodes in Tomato. Dalam Fenoll C, Grundler FMW, Ohl SA. *Cellular and Molecular Aspect of Plant Nematode Interaction*. Kluwer Academic Publisher. Nederland
- Luc, M. Sikora, R.A. 1995. *Nematoda Parasit Tumbuhan di Pertanian Subtropik dan Tropik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Dalam Harni, R. 2013. Potensi Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda Parasit pada Tanaman Kopi. *Sirinov*, Vol 1 No. 3
- Lo, C. T. 1998. General Mechanisms of Action of Microbial Biocontrol Agents. *Plant Pathology Bulletin*. Dalam Wardani, F. F. 2012. Efikasi Bakteri Endofit dan Plant Growth Promoting Rhizobacteria dalam Menekan Perkembangan Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tomat. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Loon, V. L. C. dan P. A. H. M. Bakker. 2006. Induces Systemic Resistance as a Mechanism of Disease Suppression by Rhizobacteria. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)

- MPiga, P., R.R. Bélanger, T.C. Paulitz, dan N. Benhamou. 1997. Increased Resistance to *Fusarium oxysporum* sp. Radicislycopersici in Tomato Plants Treated with the Endophytic Bacterium *Pseudomonas fluorescens* Strain 63-28. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 50:301-320.
- Dalam Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. Vol. 11 No. 2
- Marlina. 2008. Identifikasi Bakteri *Vibrio parahaemolitycus* dengan Metode Biolog dan Deteksi Gen *ToxR* nya secara PCR. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13(1);11-17
- Marwan, H., M. S. Sinaga, Giyanto dan A. A. Nawangsih. 2011. Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit untuk Pengendalian Penyakit Darah pada Tanaman Kentang. *Jurnal HPT Tropika*, ISSN: 12211-7527 Vol.11, No 2:113-121
- Melakeberhan, H., J.W. Webster, R.C. Brook, J.M. D'Auria dan M. Cacckette. 1987. Effect of *Meloidogyne incognita* on Plant Nutrient Concentration and Its Influence on Plant Physiology of Bean. *Jurnal Nematologi*. 19: 324-330
- Mishra, D. S., A. K. Gupta, C. R. Prajapati dan U. S. Singh. 2011. Combination of Fungal and Bacterial Antagonists for Management of Root and Stem Rot Disease of Soybean. *Pakistan Journal of Botany*, 43(5): 2569-2574. Tersedia pada: [www.pakbs.org/pjbot/PDFs/43\(5\)/PJB43\(5\)2569.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/43(5)/PJB43(5)2569.pdf)
- Munif, A. 2001. *Studies on the Importance if Endophytic Bacteria for the Biological Control of the Root-Knot Nematodes Meloidogyne incognita on Tomato*. Inaugural-Dissertation. Institut fur Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich Wilhelms. Universitas Bonn. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Munif, A., E. N. Herliyana. dan B. P. W. Sukarno. 2013. Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit dari Tanaman Kehutanan sebagai Agens Hayati Nematoda Parasit Tumbuhan. Dalam Rahma, Y. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Lahan Kopi Arabika yang Terserang Nematoda *Radopholus smilis*. Skripsi. Jember: Universitas Jember
- Mustika, I. Y. dan Nuryani. 2006. Strategi Pengendalian Nematoda Parasit pada Tanaman Nilam. *Jurnal Penelitian Litbang*, 25(1)
- Nawangsih AA. 2006. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Biokontrol untuk Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada

Tomat. *Disertasi*. Bogor: Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor

Nugroharini. 2012. *Nematoda Parasit Tanaman*. Surabaya: UPN Press. Dalam Asyiah, I. N., S. Wiryadiputra, I. Fauzi, dan R. Harni. 2015. Populasi *Pratylenchus coffeae* (Z.) dan Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika Akibat Inokulasi *Pseudomonas diminuta* (L.) dan *Bacillus subtilis* (C.). *Pelita Perkebunan*, 31(1) 30-40

Nur, A.M., Zaenudin dan S. Wiryadiputra. 2000. Morfologi dan Sebaran Akar Kopi Robusta Klon BP 308 pada Lahan Endemik Nematoda Parasit *Pratylenchus coffeae*. *Pelita Perkebunan*, 16, 121—131

Nuryani, Y., I. Mustika, dan Ch. Syukur. 2001. Kandungan Fenol dan Lignin Tanaman Nilam Hibrida (*Pogostemon* sp.) Hasil Fusi Protoplas. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 7(4): 104-108.

Pelczar, M. J. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press

Prakamhang, J. 2007. Microbial Communities and Their NifH Gene Expression in Rice Endophytic Diazotroph Bacteria. *Tesis*. Thailand: The Suranaree University of Technology

Racke, J. dan R. A. Sikora. 1992. Isolation, Formulation and Antagonistic Activity of Rhizobacteria Toward the Potato Cyst Nematode *Globodera pallida*. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)

Rahanandeh, H., Khodakaramian, G., Hassanzadeh, N., Seraji, A., Asghari, S. M., dan Tarang, A. R. 2012. Inhibition of Tea Root Lesion Nematode, *Pratylenchus loosi*, by Rhizophere Bacteria. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 2251-6433

Roberts, D. P., S. M. Lohrke, S. L. F. Meyer, J. S. Buyer, J. H. Bowers, C. J. Baker, L. Wei, J. T. Souza, J. A. Lewis dan S. Chung. 2004. Biocontrol Agents Applied Individually and in Combination for Suppression of Soilborne Disease of Cucumber. *Crop Protection*. 24(2005): 141-155

Ryan, R. P., K. Germaine, A. Franks, D. J. Ryan, D. N. Dowling. 2007. Bacterial Endophytes: Recent Developments and Applications. *FEMS Microbiology Letters*. 278: 1-9

Schulz, B. J.E., Boyle, C. J. C. dan Sieber, T. N. 2006. *Microbial Root Endophytes*. Jerman: Springer

- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan Cetakan Pertama*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
- Siddiqui, I. A. dan S. S. Shaukat. 2003. Endophytic Bacteria: Prospect and Opportunities for the Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. *Nematological Medditerranca*, 31:111-120
- Sigee, D. C. 1993. *Bacterial Plant Pathology: Cell and Molecular Aspect*. Manchester: Cambridge University Press. Dalam Wardani, F. F. 2012. Efikasi Bakteri Endofit dan Plant Growth Promoting Rhizobacteria dalam Menekan Perkembangan Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tomat. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Sikora, R. A., K. Schafer, dan A. A. Dababat. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. Dalam Harni, R. Khaerati. 2013. Evaluasi Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus coffeae* pada Tanaman Kopi. *Buletin Ristri*, 4(2) 109-116
- Sinaga, M. S. 2006. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Cetakan ke-2*. Jakarta: Penebar Swadaya. Dalam Marwan, H., M. S. Sinaga, Giyanto dan A. A. Nawangsih. 2011. Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit untuk Pengendalian Penyakit Darah pada Tanaman Kentang. *Jurnal HPT Tropika*, ISSN: 12211-7527 Vol.11, No 2:113-121
- Sturz, A.V., B.G. Christie, dan J. Nowak. 2000. Bacterial Endophytes: Potential Role in Developing Sustainable Systems of Crop Production. Critical Review of Plant Science 19:1-30. Dalam Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. Vol. 11 No. 2
- Sumarsih. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN Veteran Yogyakarta. Dalam Suriaman, E. 2010. Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N_2 di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole Acetid Acid*) secara in Vitro. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Suriaman, E. 2010. Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N_2 di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole Acetid Acid*) secara in Vitro. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Tian, B., Yang dan K. Zhang. 2007. Bacteria Used in The Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Populations, Mechanism of Action and Future Prospects. *FEMS Microbiol Ecol*, 61:197-213

