

PENGARUH APLIKASI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* dan  
*Bacillus subtilis* TERHADAP MORTALITAS NEMATODA PURU AKAR  
(*Meloidogyne javanica*) DI LABORATORIUM

Oleh

ISNAINY DINUL MURSYALATI YUS  
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI



UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
2014

PENGARUH APLIKASI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* dan  
*Bacillus subtilis* TERHADAP MORTALITAS NEMATODA PURU AKAR  
(*Meloidogyne javanica*) DI LABORATORIUM

Oleh

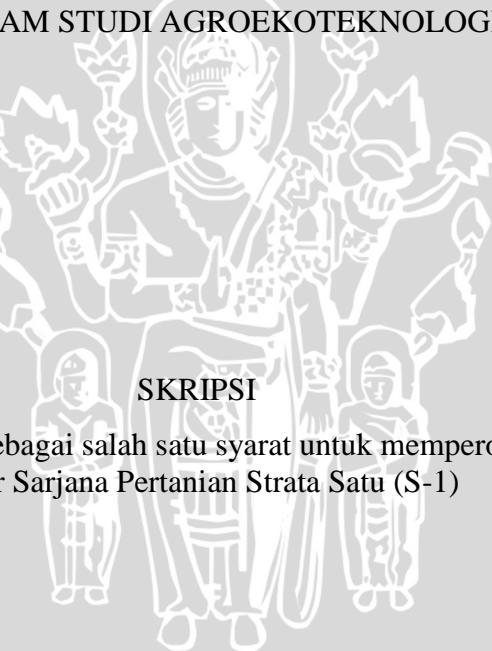
ISNAINY DINUL MURSYALATI YUS

105040201111097

MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)



UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
2014

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2014

Isnainy Dinul Mursyalati Yus



LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Pengaruh Aplikasi Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* Terhadap Mortalitas Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne javanica*) Di Laboratorium  
Nama Mahasiswa : Isnainy Dinul Mursyalati Yus  
NIM : 105040201111097  
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan  
Program Studi : Agroekoteknologi  
Minat : Nematologi  
Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU  
NIP. 19550403 198303 1 003

Dr. Ir. Toto Himawan, SU  
NIP. 19551119 198303 1 002

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU  
NIP. 19550403 198303 1 003

Tanggal Persetujuan : .....



LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan,

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS  
NIP. 19521028 197903 1 003

Penguji II

Hagus Tarno, SP., MP.,Ph.D  
NIP. 19770810 200212 1 003

Penguji III

Dr. Ir. Toto Himawan, SU  
NIP. 19551119 198303 1 002

Penguji IV

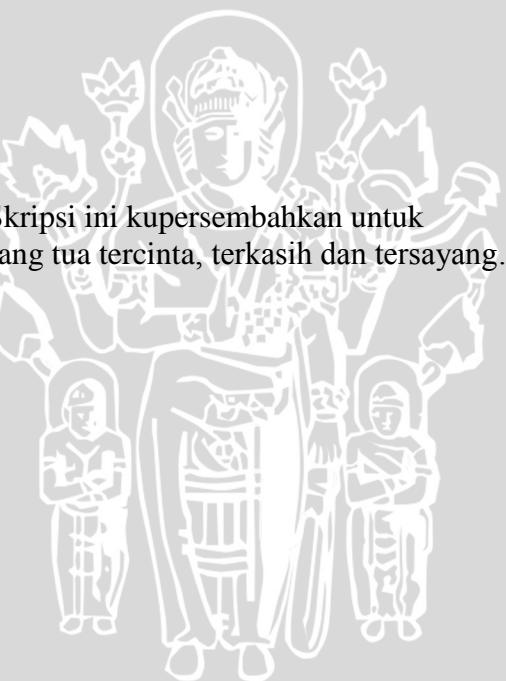
Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU  
NIP. 19550403 198303 1 003

Tanggal Lulus : .....



# UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Skripsi ini kupersembahkan untuk  
Kedua orang tua tercinta, terkasih dan tersayang...



## RINGKASAN

Isnainy Dinul Mursyalati Yus. 105040201111097. Pengaruh Aplikasi Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* terhadap Mortalitas Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne javanica*) di Laboratorium. Dibawah bimbingan Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU dan Dr. Ir. Toto Himawan, SU.

Serangan nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) terhadap berbagai tanaman berekonomi tinggi dapat menyebabkan kerusakan secara kualitatif maupun kuantitatif. Oleh karena itu, tindakan pencegahan perlu dilakukan sebelum serangan nematoda puru akar ini semakin meluas. Penggunaan musuh alami nematoda yang berasal dari kelompok organisme, seperti jamur dan bakteri dapat digunakan sebagai agen hayati. Beberapa penelitian dilaporkan sudah banyak yang menemukan beberapa isolat bakteri yang bersifat antagonis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri *Pseudomonas fluorescens* (UB\_Pf1) dan *Bacillus subtilis* (UB\_Bs1) dalam menyebabkan mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) dan pengaruh kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dalam menyebabkan mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.).

Penelitian ini dilaksanakan di Sub Laboratorium Nematologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, pada bulan April sampai Juli 2014. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf kepercayaan 95 %. Bila didapat hasil beda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNJ taraf 5 %. Untuk perhitungan Lethal Concentration (LC<sub>50</sub>) dan Lethal Time (LT<sub>50</sub>) pada mortalitas juvenil II nematoda puru akar menggunakan analisis probit Hsin chi.

Aplikasi isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) mampu menyebabkan mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Selain itu, pengaruh 3 taraf kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dapat mempengaruhi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Nilai LT<sub>50</sub> tertinggi pada aplikasi bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* kerapatan koloni 10<sup>11</sup> cfu/ml, yaitu 32,99 jam untuk bakteri *P. fluorescens* dan 56,78 jam untuk *B. subtilis*.



## SUMMARY

Isnainy Dinul Mursyalati Yus. 105040201111097. The Response of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* on Mortality of Root Knot Nematode (*Meloidogyne javanica*) in Laboratory. Supervised by Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU and Dr. Ir. Toto Himawan, SU.

The root knot nematode (*Meloidogyne* sp.) is one of important disease on some plants. This disease can reduce the quantity and quality of tubers and then causing significant yield losses. To prevent this damage, we can utilize fungi and bacteria that act as natural enemies for the nematode. Several studies had found some isolates of antagonistic bacteria. The purpose of this research are to know the ability of *Pseudomonas fluorescens* (UB\_Pf1) and *Bacillus subtilis* (UB\_Bs1) isolates for being the cause of second juvenile root knot nematode (*Meloidogyne* sp.) mortality and the effect of bacteria colonies density of *P. fluorescens* (UB\_Pf1) and *B. subtilis* (UB\_Bs1) to the second juvenile root knot nematode (*Meloidogyne* sp.) mortality.

Research was conducted in Sub Laboratory of Plant Nematology, Pest and Disease Department, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang, from April to July 2014. Randomized block design with 7 treatments and 4 replications were used to conduct this research. The data were analyzed by analysis of variance and continued by HSD post hoc on 95% confidence level. Lethal Concentration ( $LC_{50}$ ) and Lethal Time ( $LT_{50}$ ) on the second juvenile root knot nematode mortality was analyzed with Hsin chi probit analysis.

The application of *P. fluorescens* (UB\_Pf1) and *B. subtilis* (UB\_Bs1) isolates caused mortality of second juvenile root knot nematode (*M. javanica*). In addition, the effect of three levels of bacteria colonies density of *P. fluorescens* (UB\_Pf1) and *B. subtilis* (UB\_Bs1) isolates were effective to control second juvenile root knot nematode mortality (*M. javanica*). The highest value of  $LT_{50}$  was *P. fluorescens* (UB\_Pf1) and *B. subtilis* (UB\_Bs1) isolates with colony density  $10^{11}$  cfu/ml, 32,99 and 56,78 hours, respectively.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT dengan rahmat dan hidayah Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh aplikasi bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* terhadap mortalitas nematoda puru akar (*Meloidogyne javanica*) di laboratorium”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU selaku dosen utama dan Bapak Dr. Ir. Toto Himawan, SU., selaku dosen pembimbing atas segala kesabaran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada seluruh dosen atas bimbingan dan arahan yang diberikan selama ini serta kepada karyawan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada kedua orang tua tercinta dan saudara-saudara atas doa, cinta, motivasi dan dukungannya yang diberikan kepada penulis. Tidak lupa juga penulis sampaikan kepada teman-teman HPT angkatan 2010 yang tidak bisa disebutkan satu-persatu atas bantuan, dukungan dan kebersamaan selama ini. Penulis juga sampaikan terima kasih pada Yuni, Cut, Wanti dan Farid yang sudah menemani penulis selama melakukan pengamatan. Teman-teman kelas H Agroekoteknologi dan para punggawa BEM FP 2011-2013 atas bantuan, motivasi dan kebersamaan yang kalian berikan. Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2014

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Surabaya pada tanggal 18 November 1991 sebagai putri kedua dari Bapak Yusuf H. Idris dan Ibu Susilaningsih.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Sukabumi IV Probolinggo pada tahun 1998 sampai 2004, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Probolinggo pada tahun 2004 dan selesai pada tahun 2007. Pada tahun 2007 sampai tahun 2010 penulis studi di SMAN 4 Probolinggo. Pada tahun 2010 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Srata 1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur PMDK.

Selama menjadi mahasiswa penulis juga aktif di Lembaga Kedaulatan Mahasiswa sebagai anggota Badan Eksekutif Mahasiswa FP UB tahun 2011-2013 dalam departemen pengabdian masyarakat atau sosial masyarakat. Selain itu juga penulis aktif dalam kegiatan keorganisasian kedaerahan atau FORSAP (Forum Komunikasi Arek Probolinggo). Penulis juga aktif mengikuti berbagai kepanitian, kepenulisan maupun keorganisasian di tingkat fakultas, universitas maupun nasional.



**DAFTAR ISI**

Halaman

RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Deskripsi Nematoda Puru Akar ( <i>Meloidogyne</i> sp.) .....	4
2.1.1 Klasifikasi .....	4
2.1.2 Morfologi .....	4
2.1.3 Bioekologi.....	4
2.1.4 Siklus Hidup .....	5
2.1.5 Gejala yang Ditimbulkan Nematoda Puru Akar ( <i>Meloidogyne</i> sp.) .....	6
2.2 Strategi Pengendalian Nematoda Puru Akar ( <i>Meloidogyne</i> sp.) ....	7
2.3 Potensi Bakteri sebagai Pengendalian secara Biologi .....	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Tempat dan Waktu .....	11
3.2 Pelaksanaan Penelitian.....	11
3.2.1 Perbanyak Isolat Bakteri <i>P. fluorescens</i> (UB_Pf1) dan <i>B. subtilis</i> (UB_Bs1).....	11
3.2.2 Perbanyak Nematoda Puru Akar ( <i>Meloidogyne</i> sp.).....	11
3.2.3 Identifikasi Nematoda Puru Akar pada Tanaman Tomat Hasil Perbanyak.....	12
3.2.3 Uji Virulensi Isolat Bakteri <i>P. fluorescens</i> (UB_Pf1) dan <i>B. subtilis</i> (UB_Bs1) terhadap Mortalitas Juvenil II Nematoda Puru Akar ( <i>Meloidogyne</i> sp.).....	13
3.3 Analisis Data .....	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1 Hasil .....	15
4.1.1 Hasil Identifikasi Nematoda Puru Akar Pada Tanaman Tomat.....	15



4.1.2 Persentase Mortalitas Juvenil II Nematoda Puru Akar ( <i>M. javanica</i> ) .....	16
4.1.3 Lethal Concentration Bakteri <i>P. fluorescens</i> dan <i>B. subtilis</i> Terhadap Lethal Time Juvenil II Nematoda Puru Akar ( <i>M. javanica</i> ) .....	17
4.2 Pembahasan Umum .....	21
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>25</b>
5.1 Kesimpulan .....	25
5.2 Saran .....	25
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>26</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>30</b>



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Rerata persentase mortalitas dan persentase terkoreksi juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) perlakuan kerapatan koloni bakteri <i>P. fluorescens</i> dan <i>B. subtilis</i> .....	16
2.	Nilai Lethal Concentration (LC <sub>50</sub> ) dan Lethal Time (LT <sub>50</sub> ) aplikasi bakteri <i>P. fluorescens</i> dan <i>B. subtilis</i> yang diujikan pada juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) .....	18

## Lampiran

Nomor	Halaman	
1.	Analisis ragam rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>Meloidogyne javanica</i> ) pada pengamatan 6 jam .....	32
2.	Hasil uji lanjutan rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 6 jam .....	32
3.	Analisis ragam rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 12 jam .....	33
4.	Hasil uji lanjutan rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 12 jam .....	33
5.	Analisis ragam rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 24 jam .....	34
6.	Hasil uji lanjutan rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 24 jam .....	35
7.	Analisis ragam rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 6 jam .....	36
8.	Hasil uji lanjutan rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 6 jam .....	36
9.	Analisis ragam rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 12 jam .....	38
10.	Hasil uji lanjutan rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 12 jam .....	38
11.	Analisis ragam rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) pada pengamatan 24 jam .....	39



12. Hasil uji lanjutan rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 24 jam ..... 39



**DAFTAR GAMBAR**

Nomor	Teks	Halaman
1.	Siklus hidup nematoda puru akar ( <i>Meloidogyne sp.</i> ).....	6
2.	Akar tanaman tomat .....	7
3.	Hasil identifikasi nematoda puru akar pada tanaman tomat. ....	15
4.	Grafik LC <sub>50</sub> isolat bakteri <i>P. fluorescens</i> dan <i>B. subtilis</i> .....	19
5.	Grafik hubungan mortalitas dengan waktu pada perlakuan bakteri <i>P. fluorescens</i> terhadap juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ) .....	20
6.	Grafik hubungan mortalitas dengan waktu pada perlakuan bakteri <i>B. subtilis</i> terhadap juvenil II nematoda puru akar ( <i>M. javanica</i> ). ....	21

**Lampiran**

Nomor	Halaman	
1.	Tanaman tomat.....	31



## 1.1 Latar Belakang

Semakin beragamnya serangan nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) terhadap berbagai tanaman berekonomi tinggi menyebabkan terganggunya pertumbuhan tanaman tersebut hingga menyebabkan kematian bila serangannya berat. Sebagai tindakan pencegahan, informasi mengenai berbagai spesies dan populasi nematoda pada suatu daerah menjadi suatu faktor yang sangat penting. Menurut Sikora dan Fernandez (2005), kerusakan yang diakibatkan oleh nematoda puru akar pada berbagai tanaman, baik di daerah tropik maupun subtropik cukup besar sehingga sangat merugikan secara ekonomi.

Penggunaan musuh alami nematoda berasal dari berbagai kelompok organisme, misalnya jamur dan bakteri. Mekanisme pengendalian hayati terjadi akibat adanya interaksi mikroorganisme, baik secara langsung maupun tidak langsung. Berdasarkan Pal dan McSpadden (2006), interaksi secara langsung antara agens hayati dengan *Meloidogyne* sp. bisa terjadi melalui parasitisme, predasi dan adanya senyawa beracun atau antibiosis. Sedangkan interaksi tidak langsung adalah akibat agens hayati mengeluarkan senyawa yang menginduksi ketahanan tanaman.

Agens hayati yang sesuai untuk mengendalikan nematoda adalah yang memiliki kelebihan sebagai zat pengatur tumbuh (ZPT), bersifat sebagai bakteri parasit obligat, sedangkan dari kelompok jamur yaitu yang bisa memparasit telur dan induk betina atau sebagai jamur predator, serta endomikoriza (de Medeiros *et al.*, 2009). Beberapa jenis bakteri, baik bakteri rizosfer maupun endofit perakaran tanaman dilaporkan banyak memiliki kemampuan sebagai agens hayati. Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi potensi bakteri sebagai agens antagonis adalah dengan melihat karakter fisiologisnya.