- Tuyet, N. 2010. A Comparative Polyphasic Study of 10 *Pratylenchus coffeae* Population from Vietnam. Lueven, Vietnam. Doctoraatsproefschrift nr. 894 aan de faculteit Bio ingenieurswetenschappen van de K.U. Leuven
- Trudgill, D. L. 1991. Resistance to and Tolerance of Plant Parasitic Nematode in Plants. *Annual Review of Phytopathology*, 29:167-192. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Vasudevan, P., M. S. Reddy, S. Kavitha, P. Velusamy dan R. S. D. Paulraj. 2002 Role of Biological Preparation in Enhancement of Rice Seeding Growth and Grain Yield. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Villegas, MED., P. Villa dan A. Frias. 2002. Evaluation of the siderophores production by *Pseudomonas aeruginosa* PSS. *Rev Latinoam Microbiol.* 44 (3-4): 112-117
- Wallace, H.R. 1987. *Effects of Nematode Parasites on Photosynthesis. Vistas on Nematology*. A Commemoration of Twenty Fifth Anniversary of the Society of Nematology. E.O. Painter Printing Co. Deleon Springs, Florida
- Whipps, J.M. 2001. Microbial Interactions and Biocontrol in the Rizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52:467-511. Dalam Harni, R. 2014. Prospek Penggunaan Bakteri Endofit untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada Tanaman Nilam. *Prospektif*, 13(1)
- Wiryadiputra, S., Y.D. Junianto, S. Indarti, Mulyadi, B. Rahayu dan D. Widianto. 2003. Pengaruh Bakteri Khitinolitik dan Serbuk Khitin terhadap Populasi *Pratylenchus coffeae* dan Pertumbuhan Bibit Kopi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 7, 45–53
- Wiryadiputra, S. dan L. K. Tran. 2008. *Plant-parasitic nematodes of Coffee: World Report*. p. 277—292. Dalam Souza, R.M. (Editor). 2000. *Plant Parasitic Nematodes of Coffee*. The Netherlands: Springer
- Yigit, F dan M. Dikilitas. 2007. Control of Fusarium Wilt of Tomato by Combination of Fluorescent *Pseudomonas*, Non-Pathogen *Fusarium* and *Trichoderma harzianum* T-22 in Greenhouse Conditions. *Plant Pathol*, Journal 6: 159-163
- Zinniel, D. K., P. Lambrecht, N. B. Harris, Z. Feng, D. Kuczmarski, P. Higley, C. A. Ishimaru, A. Arunakumari, R. G. Barletta, dan A. K. Vidaver. 2002. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from

Agronomic Crops and Prairie Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 2198-2208



LAMPIRAN

Lampiran A. Matriks Penelitian

Judul	Latar Belakang Masalah	Rumusan Masalah	Tujuan	Variabel	Indikator	Metode Penelitian
Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Penurunan Jumlah Populasi Nematoda <i>Pratylenchus coffeae</i> dan <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Micrococcus sp.</i> dan <i>Bacillus sp.</i> sebagai pengendali Peningkatan Pertumbuhan	merupakan hama dari golongan nematoda parasit yang sangat merugikan kopi Arabika. Akhir-akhir ini agen hayati lebih banyak dipilih sebagai pengendali hama karena lebih ramah lingkungan	a. Apakah kombinasi antara isolat bakteri endofit <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Micrococcus sp.</i> dan <i>Bacillus sp.</i> asal kebun kopi Kalibendo	a. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antara isolat bakteri endofit <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Micrococcus sp.</i> dan <i>Bacillus sp.</i> pada pertumbuhan tanaman	a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat tunggal bakteri endofit dan kombinasi berbagai isolat bakteri endofit tersebut. Isolat bakteri tersebut berasal dari akar tanaman	a. Tinggi tanaman b. Jumlah daun c. Berat basah akar dan tajuk d. Berat kering	a. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dan eksperimental lapangan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Bibit Tanaman Kopi Arabika (<i>Coffea Arabica</i> L.)	dan dalam hal tertentu lebih murah (Wiryadiputra <i>et al.</i> , 2003). Pemanfaatannya sebagai Poster Serial	dan dalam hal tertentu lebih murah (Wiryadiputra <i>et al.</i> , 2003). Pemanfaatannya sebagai Poster Serial	mampu menurunkan populasi <i>P. coffeae</i> dan meningkatkan n pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (<i>C. arabica</i> L.)?	asal kebun kopi Kalibendo terhadap jumlah populasi <i>P. coffeae</i> dan bibit kopi Arabika (<i>C. arabica</i> L.).	kopi asal kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, Jawa Timur.	tajuk	b. Metode pengumpulan data meliputi penelitian, dokumentasi dan kepustakaan.
			b. Manakah diantara isolat bakteri endofit <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> ,	b. Untuk mengetahui isolat bakteri endofit diantara <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> ,	b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah populasi <i>P. coffeae</i> dan pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (<i>C. arabica</i> L.).	e. Skor kerusakan akar f. Jumlah populasi nematoda di akar dan tanah	c. Hasil uji dianalisis menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji <i>Duncan's Multiple Test</i> .

	<p>mampu menekan populasi <i>P. coffeae</i> dan memicu pertumbuhan (tinggi tanaman, berat tajuk, dan berat akar) dibandingkan kontrol. Penurunan populasi nematoda <i>P. coffeae</i> pada akar kopi tersebut disebabkan karena bakteri endofit dapat menekan penetrasi dan reproduksi nematoda di dalam akar (Sikora <i>et al.</i>, 2007).</p>	<p>sp. dan <i>Bacillus</i> sp. asal kebun kopi yang paling berpengaruh dalam menurunkan jumlah populasi <i>P. coffeae</i> dan meningkatka n pertumbuhan bibit tanaman kopi Arabika (<i>C. arabica</i> L.)?</p>	<p><i>Micrococcus</i> sp. dan <i>Bacillus</i> sp. asal kebun kopi yang paling berpengaruh dalam menurunkan jumlah populasi <i>P. coffeae</i> dan meningkatka n pertumbuhan bibit kopi arabika (<i>C. arabica</i> L.).</p>	<p>yaitu:</p> <p>1) Bibit tanaman kopi jenis Arabika (<i>C. arabica</i> L.) usia 3 bulan dari kebun kopi Kalibendo, Banyuwangi, i, Jawa Timur.</p> <p>2) Nematoda <i>P. coffeae</i> dari berbagai</p>		
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