Ditinjau dari segi keamanan lingkungan, pengendalian nematoda dengan menggunakan agens hayati baik jamur ataupun bakteri merupakan alternatif pilihan yang lebih baik dibandingkan dengan cara konvensional



yang menggunakan pestisida kimia. Siddiqui dan Mahmood (1998) menyatakan bahwa kelompok bakteri yang banyak digunakan sebagai agens hidupi nematoda puru akar, antara lain *Pasteuria penetrans*, kelompok *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Berdasarkan penelitian El-Hamshary *et al.* (2006) menemukan bahwa *Pseudomonas fluorescens* dan *P. aeruginosa* memberikan pengaruh pada juvenil *Meloidogyne incognita* dalam kajian secara invitro dan juga berpengaruh pada persentase mortalitas nematode, baik dalam konsentrasi bakteri dan interval waktu. Berdasarkan hasil penelitian Dawar *et al.* (2008), mortalitas dari *Meloidogyne* sp., menyebabkan mortalitas hingga 50% dalam interval waktu. Hal ini diakibatkan adanya pengaruh dari *Bacillus subtilis*, *B. thuringiensis* dan *B. cereus*.

Belum banyak pengendalian nematoda dengan menggunakan jamur dan bakteri untuk diaplikasikan dalam skala pertanian. Padahal penelitian-penelitian yang dilakukan sudah banyak yang menemukan berbagai jenis jamur maupun bakteri yang bersifat antagonis. Oleh karena itu, diharapkan dengan adanya penelitian ini, pengembangan mikroba bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* yang sudah ditemukan pada penelitian sebelumnya dapat digunakan sebagai agens hidupi dalam menekan populasi nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) pada skala laboratorium untuk dapat ditemukan formulasi yang tepat dan efisien dalam pemanfaatannya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dapat menyebabkan mortalitas pada juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.)?
2. Apakah kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dapat mempengaruhi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.)?



### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dalam menyebabkan mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.).
2. Untuk mengetahui pengaruh kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dalam mempengaruhi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.).

### 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) mampu menyebabkan mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.).
2. Berbagai tingkat kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) mampu menyebabkan mortalitas juvenil nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.).

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi alternatif pengendalian nematoda puru akar dengan menggunakan isolat *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1).



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp.)

#### 2.1.1 Klasifikasi

*Meloidogyne* sp. termasuk dalam Kingdom Animalia, Filum Nematoda, Ordo Tylenchida, Famili Heteroderidae, dan Genus *Meloidogyne* (Agrios, 1988).

#### 2.1.2 Morfologi

Menurut Dropkin (1991), nematoda betina berwarna transparan dan bentuknya seperti pir dengan panjang lebih dari 0,5 mm dan lebarnya antara 0,3 - 0,4 mm. Stiletnya lemah, panjang stilet 12 - 15  $\mu$ m, melengkung ke arah dorsal. Memiliki pangkal knop yang jelas. Nematoda betina dewasa mempunyai leher pendek dan tanpa ekor. Memiliki pola yang jelas pada *striae* (tanda linear) yang terdapat disekitar vulva dan anus yang disebut pola perineal yang dapat dipergunakan untuk identifikasi jenis.

Berbeda dengan nematoda betina, nematoda jantan dewasa bentuknya memanjang dan bergerak lambat didalam tanah. Ukuran panjang tubuh nematoda jantan bervariasi dengan panjang maksimum 2 mm. Nematoda jantan memiliki kepala yang tidak berlekuk dan panjang stiletnya hampir 2 kali panjang stilet nematoda betina (Dropkin, 1991 ).

#### 2.1.3 Bioekologi

Pada umumnya *Meloidogyne* sp., berkembangbiak secara partenogenetik dengan fase telur yang terdiri dari 4 stadium larva dan dewasa. Pergantian kulit pertama kali terjadi didalam telur, sedangkan 3 pergantian berikutnya terjadi didalam jaringan tanaman (Sastrahidayat, 1990).

Pada fase hidup bebas, larva stadium kedua infektif melakukan migrasi melalui tanah untuk menemukan akar tanaman yang sesuai. Bila telur-telur yang dihasilkan didalam puru atau didalam umbi tanaman maka larva yang telah menetas dapat berpindah kesisi

makanan lain tanpa harus muncul keatas permukaan tanah (Franklin dalam Southey, 1982). Larva kemudian masuk kedalam jaringan tanaman dan bergerak kearah silinder pusat. Seringkali juga berada didaerah pertumbuhan akar samping. Di daerah dekat silinder pusat tersebut, larva menetap dan menyebabkan perubahan sel yang menjadi nantinya akan menjadi makanannya. Larva selanjutnya menggelembung dan melakukan pergantian kulit untuk kedua dan ketiga kalinya tanpa makan. Selanjutnya larva akan menjadi jantan dewasa atau betina dewasa.

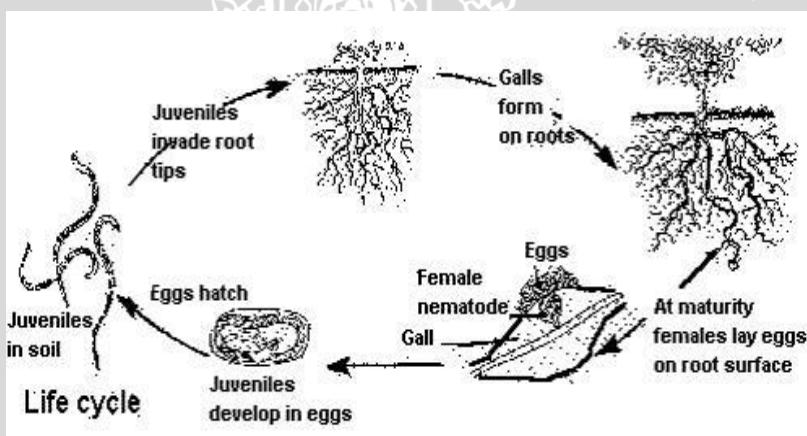
Penentuan jenis kelamin ini ditentukan oleh faktor lingkungan. Pada kondisi tertekan atau stres, misalnya kepadatan tinggi, suhu tinggi, cadangan makanan sedikit atau ketidaksesuaian tanaman inang maka presentase jantan lebih besar. Menurut Dropkin (1991), nematoda jantan akan lebih banyak terbentuk jika akar terserang berat dan zat makanan tidak mencukupi untuk perkembangan nematoda. Nematoda jantan berbentuk memanjang didalam kutikula stadium larva keempat selanjutnya keluar dari jaringan akar, sedangkan nematoda betina masih berada didalam jaringan tanaman dengan bagian posterior tubuhnya berada pada permukaan akar. Nematoda betina tersebut terus-menerus menghasilkan telur selama siklus hidupnya, kadang-kadang mencapai jumlah lebih dari 1000 telur (Dropkin, 1991).

#### 2.1.4 Siklus Hidup

Lamanya siklus hidup dari telur hingga dewasa berlangsung 3 minggu sampai beberapa bulan, tergantung pada kondisi lingkungan dan tumbuhan inangnya (Sastrahidayat, 1990). Dari telur hingga menjadi larva instar kedua berlangsung selama 7 sampai 10 hari. Di Filipina pada suhu 25°C sampai 29°C *Meloidogyne incognita* memerlukan waktu 15 hari untuk bertelur setelah inokulasi dari larva stadia kedua pada tanaman tomat. Tetapi umumnya *M. incognita* memproduksi massa telur setelah inokulasi dalam waktu 18 sampai 20 hari. Pada temperatur antara 22°C sampai 26°C sejumlah besar larva *Meloidogyne* spp., memasuki perakaran dalam waktu 24 jam dan

menetap di dalam posisi memakan antara 2 atau 3 hari. Tubuh berkembang sekitar 6 hari setelah masuk dan perbedaan jenis kelamin tampak setelah 12 hari. Pergantian kulit kedua dalam waktu 18 hari diikuti dengan pergantian kulit ketiga dan keempat antara 18 sampai 24 hari.

Nematoda betina tumbuh dengan cepat antara hari ke 24 sampai hari ke 30. Massa telur tampak setelah hari ke 27 sampai hari ke 30. Taylor dan Sasser (1978) menyatakan bahwa telur-telur nematoda puru akar mulai tersimpan pada hari ke 30 sampai pada hari ke 40. Hasil observasi lapang menunjukkan adanya nematoda betina yang terus-menerus menghasilkan telur selama 2 sampai 3 bulan tanpa kawin dan terus hidup untuk beberapa waktu lamanya setelah berhenti menghasilkan telur.