	<p>Tim Penelitian Asyiah (2015) membuktikan isolat tunggal bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo mampu menekan penetrasi nematoda <i>P. coffeae</i> ke dalam tanaman kopi <i>Coffea arabica</i> L. hingga persentasi penekanan sebesar 49,41% hingga 93,97% dengan 3 isolat bakteri endofit yang paling berpotensi yaitu</p>			<p>fase pertumbuhan sebanyak 50 ekor pada tiap bibit tanaman <i>C. arabica</i> L.</p> <p>3) Tempat dan cara pemeliharaan: bibit kopi berusia 3 bulan ditanam di rumah kaca Tidar, Jember,</p>		
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

	<p><i>Micrococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Micrococcus luteus</i>.</p> <p>Hasil dari aplikasi bakteri endofit dapat ditingkatkan dengan mengkombinasikan beberapa strain bakteri endofit yang memiliki mekanisme berbeda tetapi saling menunjang dengan memperhatikan sifat saling menghambat antar agens yang akan diujikan tersebut (Whipps,</p>			<p>dalam pot yang berisikan tanah steril, pasir steril dan pupuk dengan perbandingan 1:1:1 dan ditumbuhkan dalam media pot. Selang seminggu berikutnya, isolat bakteri endofit</p>		
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

	<p>2001).</p> <p>Tiga isolat bakteri paling berpotensi asal kebun kopi Kalibendo dalam Tim Penelitian Asyiah (2015), yaitu yaitu <i>Micrococcus luteus</i>, <i>Micrococcus</i> sp. dan <i>Bacillus</i> sp., akan diujikan dalam aplikasi kombinasi kembali untuk menguji pengaruh kombinasi isolat bakteri endofit terhadap penurunan</p>			<p>diaplikasikan pada bibit kopi. Minggu berikutnya, aplikasi nematoda <i>P. coffeae</i> dilakukan.</p> <p>4) Lama perlakuan adalah 4 bulan penelitian .</p>		
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

	jumlah populasi <i>P. coffeae</i> dan peningkatan pertumbuhan bibit kopi <i>C. arabica</i> L.					
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--	--

Lampiran B. Desain Rancangan Rangkaian Acak Lengkap (RAL)

D.4.3.	D.1.2.	D.2.2.	D.7.2.	D.3.3.	D.2.3.
D.3.2.	D.3.2.	D.6.3.	D.5.3.	D.5.3.	D.6.2.
D.5.2.	D.7.3.	D.2.2.	D.3.1.	D.5.2.	D.1.1.
D.7.3.	D.7.1.	D.2.1.	D.3.1.	D.7.1.	D.4.1.
D.7.3.	D.5.1.	D.6.3.	D.3.1.	D.2.1.	D.2.3.
D.6.1.	D.1.3.	D.4.2.	D.1.1.	D.2.2.	D.2.1.
D.3.3.	D.7.3.	D.3.3.	D.6.2.	D.3.2.	D.5.2.
D.3.2.	D.2.3.	D.7.2.	D.1.1.	D.6.1.	D.7.1.
D.6.2.	D.6.1.	D.4.2.	D.1.1.	D.5.2.	D.3.3.
D.5.1.	D.4.2.	D.6.1.	D.4.3.	D.4.2.	D.1.3.
D.2.1.	D.5.1.	D.1.3.	D.7.2.	D.6.2.	D.2.3.
D.4.1.	D.4.3.	D.7.2.	D.4.1.	D.2.2.	D.6.3.
D.1.2.	D.6.3.	D.7.1.	D.5.1.	D.1.3.	D.4.3.
D.4.1.	D.5.3.	D.3.1.	D.1.2.	D.1.2.	D.5.3.
D.8.1.	D.8.3.	D.8.2.	D.8.1.	D.8.3.	D.8.2.
D.8.1.	D.8.3.	D.8.2.	D.8.1.	D.8.3.	D.8.3.
D.9.1.	D.9.3.	D.9.2.	D.9.1.	D.9.3.	D.9.2.
D.9.1.	D.9.3.	D.9.2.	D.9.1.	D.9.3.	D.9.3.

Lampiran C. Hasil Analisis SPSS

- 1) Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Penurunan Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Estimasi Nematoda Akar	Estimasi Nematoda Tanah	
N		36	36	
	Mean	176,2425	58,4289	
Normal Parameters ^{a,b}	Std.	208,88023	44,52700	
	Deviation			
	Absolute	,284	,162	
Most Extreme Differences	Positive	,284	,162	
	Negative	-,199	-,105	
Kolmogorov-Smirnov Z		1,706	,972	
Asymp. Sig. (2-tailed)		,006	,301	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Estimasi	Between Groups	897629,530	8	112203,691	4,813	,001
Nematoda	Within Groups	629453,707	27	23313,100		
Akar	Total	1527083,237	35			
Estimasi	Between Groups	30168,236	8	3771,029	2,596	,030
Nematoda	Within Groups	39224,637	27	1452,764		
Tanah	Total	69392,873	35			
Estimasi	Between Groups	990801,326	8	123850,166	3,939	,003
Total	Within Groups	848963,193	27	31443,081		
Nematoda	Total	1839764,519	35			

Estimasi Nematoda Akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7,00	4	58,8775	58,8775	
2,00	4	84,4225	84,4225	
5,00	4	89,6975	89,6975	
3,00	4	92,9625	92,9625	
1,00	4	178,7425	178,7425	
4,00	4	225,8000	225,8000	
6,00	4		310,2600	
Sig.		,078	,051	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Estimasi Nematoda Tanah

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6,00	4	36,2525	36,2525	
1,00	4	37,9250	37,9250	
7,00	4	57,9200	57,9200	57,9200
3,00	4		65,8350	65,8350
2,00	4		71,2525	71,2525
5,00	4		78,7525	78,7525
4,00	4			107,9200
Sig.		,058	,181	,113

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Estimasi Total Nematoda

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7,00	4	116,7975	116,7975	
2,00	4	155,6750	155,6750	
3,00	4	158,7975	158,7975	
5,00	4	168,4500	168,4500	
1,00	4	216,6675	216,6675	
4,00	4		302,8950	
6,00	4		346,5125	
Sig.		,139	,121	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

- 2) Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Tinggi Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Minggu 0
N		36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5,0000	12,4842
	Std.	2,61861	1,60132
	Deviation		
Most Extreme	Absolute	,111	,176
Differences	Positive	,111	,096
	Negative	-,111	-,176
Kolmogorov-Smirnov Z		,665	1,059
Asymp. Sig. (2-tailed)		,768	,212

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Minggu 0	Between Groups	57,315	8	7,164	5,964	,000
	Within Groups	32,433	27	1,201		
	Total	89,747	35			
Min ggu	Between Groups	162,958	8	20,370	1,563	,183
	Within Groups	351,814	27	13,030		
18	Total	514,772	35			

Minggu 0

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6,00	4		11,6250	
2,00	4		12,3600	12,3600
4,00	4		12,3825	12,3825
5,00	4		13,1075	13,1075
3,00	4		13,2225	13,2225
7,00	4		13,3425	13,3425
1,00	4			13,9500
Sig.		1,000	,062	,084

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Minggu 18

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4,00	4	14,0125	
2,00	4	16,6275	16,6275
1,00	4	17,1325	17,1325
6,00	4	17,3675	17,3675
5,00	4	18,2250	18,2250
3,00	4		20,0800
7,00	4		20,6925
Sig.		,157	,152

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

- 3) Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Daun Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Minggu 0	Minggu 18
N		36	36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5,0000	2,0000	10,7497
	Std. Deviation	2,61861	,00000 ^c	4,38255
	Absolute	,111		,275
Most Extreme Differences	Positive	,111		,174
	Negative	-,111		-,275
Kolmogorov-Smirnov Z		,665		1,649
Asymp. Sig. (2-tailed)		,768		,009

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Minggu 0	Between Groups	,000	8	,000	.	.
	Within Groups	,000	27	,000		
	Total	,000	35			
Minggu 18	Between Groups	569,089	8	71,136	18,62	
	Within Groups	103,147	27	3,820	1	
	Total	672,236	35			

Minggu 18

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1,00	4		10,0000		
2,00	4		10,5000	10,5000	
5,00	4		11,8325	11,8325	11,8325
4,00	4		11,9975	11,9975	11,9975
6,00	4		12,5000	12,5000	12,5000
7,00	4		12,6675	12,6675	12,6675
3,00	4			13,4175	13,4175
Sig.		1,000	,099	,072	,213

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

- 4) Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Berat Basah dan Kering Akar dan Tajuk Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Berat Basah Akar	Berat Basah Tajuk	Berat K
N	36	36	
Mean	,1389	1,9253	
Normal Parameters ^{a,b}	.06493	,62791	
Std.			
Deviation			
Most Extreme	,144	,094	
Differences	,144	,064	
Absolute			
Positive			
Negative	-,117	-,094	
Kolmogorov-Smirnov Z	,864	,564	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,444	,908	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Berat Basah Akar	Between Groups	,046	8	,006	1,510	,200
	Within Groups	,102	27	,004		
	Total	,148	35			
Berat Basah Tajuk	Between Groups	5,540	8	,693	2,264	,054
	Within Groups	8,259	27	,306		
	Total	13,799	35			
Berat Kering Tajuk	Between Groups	,400	8	,050	1,931	,096
	Within Groups	,699	27	,026		
	Total	1,099	35			

Berat Basah Akar

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2,00	4	,0975	
1,00	4	,1150	,1150
7,00	4	,1250	,1250
4,00	4	,1350	,1350
5,00	4	,1425	,1425
3,00	4	,1600	,1600
6,00	4	,1800	,1800
Sig.		,083	,081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Berat Basah Tajuk

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1,00	4	1,3225		
2,00	4	1,4425	1,4425	
4,00	4	1,8875	1,8875	1,8875
6,00	4	1,9125	1,9125	1,9125
5,00	4	1,9850	1,9850	1,9850
7,00	4	2,0975	2,0975	2,0975
3,00	4		2,2900	2,2900
Sig.		,094	,068	,083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Berat Kering Tajuk

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2,00	4	,5375	
1,00	4	,5650	,5650
4,00	4	,6550	,6550
6,00	4	,6900	,6900
7,00	4	,7650	,7650
5,00	4	,7875	,7875
3,00	4		,8125
Sig.		,064	,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

- 5) Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Skor Kerusakan Akar Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Skor
N		36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5,0000	56,0314
	Std. Deviation	2,61861	24,94341
	Absolute	,111	,161
Most Extreme Differences	Positive	,111	,109
	Negative	-,111	-,161
Kolmogorov-Smirnov Z		,665	,967
Asymp. Sig. (2-tailed)		,768	,307

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15807,453	8	1975,932	8,938	,000
Within Groups	5968,622	27	221,060		
Total	21776,075	35			

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
6,00	4		38,4150			
5,00	4		45,9175	45,9175		
3,00	4		51,0425	51,0425		
4,00	4		56,4150	56,4150	56,4150	
1,00	4			65,9150	65,9150	65,9150
2,00	4				75,0000	75,0000
7,00	4				75,4975	75,4975
Sig.		1,000	,128	,092	,107	,132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran D. Hasil Uji Sinergis Isolat Bakteri

Tabel Hasil Uji Sinergis Isolat Bakteri *Micrococcus luteus*, *Micrococcus sp.* dan *Bacillus sp.*

No.	Gambar	Uji Sinergis	
		Pengujian	Zona Bening
1		1) A terhadap B 2) A terhadap C	Tidak ada Tidak ada
2		1) B terhadap A 2) B terhadap C	Tidak ada Tidak ada
3		1) C terhadap A 2) C terhadap B	Tidak ada Tidak ada

Keterangan:

- A = Bakteri *Micrococcus luteus*
- B = *Micrococcus sp.*
- C = *Bacillus sp.*

Lampiran E. Alat dan Bahan Penelitian

No .	Nama Alat/Bahan	Gambar	No .	Nama Alat/Bahan	Gambar
1.	Pot plastik		6.	Blender	
2.	Bibit kopi		7.	Gelas beaker	
3.	Timbangan analitik		8.	Mikroskop	
4.	Oven		9.	Counter	
5.	Saringan 325 mesh		10.	Cawan penghitung	
6.	Botol semprot		11.	Autoclave	

No .	Nama Alat/Bahan	Gambar	No .	Nama Alat/Bahan	Gambar
12.	Cawan petri		18.	Laminar	
13.	Kompor listrik		19.	Neraca	
14.	Shaker		20.	Jarum N	
15.	Erlenmeyer		21.	Ose	
16.	Pipet		22.	Gelas ukur	
17.	Tabung reaksi		23.	Rak tabung reaksi	

24.	Vortex		28.	Bibit tanaman kopi	
25.	Bunsen		29.	Alkohol 70%	
26.	Mikropipet		30.	Medium NB	
27.	Gunting tanaman		31.	Medium TSA dan TSB	