Gambar 1. Siklus hidup nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) (Sumber: Anonymous, 2014)

### 2.1.5 Gejala yang Ditimbulkan Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp.)

Nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) menyerang pada bagian tanaman yang ada dibawah permukaan tanah terutama akar, umbi, dan polong. Gejala pada bagian tanaman tersebut dikenal dengan sebutan puru. Pada akar, serangan nematoda ini menyebabkan berkurangnya volume dan efisiensi fungsi sistem perakaran. Akar yang terserang berat lebih pendek daripada akar yang sehat dengan sedikit akar lateral dan rambut akar.

Gangguan pada sistem perakaran ini menyebabkan berkurangnya penyerapan air dan nutrisi dari dalam tanah sehingga menimbulkan gejala yang tampak seperti malnutrisi dan kekurangan air. Hal ini menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat (kerdil), daun layu pada siang hari, menguning, jumlah bunga dan buah menjadi berkurang. Akar tanaman yang terserang nematoda akan menjadi membengkak atau memanjang dengan bervariasi. Ini disebabkan karena adanya nematoda betina, telur, dan larva. Prasasti (2012) menyatakan bahwa betina yang dewasa akan menimbulkan pembengkakan pada akar tanaman, sedangkan nematoda jantan akan menimbulkan bisul-bisul yang berbau busuk pada akar.



(a)



(b)

Gambar 2. Akar tanaman tomat: (a) akibat serangan nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.); (b) akar tanaman tomat yang sehat (Sumber: Foto pribadi).

## 2.2 Strategi Pengendalian Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp.)

Pengendalian nematoda secara terpadu dilakukan dengan menggabungkan beberapa komponen pengendalian kedalam suatu sistem. Komponen-komponen utama pengendalian nematoda terpadu adalah teknik budidaya (varietas tahan atau toleran, pergiliran tanaman, tanaman perangkap, bahan organik), agens hayati, pestisida (nabati dan kimia), dan karantina.

a. Pengendalian secara Teknik Budidaya

- Varietas tahan atau toleran

Umumnya kehilangan hasil akibat serangan nematoda dapat ditekan melalui pergiliran tanaman. Tanaman yang sangat peka hanya boleh ditanam sekali dalam 2 sampai 8 tahun. Oleh karena itu, untuk menekan perkembangbiakan nematoda tertentu, kultivar tahan harus selalu tersedia. (Mustika, 2005).

- Pergiliran tanaman dan tanaman perangkap

Beberapa jenis tanaman dapat berfungsi sebagai tanaman perangkap (*trap crop*) yang diusahakan dalam bentuk pola tanam seperti pergiliran tanaman atau tumpang sari, diantaranya tagetes (*Tagetes patula*), jarak (*Ricinus communis*) dan wijen (*Sesamum indicum*). Jarak dan wijen digunakan sebagai tanaman perangkap dalam pola pergiliran tanaman kacang tanah, kedelai, dan kapas untuk mengendalikan nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.). Tanaman jarak dan wijen tersebut sangat efektif dalam menekan populasi *Meloidogyne* sp., karena mengeluarkan eksudat akar yang toksik terhadap nematoda (Mustika, 2005).

- Bahan organik

Penambahan bahan organik ke dalam tanah meningkatkan daya tanah menahan air dan kesuburan tanah, sehingga pertumbuhan tanaman meningkat dan tanaman lebih tahan terhadap serangan nematoda. Berbagai musuh alami, khususnya jamur dan invertebrata predator terpacu, sementara senyawa kimia yang bersifat racun terhadap nematoda (seperti ammonia, nitrit, hidrogen sulfida (HCN) dan asam-asam organik) dilepas kedalam tanah selama proses dekomposisi (Mustika, 2005).

b. Pengendalian secara biologi

Pemanfaatan musuh alami sebagai pengendalian biologi nematoda bukanlah hal yang baru. Salah satu kelompok musuh alami nematoda yaitu perangkap jamur. Hampir semua spesies jamur adalah parasit fakultatif yang mudah dikembangkan. Di Perancis, salah satu isolat yang berhasil

dikomersialkan adalah *Arthrobotrys* sp. yang digunakan sebagai salah satu pengendalian nematoda puru akar pada tanaman tomat (Cayrol, 1983). Beberapa spesies jamur yang dapat digunakan sebagai agens hidup nematoda adalah jamur *Rhopalomyces elegans* (Baron, 1977), *Nematophthora gynophila* Kerry dan Crump, *Catenaria auxillaris* (Kuhn) Tribe, *Verticillium chlamydosporium* Goddard dan spesies lagenidiaceous yang memparasit keduanya, yaitu telur dan dewasa nematoda sista kuning (Sayre, 1986).

Tidak hanya kelompok jamur, dari kelompok bakteri seperti *B. penetrans* merupakan patogen bakteri nematoda parasit tanaman (Mankau, 1975). Sebagai konsekuensi dari beberapa penelitian, nama *B. penetrans* dipertanyakan oleh Sayre dan Starr (1985), yang mengusulkan bahwa bakteri menjadi ditunjuk *Pasteuria penetrans*.

#### c. Pengendalian secara kimia

Penggunaan pestisida kimia harus merupakan alternatif terakhir apabila teknik pengendalian lainnya dinilai tidak berhasil dan harus dilakukan secara bijaksana (Mustika, 2005).

### **2.3 Potensi Bakteri sebagai Pengendalian secara Biologi**

Salah satu alternatif baru pengendalian nematoda yang ramah lingkungan adalah dengan pemanfaatan bakteri endofit. Harni *et al.* (2010) melaporkan bahwa isolat bakteri endofit dari genus *Bacillus* sp. mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menekan populasi nematoda peluka akar *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. Li *et al.* (2002) juga melaporkan bahwa produksi senyawa toksik dalam kultur filtrat dari bakteri endofit *Bulkholderia ambifaria* berasal dari akar tanaman jagung dapat menghambat penetasan telur dan mobilitas dari larva stadia kedua *M. incognita*. Sedangkan hasil dari Siddiqui dan Shaukat (2003) menyatakan bahwa *P. aeruginosa* dan yang dihasilkan oleh bakteri endofit *P. fluorescens* adalah 2,4 *diacetyl-pholoroglucinol* yang dapat menurunkan penetasan telur dan membunuh larva *M. javanica*.

Mekanisme bakteri agens hayati terhadap nematoda puru akar bisa terjadi melalui parasitisme, gangguan terhadap nematoda dalam mengenali inangnya, dan peningkatan kekebalan tanaman melalui terbentuknya produksi metabolit sekunder yang seringkali bersifat nematisidal (Sikora *et al.* 2007). Selain itu, salah satu indikator yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi potensi bakteri sebagai agen antagonis adalah dengan melihat karakter fisiologisnya. Munif (2001) menyatakan bahwa beberapa karakter fisiologis yang dapat digunakan diantaranya kemampuan bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler (kitinase, protease, dan selulase), hydrogen sianida (HCN), pelarut fosfat, dan aktivitas fluoresensi.

Bakteri yang bersifat kitinolitik sangat potensial digunakan sebagai pengendali hayati, dikarenakan bakteri ini mengeluarkan enzim yang dapat menguraikan dinding sel jamur, nematoda maupun hama yang mempunyai komponen kitin. Patil *et al.* (2000) menyatakan bahwa enzim kitinolitik pada bakteri merupakan enzim ekstraseluler untuk pengambilan nutrisi dan parasitisme dalam pengendalian penyakit tanaman secara biologi. Genus bakteri yang sudah banyak dilaporkan memiliki kitinase antara lain *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Ewingella*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Seratia*, *Vibrio* (Gooday, 1994), *Bacillus* dan *Pyrococcus* (Harman *et al.*, 1993).

Genus *Bacillus* merupakan salah satu mikroorganisme penghasil antibiotik yang dihasilkan dari metabolit sekunder dari suatu organisme tertentu dalam jumlah kecil sehingga mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan organisme lain (Ganiswara, 1995), selain *Micromonospora*, *Streptomyces*, *Actinomycetes* (Crueger, 1984). Beberapa spesies dari genus *Bacillus* menghasilkan antibiotika dari golongan polipeptida, antara lain polimiksin oleh *B. polymoxa* dan basitrasin oleh *B. subtilis*. Antibiotik-antibiotik ini memiliki aktivitas yang tinggi terhadap bakteri gram negatif (Madigan, 1997). Beberapa antibiotik diperoleh dari berbagai mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan yang ekstrim, seperti daerah dengan suhu tinggi, suhu rendah, laut bagian dalam, padang pasir, lapisan es, sumber air panas dan minyak.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Sub Laboratorium Nematologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang pada bulan April sampai dengan bulan Juli 2014.