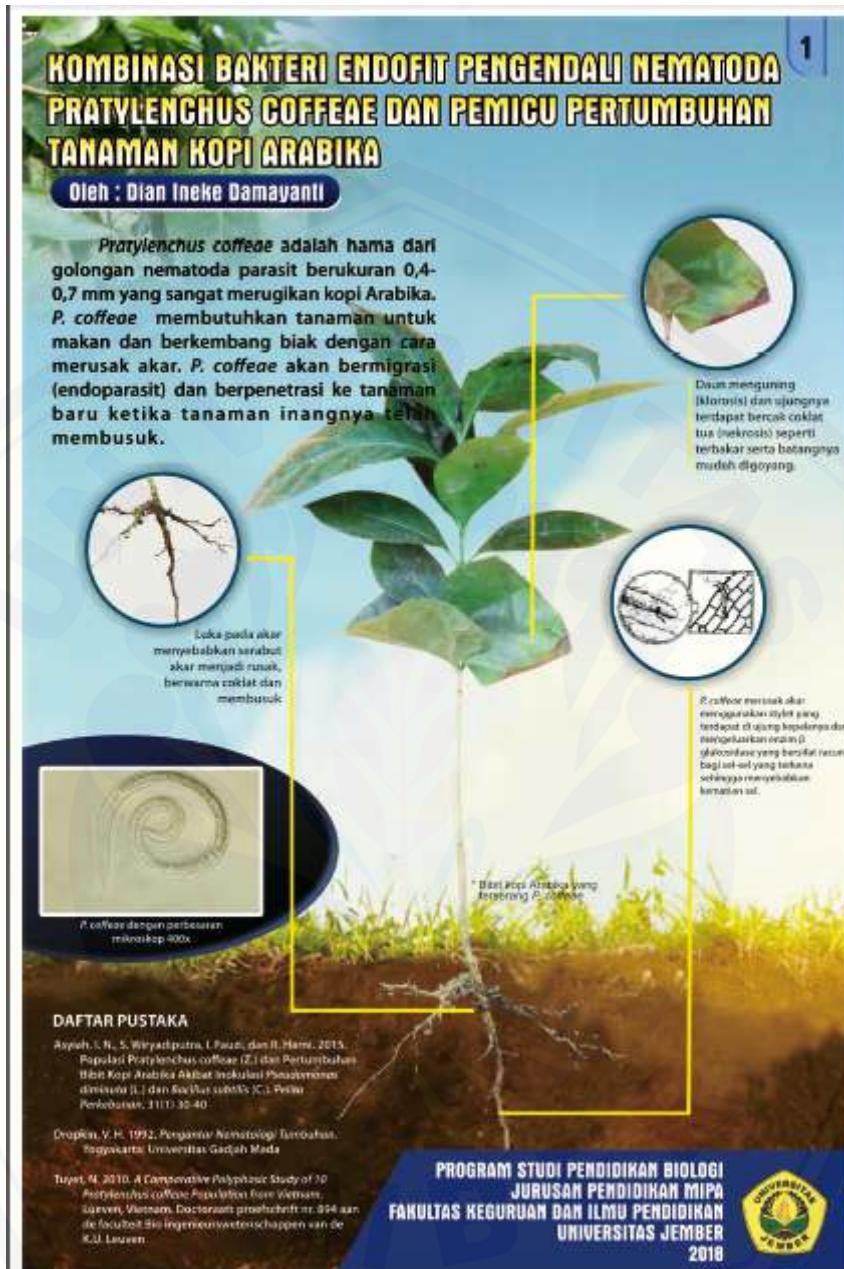
Lampiran F. Kegiatan Penelitian

		
a. Proses penyemaian bibit tanaman kopi		b. Peremajaan isolat bakteri endofit
		d. Uji sinergi bakteri endofit
c. Proses uji kerapatan bakteri		
e. Bibit kopi yang telah dipindah ke pot		f. Aplikasi isolat bakteri endofit
g. Pengukuran tinggi tanaman tiap 2 minggu		
		h. Dokumentasi setelah panen

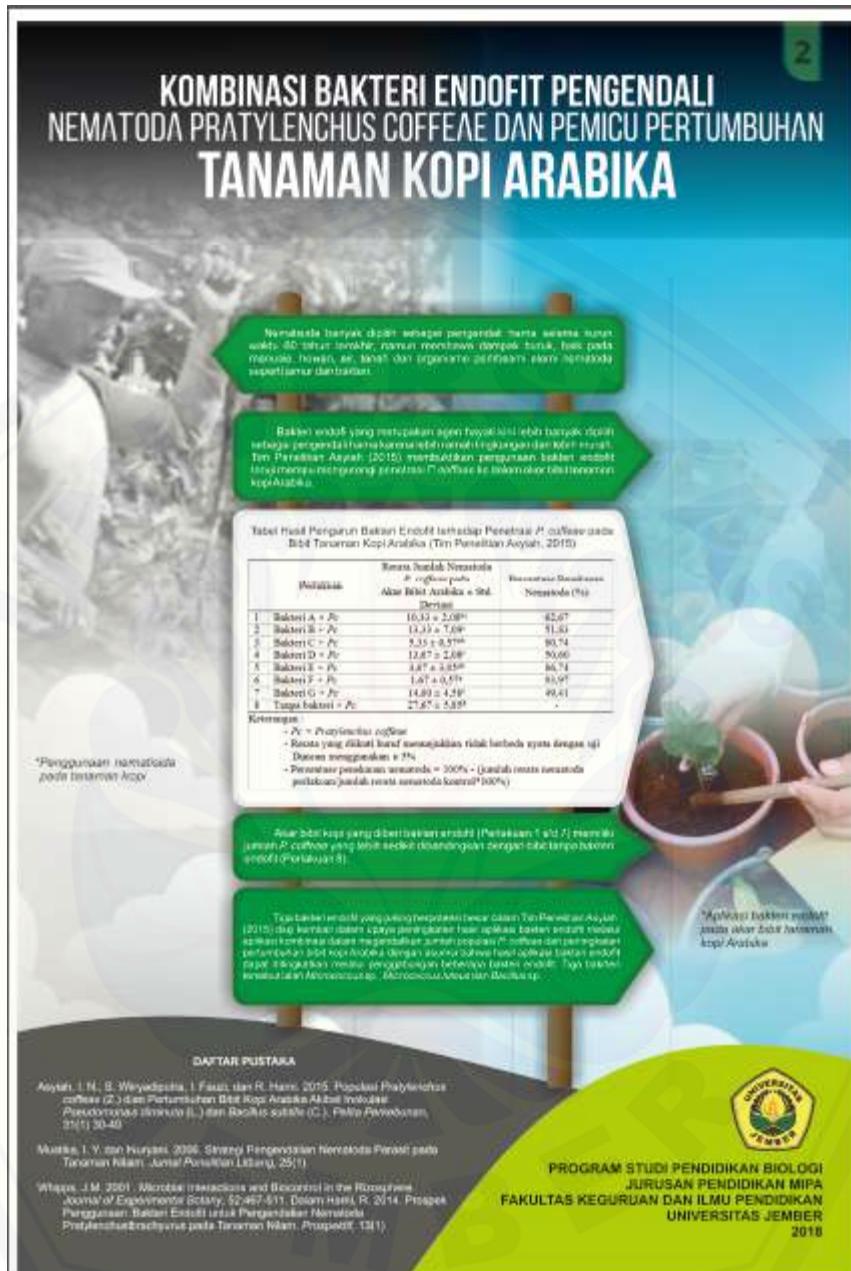
	
i. Pemotongan akar sebelum proses ekstraksi	j. Proses ekstraksi tanah

	
k. Hasil ekstraksi di tap hingga 100 ml	l. Perhitungan jumlah nematoda hasil ekstraksi

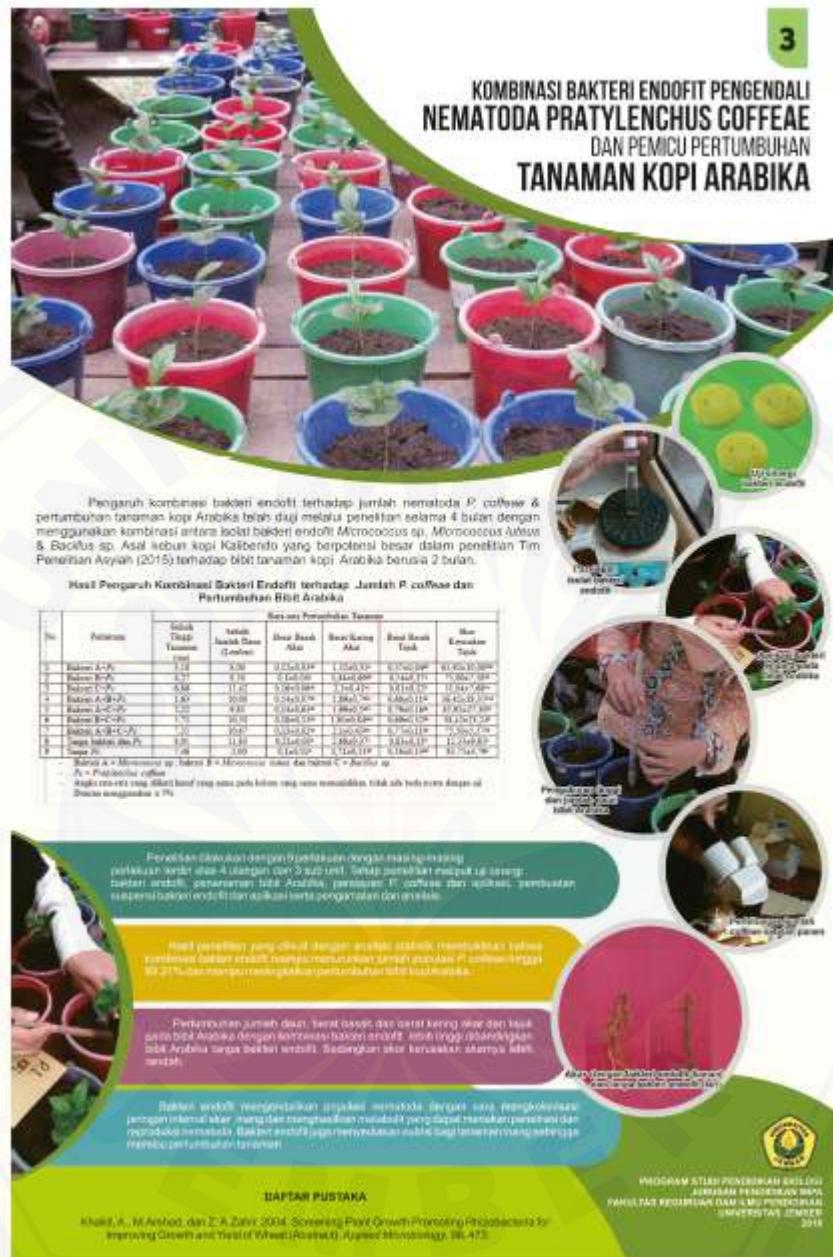
Lampiran G. Desain serial poster halaman 1 sebelum validasi



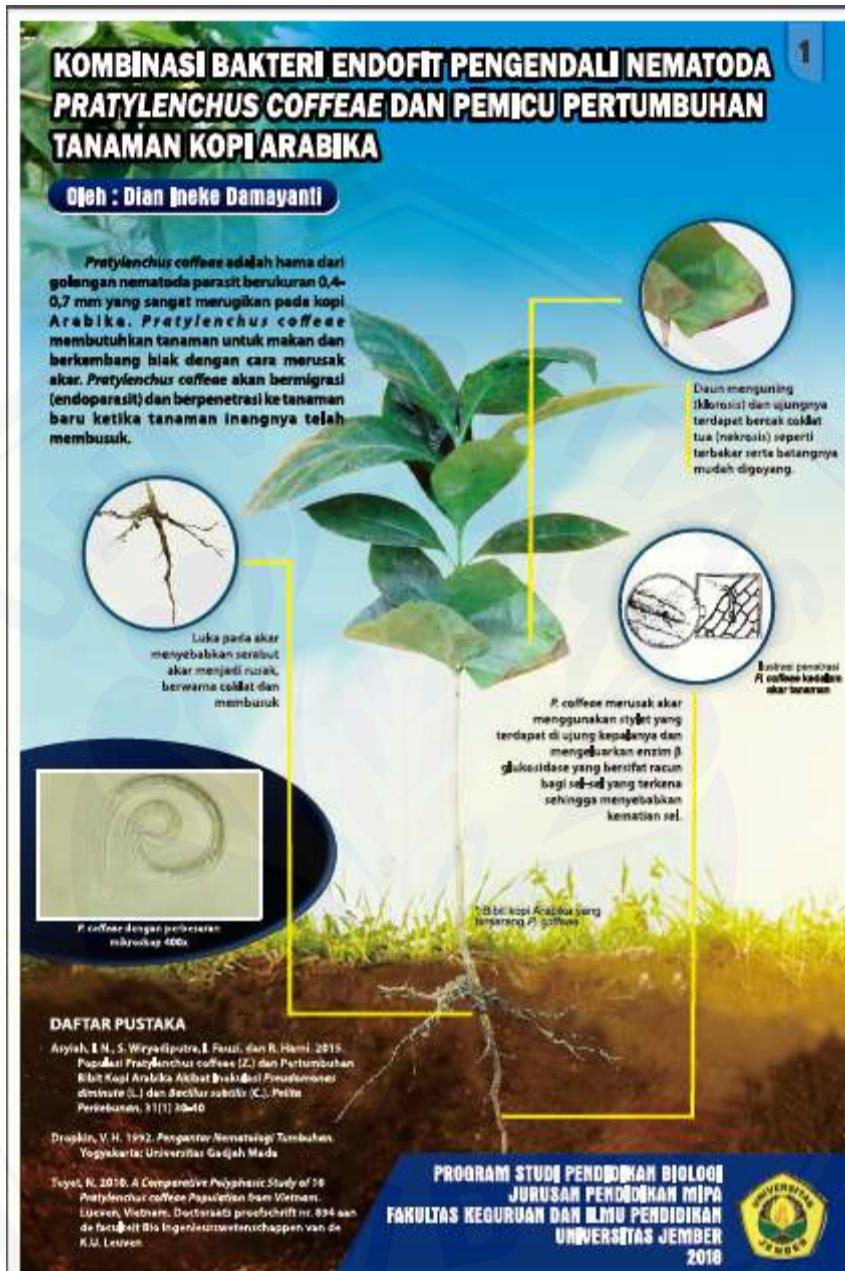
Lampiran H. Desain serial poster halaman 2 sebelum validasi