### 3.2 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.2.1 Perbanyakan Isolat Bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1)

Isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) merupakan koleksi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Univesitas Brawijaya diperbanyak menggunakan media NB (*Nutrient Broth*). Koloni bakteri yang terbentuk disuspensikan dalam air steril untuk mendapatkan suspensi bakteri dengan kerapatan koloni  $10^7$ ,  $10^9$  dan  $10^{11}$  cfu/ml. Pengukuran nilai absorban menggunakan spektofotometer (OD<sub>660</sub>=1).

#### 3.2.2 Perbanyakan Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp.)

*Meloidogyne* sp. diambil dari tanaman tomat yang terserang di lapang. Akar yang terpuru kemudian dibelah untuk diambil nematoda puru akar betina dengan menggunakan jarum. Warna nematoda puru akar betina ini akan tampak berwarna putih bening ketika berada diantara jaringan akar tanaman tomat. Nematoda puru akar betina ini kemudian dikumpulkan dalam cawan petri yang berisi aquades. Kemudian nematoda puru akar betina dicuci dengan NaOCl 0,5% selama lebih kurang 10 detik, kemudian dibilas dengan aquades. Selanjutnya persiapkan bibit tomat yang berumur 3 minggu dan siramkan pada bibit tanaman tomat.

Tanaman tomat hasil perbanyakan nematoda puru akar ini kemudian diambil kembali dengan cara dan perlakuan yang sama dengan sebelumnya. Setelah dicuci dengan NaOCl 0,5% dan dibilas dengan aquades kemudian hasil pencucian diletakkan didalam cawan

petri yang berisi aquades. Inkubasi selama lebih kurang 5- 7 hari sampai kebutuhan juvenil II nematoda puru akar ini tercukupi. Selama 5-7 hari ini nantinya telur-telur nematoda akan menjadi juvenil II. Juvenil II nematoda puru akar ini kemudian akan dihitung jumlah tiap mililiter (ml) yang akan digunakan didalam penelitian.

### 3.2.3 Identifikasi Nematoda Puru Akar pada Tanaman Tomat Hasil Perbanyakan

Identifikasi sidik pantat nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) menggunakan nematoda puru akar yang menyerang akar tanaman tomat. Kemudian akar tanaman tomat dibelah secara hati-hati dengan menggunakan jarum agar nematoda betina tidak pecah. Selanjutnya pindahkan ke kaca preparat yang kering dan amati dibawah mikroskop stereo. Tusuk bagian kepala nematoda dengan jarum sehingga seluruh isi tubuh nematoda keluar dari dalam tubuhnya. Setelah nematoda kempis, bagian posterior (pantat) nematoda dipotong dengan menggunakan silet. Pemotongan bagian posterior ini dilakukan dengan memotong 1/3 dari bagian tubuh nematoda. Pada kaca preparat diberi sedikit air untuk membersihkan bagian posterior (pantat) nematoda dari cairan maupun telur nematoda. Harus dipastikan bagian tubuh nematoda tersebut dalam keadaan telungkup. Kemudian kaca preparat tersebut ditutup dengan penutup kaca preparat dan diamati dengan menggunakan mikroskop medan terang. Selanjutnya identifikasi spesies nematoda dengan mengamati struktur morfologi atau sidik pantat nematoda tersebut.

Hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan preparat adalah peletakkan potongan tubuh nematoda diatas kaca preparat. Dalam peletakannya, potongan tubuh nematoda bagian posterior (pantat) tersebut harus dipastikan dalam keadaan telungkup. Apabila posisi potongan tubuh terbalik, potongan tubuh dibalikkan dengan menggeser geser penutup kaca preparat maka preparat akan sulit diidentifikasi dan kembali membuat preparat yang baru.

### 3.2.3 Uji Virulensi Isolat Bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) terhadap Mortalitas Juvenil II Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp.)

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan 7 perlakuan dan diulang sebanyak 4 kali.

No.	Kode	Perlakuan
1.	P1	UB_Pf1 kerapatan koloni $10^{11}$ cfu/ml
2.	P2	UB_Pf1 kerapatan koloni $10^9$ cfu/ml
3.	P3	UB_Pf1 kerapatan koloni $10^7$ cfu/ml
4.	B1	UB_Bs1 kerapatan koloni $10^{11}$ cfu/ml
5.	B2	UB_Bs1 kerapatan koloni $10^9$ cfu/ml
6.	B3	UB_Bs1 kerapatan koloni $10^7$ cfu/ml
7.	K	Kontrol

Pengujian dilakukan dengan memasukkan 35 juvenil II nematoda puru akar kedalam cawan petri yang kemudian ditambah dengan suspensi bakteri (sesuai perlakuan). Selanjutnya pengamatan dilakukan terhadap mortalitas juvenil II nematoda ini setelah 6, 12 dan 24 jam berlangsungnya perlakuan dibawah mikroskop stereoskop. Pengamatan dengan menghitung jumlah nematoda yang mati dalam berbagai tingkat kerapatan koloni bakteri untuk menghitung persentase mortalitas juvenil II nematoda puru akar.

Persentase mortalitas dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{mortalitas} = \frac{\Sigma \text{ nematoda yang mati}}{\Sigma \text{ nematoda uji}} \times 100\%$$

Bila pada kontrol terdapat kematian (tidak lebih dari 20%) maka persentase kematian perlu dikoreksi dengan rumus Abbot (1925), yaitu

$$p = \frac{x - y}{x} \times 100\%$$

Keterangan :

p : persentase kematian yang terkoreksi

x : persentase nematoda yang hidup pada control

y : persentase nematoda yang hidup pada perlakuan

### 3.3 Analisis Data

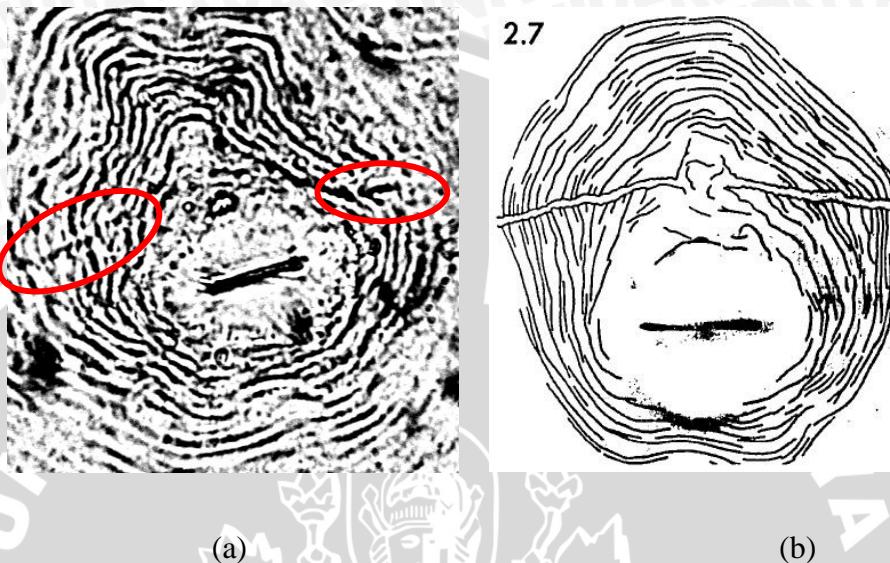
Data pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dengan taraf kepercayaan 95 %. Bila hasil pengujian diperoleh beda nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey HSD menggunakan program SPSS Statistik 17.0 (SPSS, 2008). Sedangkan untuk perhitungan LC<sub>50</sub> dan LT<sub>50</sub> pada persentase mortalitas dianalisis menggunakan analisis probit program Hsin chi (Hsin chi, 1997).



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Hasil Identifikasi Nematoda Puru Akar Pada Tanaman Tomat



Gambar 3. Hasil identifikasi nematoda puru akar pada tanaman tomat diperoleh seperti pada gambar 3: (a) adanya garis lateral yang sangat jelas; (b) pola sidik pantat menurut Eisenback *et al.*, (1981).

Berdasarkan pengamatan ciri-ciri khusus pola sidik pantat yang dimiliki nematoda betina terdapat 4 spesies nematoda puru akar ialah *Meloidogyne arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, dan *M. javanica*. Dari keempat spesies yang ada, hasil pengamatan yang dilakukan pada sidik pantat betina yang digunakan dalam penelitian ini ialah *M. javanica*. Hal ini dikarenakan pada *M. javanica* dicirikan oleh 2 garis lateral yang sangat jelas (Gambar 3a). Pola sidik pantat merupakan salah satu teknik identifikasi nematoda yang diperkenalkan oleh Eisenback *et al.*, (1981). Teknik identifikasi ini telah umum digunakan untuk melakukan identifikasi spesies *Meloidogyne* walaupun belakangan ini pendekatan biologi molekul diyakini lebih cepat dan lebih akurat untuk digunakan sebagai teknik identifikasi nematoda (Esbenshade dan Tirantaphyllou, 1990).

#### 4.1.2 Persentase Mortalitas Juvenil II Nematoda Puru Akar (*M. javanica*)

Berdasarkan analisis ragam terhadap mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) setelah aplikasi bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis*, terlihat bahwa kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis*  $10^7$ ,  $10^9$  dan  $10^{11}$  cfu/ml pada pengamatan 6, 12 dan 24 jam berpengaruh signifikan terhadap mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) ( $p < 0,05$ ) (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* dalam 3 taraf kerapatan koloni bakteri memiliki pengaruh signifikan terhadap mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*).

Tabel 1. Rerata persentase mortalitas dan persentase terkoreksi juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) perlakuan kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis*.

Perlakuan	Mortalitas (%)			Persentase terkoreksi (%)		
	6 jam	12 jam	24 jam	6 jam	12 jam	24 jam
<i>P. fluorescens</i> $10^{11}$ cfu/ml	16,43b	31,42b	42,85b	16,43b	31,07b	41,54b
<i>P. fluorescens</i> $10^9$ cfu/ml	2,85ab	12,14ab	16,42a	2,85ab	11,55ab	14,06a
<i>P. fluorescens</i> $10^7$ cfu/ml	2,85ab	8,57a	11,42a	2,85ab	7,93a	8,84a
<i>B. subtilis</i> $10^{11}$ cfu/ml	8,57ab	13,57ab	29,28ab	8,57ab	12,98ab	27,24ab
<i>B. subtilis</i> $10^9$ cfu/ml	2,85ab	7,14a	17,14ab	2,85ab	6,49a	14,60a
<i>B. subtilis</i> $10^7$ cfu/ml	2,14a	5a	8,57a	2,14a	4,30a	5,86a
Kontrol	0	0,7	2,85	0	0	0

Keterangan :

\*) n = 35

\*\*) Angka-angka yang diikuti oleh huruf berbeda, berarti berbeda nyata pada uji Tukey HSD ( $p=0,05$ ).

Mortalitas tertinggi dimasing-masing pengamatan 6, 12 dan 24 jam yaitu pada perlakuan kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens*  $10^{11}$  cfu/ml masing-masing sebesar 16,43 persen; 31,42 persen dan 42,85



persen (Tabel 1). Pada perlakuan bakteri *P. fluorescens* dengan kerapatan koloni  $10^9$  cfu/ml dan  $10^7$  cfu/ml pada pengamatan 12 jam terjadi kenaikan mortalitas, yaitu masing-masing 12,14 persen dan 8,57 persen dari 2,85 persen nilai persentase mortalitas pada pengamatan 6 jam. Sedangkan pada pengamatan 24 jam nilai persentase mortalitas pada perlakuan *P. fluorescens* dengan kerapatan koloni  $10^9$  dan  $10^7$  cfu/ml semakin naik yakni sebesar 16,42 persen dan 11,42 persen.

Tidak jauh berbeda pada perlakuan bakteri *B. subtilis*. Pada kerapatan koloni bakteri *B. subtilis*  $10^{11}$  cfu/ml juga menyebabkan mortalitas tertinggi dibanding dengan 2 perlakuan *B. subtilis* lainnya, yaitu pada kerapatan koloni  $10^9$  dan  $10^7$  cfu/ml. Perlakuan bakteri *B. subtilis* pada kerapatan  $10^{11}$  cfu/ml, yaitu sebesar 8,57 persen pada pengamatan 6 jam; 13,57 persen pada pengamatan 12 jam dan 29,28 persen pada pengamatan 24 jam. Pada perlakuan kerapatan koloni bakteri *B. subtilis*  $10^9$  dan  $10^7$  cfu/ml pada pengamatan 12 jam mengalami kenaikan persentase mortalitas, yaitu masing-masing sebesar 7,14 persen dan 5 persen. Selanjutnya dipengamatan 24 jam mengalami kenaikan nilai persentase mortalitas sebesar 17,14 persen pada kerapatan koloni bakteri *B. subtilis*  $10^9$  cfu/ml dan 8,57 persen pada kerapatan koloni bakteri *B. subtilis*  $10^7$  cfu/ml.

Pada kontrol juga mengalami mortalitas pada juvenil II nematoda puru akar dipengamatan 12 dan 24 jam. Dikarenakan kematian tidak lebih dari 20 persen, maka nilai persentase mortalitas dikoreksi menggunakan rumus abbot (1925). Terlihat bahwa nilai persentase terkoreksi juvenil II nematoda puru akar ini tidak jauh berbeda dengan nilai persentase mortalitas, yakni pada pengamatan 6, 12 dan 24 jam berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ).

#### **4.1.3 Lethal Concentration Bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* Terhadap Lethal Time Juvenil II Nematoda Puru Akar (*M. javanica*)**

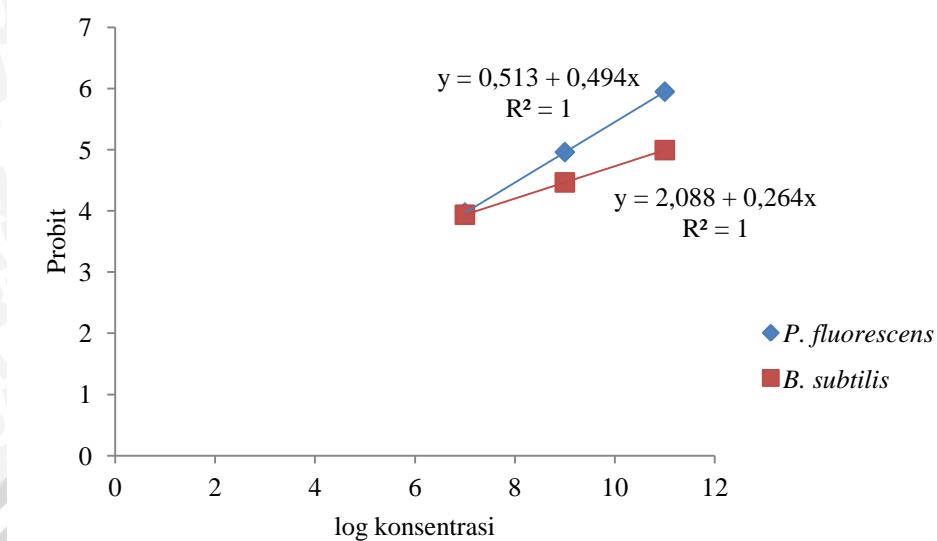
Median Lethal Concentration adalah konsentrasi yang digunakan untuk dapat menyebabkan kematian 50% dari populasi hewan uji. Berdasarkan Tabel 2. aplikasi bakteri *P. fluorescens* yang

berpotensi menyebabkan kematian 50% pada juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada kerapatan bakteri  $1 \times 10^{11}$  cfu/ml. Persamaan garis regresi  $y = 0,513 + 0,494x$  yang menunjukkan bahwa setiap kenaikan nilai koefisien x (konsentrasi), maka nilai dari koefisien y (probit) akan mengalami kenaikan sebesar 0,513. Sedangkan pada aplikasi bakteri *B. subtilis* yang berpotensi menyebabkan kematian 50% pada juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada kerapatan  $1 \times 10^{13}$  cfu/ml. Persamaan garis regresi  $y = 2,088 + 0,264x$  yang menunjukkan bahwa setiap kenaikan nilai koefisien x (konsentrasi), maka nilai koefisien y (probit) akan mengalami kenaikan sebesar 2,088.