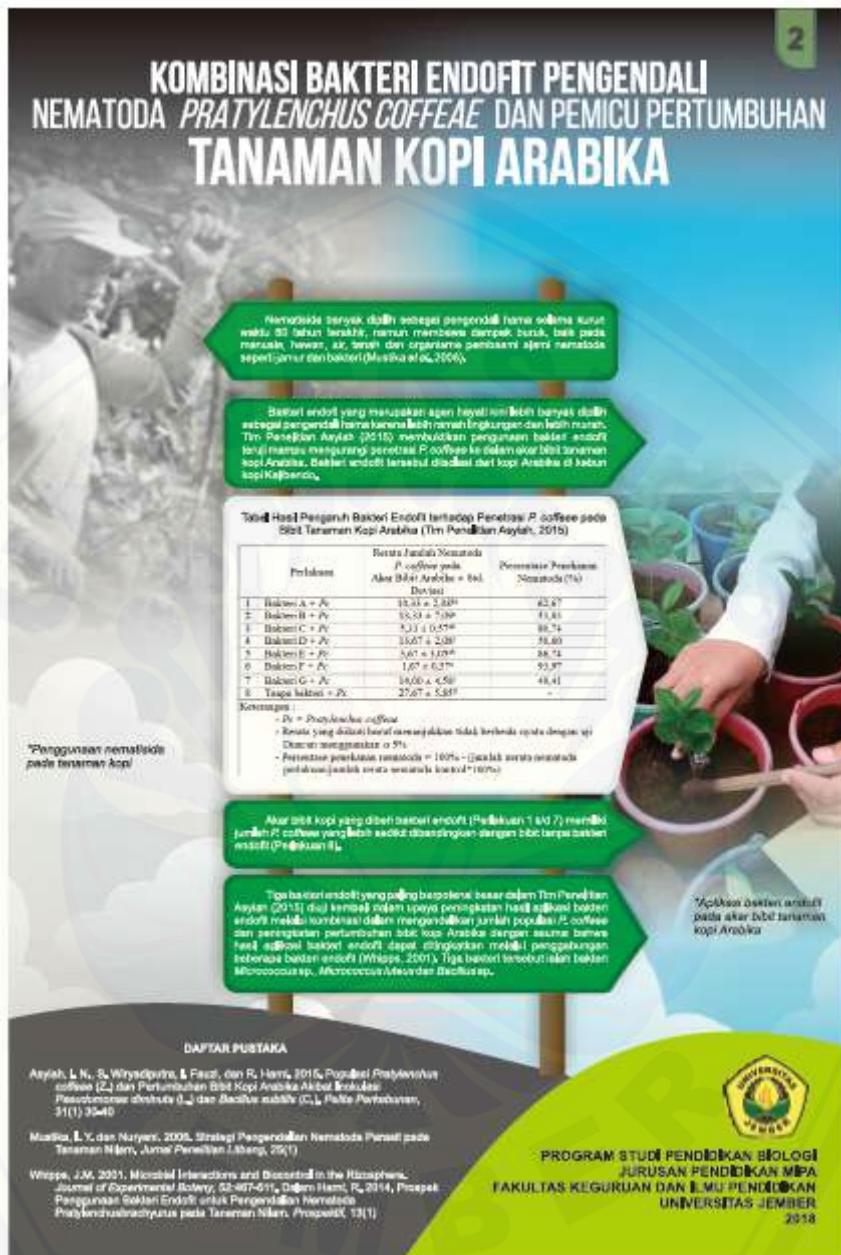
Lampiran I. Desain serial poster halaman 3 sebelum validasi



Lampiran J. Desain serial poster halaman 1 setelah validasi



Lampiran K. Desain serial poster halaman 2 setelah validasi



Lampiran L. Desain serial poster halaman 3 setelah validasi

3

KOMBINASI BAKTERI ENDOFIT PENGENDALI NEMATODA *PRATYLENCHUS COFFEAE* DAN PEMICU PERTUMBUHAN TANAMAN KOPI ARABIKA

Pengaruh kombinasi bakteri endofit terhadap jumlah nematoda *Pratylenchus coffeae* dan pertumbuhan tanaman kopi Arabika (tajuk stik) mulai penanaman selama 4 bulan dengan menggunakan 3 isolat bakteri endofit *Mycobacterium luteum*, *Micrococcus sp.*, dan *Bacillus sp.* serta kabut logi Kalibendo yang berpotensi besar dalam penelitian Tim Penelitian Asy'lah (2015) terhadap bibit tanaman kopi Arabika berisikan 2 buah.

Hasil Pengaruh Kombinasi Bakteri Endofit Terhadap Jumlah *P. coffeae* dan Pertumbuhan Ristik Arabika

Rata-rata Pertumbuhan Tanaman

No	Pembatas	Tinggi Tanaman cm	Sifat Akar Rambat	Rata-Rata Tinggi Akar Rambat cm	Rata-Rata Tinggi Akar Rambat	Rata-Rata Tinggi Akar Rambat	Rata-Rata Tinggi Akar Rambat
1	Kabut Logi A-P	2,15	2,00	0,17±0,02*	1,73±0,18*	0,17±0,02*	0,17±0,02*
2	Kabut Logi B-P	2,15	2,00	0,16±0,02*	1,64±0,09*	0,16±0,02*	0,16±0,02*
3	Kabut Logi C-P	0,68	0,50	0,16±0,02*	0,73±0,09*	0,16±0,02*	0,16±0,02*
4	Kabut A-B-P	1,65	0,80	0,16±0,02*	1,06±0,14*	0,16±0,02*	1,06±0,14*
5	Kabut A-C-P	0,72	0,50	0,16±0,02*	0,82±0,14*	0,16±0,02*	0,82±0,14*
6	Kabut B-C-P	0,72	0,50	0,16±0,02*	0,82±0,14*	0,16±0,02*	0,82±0,14*
7	Kabut A-B-C-P	1,71	0,80	0,16±0,02*	1,14±0,14*	0,16±0,02*	1,14±0,14*
8	Tanpa Isolat dan Pt	0,68	0,50	0,16±0,02*	0,73±0,17*	0,16±0,02*	0,73±0,17*
9	Tanpa Pt	1,76	0,70	0,16±0,02*	1,25±0,19*	0,16±0,02*	1,25±0,19*

*Pengaruh A = Mengakibatkan tajuk stik tidak bertumbuh dengan baik pada tanaman kopi Arabika.

Pengaruh B = Mengakibatkan tajuk stik bertumbuh dengan baik pada tanaman kopi Arabika.

Pengaruh C = Mengakibatkan tajuk stik bertumbuh dengan baik pada tanaman kopi Arabika tetapi tanaman kopi Arabika yang diberi pengaruh C tidak bertumbuh dengan baik.

Isolat = Isolat bakteri endofit.

Tanpa Isolat dan tanpa Pt = Tanpa mengakibatkan tajuk stik bertumbuh dengan baik pada tanaman kopi Arabika.

Tanpa Pt = Tanpa mengakibatkan tajuk stik bertumbuh dengan baik pada tanaman kopi Arabika.

Penelitian dilakukan dengan 9 perlakuan dengan tiga kali ulang dan 2 ulang. Dalam perlakuan dilakukan dengan 4 isolasi bakteri endofit, pertumbuhan tajuk stik Arabika, pertumbuhan *P. coffeae* dan aplikasi pertumbuhan sifat bakteri endofit dan aplikasi pertumbuhan tanaman.

Hasil penelitian yang dibuktikan dengan analisis statistik mendapatkan bahwa pertumbuhan tajuk stik tanpa pertumbuhan tanaman *P. coffeae* dengan 80,21% dan meningkatnya pertumbuhan tanaman kopi Arabika.

Pertumbuhan jumlah akar, rasa bau dan bentuk akar bentuk kerang atau benih biji pada tajuk stik Arabika dengan kombinasi bakteri endofit (tajuk stik) dibandingkan tajuk stik Arabika tanpa bentuk endofit. Sebaliknya akar kerakuan akarnya lebih rendah.

Bakteri endofit memproduksi insulin memproduksi dengan cara memproduksi jaringan hidrolitik yang dapat menghambat makrofag yang dapat merusak pertumbuhan reproduksi makrofag. Bakteri endofit juga menyediakan nutrisi bagi tanaman yang sehingga memfasilitasi pertumbuhan tanaman.

DAPATKAN PUSTAKA

Khalid A., Mulyana, dan Z. Azizah. 2003. Screening Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Increasing Growth and Yield of Wheat (Arabica) Against Monoculture. 16: 475.