Tabel 2. Nilai Lethal Concentration ( $LC_{50}$ ) dan Lethal Time ( $LT_{50}$ ) aplikasi bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* yang diujikan pada juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*)

Isolat	$LC_{50}$ (cfu/ml)	LT <sub>50</sub> (jam)		
		$10^{11}$ cfu/ml	$10^9$ cfu/ml	$10^7$ cfu/ml
<i>P. fluorescens</i> (UB_Pf1)	$1 \times 10^{11}$	32,99	110,45	239,74
<i>B. subtilis</i> (UB_Bs1)	$1 \times 10^{13}$	56,78	70,96	278,18

Terlihat bahwa kerapatan bakteri *P. fluorescens* lebih rendah dibandingkan dengan kerapatan bakteri *B. subtilis* dalam menyebabkan kematian 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Artinya dengan kerapatan  $1 \times 10^{11}$  cfu/ml pada bakteri *P. fluorescens* sudah dapat menyebabkan kematian hingga 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Sedangkan pada bakteri *B. subtilis* membutuhkan kerapatan bakteri yang tinggi yaitu  $1 \times 10^{13}$  cfu/ml untuk dapat menyebabkan kematian hingga 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*).

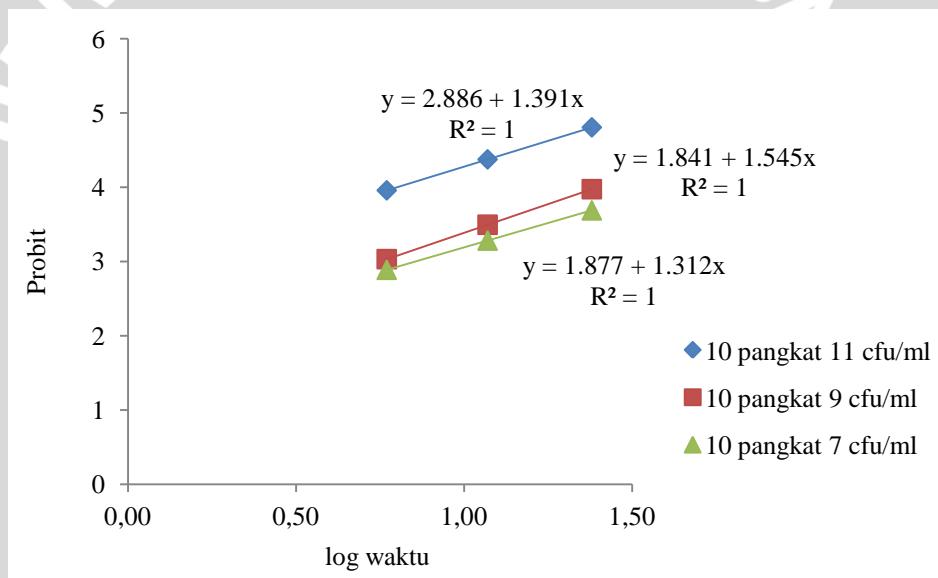


Gambar 4. Grafik LC<sub>50</sub> isolat bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis*

Median Lethal Time adalah waktu yang dibutuhkan untuk dapat menyebabkan kematian 50% dari populasi hewan uji. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setiap perlakuan mempunyai nilai LT<sub>50</sub> yang berbeda-beda. Dari Tabel 2. terlihat bahwa pada perlakuan bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* dengan kerapatan koloni 10<sup>11</sup> cfu/ml yang memiliki nilai LT<sub>50</sub> sebesar 32,99 jam dan 56,78 jam, yang artinya setelah 32,99 jam aplikasi bakteri *P. fluorescens* dengan kerapatan 10<sup>11</sup> cfu/ml sudah dapat menyebabkan kematian 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Sedangkan pada aplikasi bakteri *B. subtilis* pada kerapatan 10<sup>11</sup> cfu/ml, pada 56,78 jam setelah aplikasi menyebabkan kematian 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*).

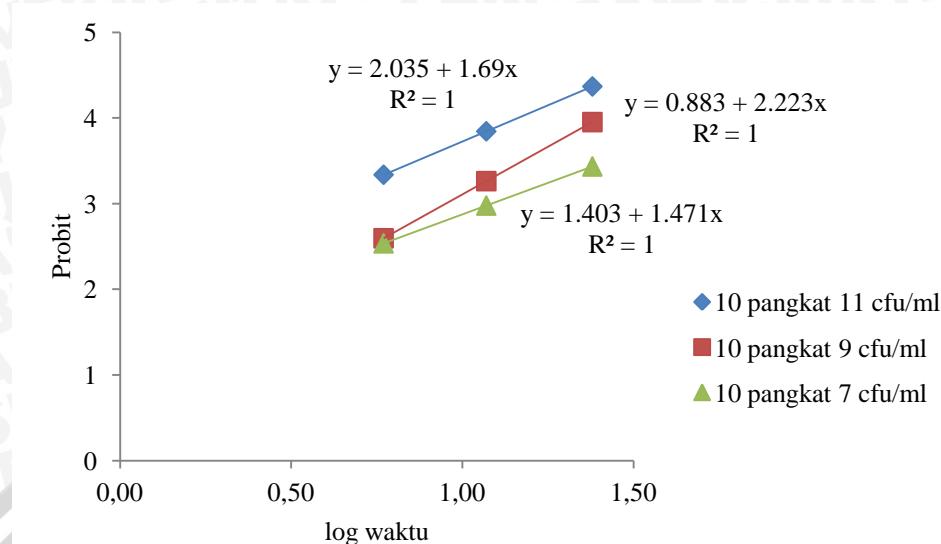
Nilai LT<sub>50</sub> tertinggi pada bakteri *B. subtilis* dengan kerapatan 10<sup>7</sup> cfu/ml yaitu sebesar 278,18 jam, yang artinya 278,18 jam setelah aplikasi bakteri *B. subtilis* dengan kerapatan 10<sup>7</sup> cfu/ml akan menyebabkan kematian 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Sedangkan pada perlakuan bakteri *P. fluorescens* pada kerapatan 10<sup>7</sup> cfu/ml, nilai LT<sub>50</sub> sebesar 239,74 jam, yang artinya 239,74 jam setelah aplikasi bakteri akan menyebabkan kematian 50%

juvenile II nematoda puru akar (*M. javanica*). Dari hasil pengujian ketiga kerapatan bakteri dari isolat bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis*, kerapatan bakteri  $10^{11}$  cfu/ml menyebabkan kematian juvenile II nematoda puru akar (*M. javanica*) lebih cepat dibandingkan dengan kerapatan bakteri  $10^9$  dan  $10^7$  cfu/ml. Hal ini diduga kerapatan tinggi menghasilkan senyawa toksik yang lebih banyak dibanding dengan kerapatan rendah, sehingga waktu kematian ( $LT_{50}$ ) pada juvenile II nematoda puru akar (*M. javanica*) lebih cepat dicapai dengan kerapatan koloni bakteri tinggi. Dalam hal ini nilai  $LT_{50}$  lebih kecil atau menyebabkan kematian dengan cepat dibandingkan dengan kerapatan bakteri yang lebih rendah lainnya.



Gambar 5. Grafik hubungan mortalitas dengan waktu pada perlakuan bakteri *P. fluorescens* terhadap juvenile II nematoda puru akar (*M. javanica*)

Dari persamaan regresi menunjukkan bahwa nilai koefisien regresi pada kerapatan koloni bakteri *P. fluorescens* bernilai positif (Gambar 5.). Arah koefisien regresi positif menunjukkan bahwa tinggi nilai mortalitas juvenile II nematoda puru akar, maka waktu yang dibutuhkan untuk mematikan juvenile II nematoda puru akar juga naik.



Gambar 6. Grafik hubungan mortalitas dengan waktu pada perlakuan bakteri *B. subtilis* terhadap juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*).

Tidak berbeda dengan Gambar 5., bahwa persamaan regresi menunjukkan bahwa nilai koefisien regresi pada kerapatan koloni bakteri *B. subtilis* bernilai positif (Gambar 6.). Arah koefisien regresi positif menunjukkan bahwa nilai mortalitas juvenil II nematoda puru akar tinggi, maka waktu yang dibutuhkan untuk mematikan juvenil II nematoda puru akar juga tinggi.