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BILOGI
JURUSAN PENDIDIKAN IPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016

Lampiran M. Surat Rekomendasi sebagai Validator



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121 Telepon: 0331-
334988, 330738 Faks: 0331-334988 Laman: www.bkip.unej.ac.id

SURAT REKOMENDASI SEBAGAI VALIDATOR

Yang bertanda tangan di bawah ini saya selaku Dosen Pembimbing skripsi mahasiswa:

Nama : Dian Ineke Damayanti
NIM : 130210103085
Program Studi : Pendidikan Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeae* dan Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) serta Pemanfaatannya sebagai Poster Serial

Selanjutnya untuk melengkapi instrumen dalam penelitian tersebut diperlukan validator untuk memvalidasi instrumen-instrumen tersebut, karena itu saya merekomendasikan Bapak/Ibu agar kiranya berkenan sebagai validator *):

No	Nama Validator	Bidang/Ahli
1.	Vendi Eko Susilo, S. Pd.,M. Si.	Ahli Materi
2.	Ika Lia Novenda, S. Pd., M. Pd	Ahli Media

Demikian atas bantuan dan kerjasama yang baik Bapak/Ibu disampaikan terimakasih.

Jember, 12 Juli 2018
Dosen Pembimbing Utama,


Dr. Iis Nur Asviah, S.P., M.P
NIP. 19730614 200801 2 008

Keterangan:

Dibuat rangkap 3 : masing-masing untuk Kombi, Dosen Pembimbing, dan Mahasiswa.

* Segala yang terkait dengan akomodasi validator ditanggung mahasiswa yang bersangkutan.

III. Identitas Validator

Nama : Vendy Eko Susilo, S.Pd.Msi
Alamat Rumah : Perum Nekbonsari Indah Blok T-11
No. Telepon : 085 313 588 445
Jenis Kelamin : Laki - laki
Usia : 30
Pekerjaan : Dosen

IV. Instrumen Penilaian

Petunjuk :

- Mohon Bapak/Ibu memberikan penilaian pada setiap aspek dengan member tanda cek list (✓) pada kolom skor yang disediakan.
- Jika perlu diadakan revisi, mohon memberikan revisi pada bagian saran.
- Mohon Bapak/Ibu memberikan tanggapan pada bagian kesimpulan dengan melengkapi salah satu pilihan yang tersedia guna keberlanjutan produk poster edukasi yang telah disusun.
- Keterangan penilaian:
1 = tidak valid
2 = kurang valid
3 = valid
4 = sangat valid

No.	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Materi yang disajikan aktual dan bermanfaat			✓	
2	Materi yang disampaikan sesuai dengan keadaan yang berhubungan dengan kehidupan sehari-hari			✓	
3	Materi yang disampaikan berisi sampul poster, unsur dasar atau pendahuluan dan isi poster (pembahasan)				✓

4	Materi yang disampaikan bersifat informatif bagi masyarakat			✓	
5	Penyajian 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	Bahasa (EYD, kata, kalimat dan paragraf) digunakan dengan tepat, lugas dan jelas sehingga mudah dipahami masyarakat			✓	
9	Penyajian materi sebagai pengembangan pengetahuan untuk menambah wawasan yang lebih luas			✓	
10	Penyajian materi mengembangkan keterampilan dan motivasi untuk berinovasi			✓	

Sumber: Simpatupang. 2014 dengan modifikasi

Komentar:

Pada desain poster sudah baik, informatif dan berminat.

Saran :

- perbaiki ketepian tulisan nama spesies di awal punggak atau belakang ditulis lengkap.
- ada pertanyaan yang perlu dijawab terkait dengan citra (Tim Penelitian Asy'lah) bisa mi tanya punya dan bagaimana dari group penelitian kendalnya adalah nama peneliti saja, karena penanya akan meminta 2 peneliti

LEMBAR VALIDASI UJI PRODUK POSTER SERIAL

I. Identifikasi Peneliti

Nama : Dian Ineke Damayanti
NIM : 130210103085
Jurusann/Prodi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Jember

II. Pengantar

Dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada program studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penulis melaksanakan penelitian sebagai bentuk tugas akhir dan kewajiban yang harus di selesaikan. Penelitian yang dilakukan penulis berjudul: "Pengaruh Kombinasi Isolat Bakteri Endofit Asal Kebun Kopi Kalibendo terhadap Jumlah Populasi Nematoda *Pratylenchus coffeeae* dan Pertumbuhan Bibit Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)".

Demi tercapainya tujuan menjadi sarjana S1, penulis dengan hormat meminta kesedian Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian daftar kuisioner yang penulis ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasanai jawaban serta identitas Bapak/Ibu di jamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesedian Bapak/Ibu mengisi kuisioner yang saya ajukan.

Hormat saya,

Penulis



Dian Ineke Damayanti

III. Identitas Validator

Nama : Ika Iz Novenda
Alamat Rumah : Perum. Ria Bunga Nirwana Jimbaran B 16
No. Telepon :
Jenis Kelamin :
Usia :
Pekerjaan :

IV. Instrumen Penilaian

Petunjuk :

1. Mohon Bapak/Ibu memberikan penilaian pada setiap aspek dengan memberi tanda cek list (✓) pada koom skor yang sediakan.
2. Jika perlu di adakan revisi, mohon memberikan revisisi pada bagian saran.
3. Mohon Bapak/Ibu memberikan tanggapan pada bagian kesimpulan dengan melengkapi salah satu pilihan yang tersedia guna keberlanjutan produk poster edukasi yang telah di susun.
4. Keterangan penilaian:
1 = tidak valid
2 = kurang valid
3 = valid
4 = sangat valid

No.	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Desain fisik dan pemilihan warna tiap bagian terlihat serasi				✓
2	Kemenarikan <i>lay out</i>				✓
3	Ketepatan penggunaan gambar, ilustrasi dan foto serta kesesuaian dengan materi yang dibahas				✓
4	Kesesuaian penggunaan variasi jenis, ukuran dan bentuk huruf untuk judul dan uraian materi			✓	
5	Keruntutan penyajian bersifat sistematis			✓	

6	Narasi yang disajikan padat dan jelas				✓
7	Jenis kertas yang digunakan sesuai standar minimal poster				✓
8	Ukuran poster sesuai dengan standar minimal poster				✓
9	Desain tidak menimbulkan masalah SARA				✓
10	Penyajian bahasa yang digunakan terlihat etis, estetis, komunikatif sesuai dengan sasaran pembaca			✓	
TOTAL SKOR					

Sumber: Triana, 2016 dengan modifikasi

Komentar:

* Secara grafis sudah bagus. Semua pas dan rata.
Mungkin yg perlu diperbaiki dg pada beberapa isi dan tata letak.

Ex : nama latin haninya miring
A. Pada gambar proses ~~dan~~ masing P. coffeee li akar
Pada perbesaran berapa kali

Saran:

.....

Kesimpulan :

Berdasarkan penilaian di atas, maka produk poster ini:

- a. Boleh dapat digunakan dan masih memerlukan konsultasi
- b. Dapat digunakan dan masih memerlukan konsultasi
- c. Dapat digunakan tanpa review

Dapat digunakan dengan sedikit revisi
Jember, 7-V-2018

Validator


Reza Liza Novenda