Dilihat dari grafik pada Gambar 1. dan Gambar 2. bentuk hubungan antara 2 variabel menyatakan korelasi positif. Hubungan positif menyatakan hubungan semakin besar nilai pada variabel x (log waktu) diikuti pula perubahan dengan semakin besarnya nilai pada variabel y (probit).

#### 4.2 Pembahasan Umum

Tanaman tomat yang terinfeksi nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) akan nampak kerdil akibat pertumbuhannya terhambat, daun layu dan menguning. Nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) menyerang pada bagian bawah tanaman, terutama akar dan umbi. Gejala pada bagian tanaman ini dikenal dengan sebutan puru. Akibat infeksi nematoda puru akar pada akar

tanaman tomat menyebabkan berkurangnya volume dan efisiensi fungsi sistem perakaran.

Menurut Prasasti (2012), akar yang terserang berat lebih pendek daripada akar yang sehat dengan sedikit akar lateral dan rambut akar. Akibatnya terjadi gangguan pada sistem perakaran yang menyebabkan berkurangnya penyerapan air dan nutrisi dari dalam tanah sehingga menimbulkan gejala yang tampak seperti kekurangan nutrisi dan air. Akar tanaman tomat yang terserang nematoda puru akar ini akan membengkak atau memanjang dengan bervariasi. Menurut Sastrahidayat (1990), yang menimbulkan pembengkakan pada akar ialah nematoda betina, sedangkan juvenil nematoda akan menimbulkan bisul-bisul dan berbau busuk pada akar.

Nematoda puru akar ini menyerang sebagian besar tanaman utama. Hal ini mengakibatkan jumlah populasi nematoda puru akar semakin meningkat karena keberadaan inangnya yang semakin luas. Berbagai macam penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan metode pengendalian yang tepat dan efisien. Salah satunya dengan menggunakan teknik pengendalian secara biologi atau menggunakan agens hayati.

Berbagai penelitian telah didapatkan beberapa isolat, baik kelompok bakteri maupun jamur yang bersifat antagonis, yang dapat digunakan sebagai agens hayati. Berdasarkan Siddiqui dan Mahmood (1998) beberapa kelompok bakteri yang sering digunakan sebagai agens hayati pada nematoda puru akar, antara lain *Pasteuria penetrans*, spesies *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Selain itu, beberapa bakteri endofit maupun *rhizobacteria* tidak hanya sebagai agens hayati tetapi juga bersifat PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), menghasilkan antibiotik atau asam sianida (HCN) (Ahl *et al.*, 1986) dan beberapa senyawa terlibat dalam pengurangan patogen yang merusak mikroorganisme disekitar *rhizosfer*, sehingga menciptakan sebuah lingkungan lebih menguntungkan untuk pertumbuhan akar (Leong, 1986).

Isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) memiliki ciri nampak keruh sedikit berwarna putih pada medium perbanyakan cair. Sedangkan isolat bakteri *B. subtilis* (UB\_Bs1) pada medium agar memiliki tepi tidak teratur

dan berwarna krem. Pada medium perbanyakan cair (*broth*), bakteri *B. subtilis* nampak berwarna krem dan keruh.

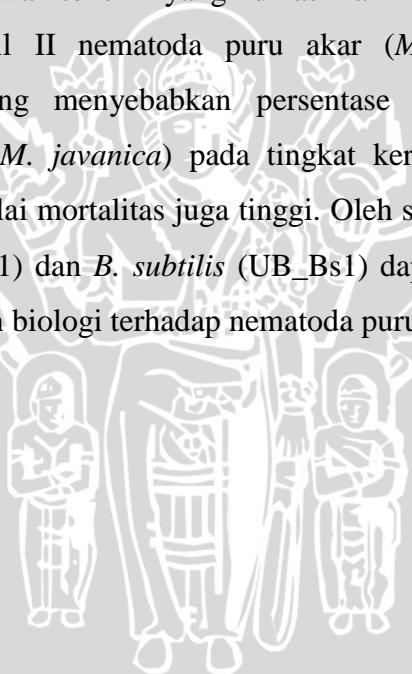
Dari kedua isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dapat menyebabkan mortalitas pada juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*). Kematian pada juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) diduga disebabkan oleh metabolit sekunder, enzim kitinase, dan protease yang dihasilkan bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis*. Enzim ini dapat digunakan langsung oleh bakteri untuk mendegradasi sel pathogen (Harni, 2007). Beberapa protease bakteri telah terbukti terlibat dalam proses infeksi terhadap nematoda. Selama bakteri menginfeksi, terjadi degradasi pada semua komponen kutikula nematoda yang menunjukkan keterlibatan enzim hidrolitik (Cox *et al.*, 1981). Faktanya menurut Tian *et al.*, (2007), kebanyakan nematophagus bakteri, kecuali untuk bakteri parasit obligat, biasanya hidup saprofit, menargetkan nematoda sebagai salah satu sumber nutrisinya. Kebanyakan nematophagus bakteri ini mampu menginfeksi kutikula dan mematikan nematoda dalam beberapa kondisi.

Kematian juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) dalam penelitian dibawah mikroskop dilihat dari beberapa bentuk tubuh juvenil nematoda. Ada beberapa kriteria bentuk tubuh nematoda saat mati, yaitu berbentuk lurus (*straight*) atau (*I-shape*), melengkung (*bent* atau *banana shape*), sigmoid atau  $\Sigma$  *shape*, dan keriting (*curl*) atau  $\infty$  *shape* (Wiratno *et al.*, 2009). Kematian nematoda pada kontrol sebagian besar berbentuk straight (*I-shape*) dengan beberapa diantaranya berbentuk *bent* atau *banana shape*.

Mekanisme utama dari biokontrol *P. fluorescens* ialah memproduksi antibiotik seperti *2,4-diacetylpholoroglucinol* (PHL), pyoluteorin (PLT), pyrrolnitrin dan phenazine-1-carboxylate (Thomashow dan Weller, 1995). Bakteri *P. fluorescens* memiliki HCN (asam sianida) yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* kelompok fluorescens. Asam sianida diketahui sebagai senyawa antifungal yang mempunyai korelasi dengan aktivitas antagonis secara *in vivo* (Eliza *et al.*, 2007).

zIsolate bakteri *P. fluorescens* dan *Bacillus* baik isolate tunggal maupun isolate kombinasi memiliki kemampuan yang baik dalam menghambat populasi nematoda. Seperti yang diungkapkan Lindberg, 1981, bahwa kelompok *Bacillus* diduga menghasilkan volatile nematisida dan utamanya ditandai dengan benzeneacetaldehyde, 2-nonenone, decanal, 2-undecanone dan dimethyl disulphide yang aktif terhadap juvenil *M. incognita*.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa semakin tinggi kerapatan isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) yang digunakan maka nilai persentase mortalitas juga semakin tinggi. Pada suspensi bakteri dengan kerapatan tinggi, jumlah koloni bakteri juga semakin banyak. Semakin banyak koloni bakteri yang tumbuh inilah yang memungkinkan senyawa toksik yang dihasilkan bakteri menyebabkan kematian pada juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) semakin meningkat. Inilah yang menyebabkan persentase mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada tingkat kerapatan koloni bakteri tinggi menyebabkan nilai mortalitas juga tinggi. Oleh sebab itu, isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) dapat digunakan sebagai salah satu pengendalian biologi terhadap nematoda puru akar (*M. javanica*).



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Perlakuan isolat bakteri *Pseudomonas fluorescens* (UB\_Pf1) dan *Bacillus subtilis* (UB\_Bs1) dapat menyebabkan mortalitas juveil II nematoda puru akar (*M. javanica*) dalam pengamatan 6, 12 dan 24 jam setelah aplikasi dibandingkan kontrol.
2. Perlakuan isolat bakteri *P. fluorescens* (UB\_Pf1) dan *B. subtilis* (UB\_Bs1) pada kerapatan koloni  $10^{11}$  cfu/ml lebih tinggi menyebabkan mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) dibanding kerapatan koloni  $10^9$  dan  $10^7$  cfu/ml.
3. Perlakuan isolat bakteri *P. fluorescens* memiliki nilai LC<sub>50</sub> dengan kerapatan bakteri  $1 \times 10^{11}$  cfu/ml sudah dapat menyebabkan mortalitas 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) dan Lethal Time (LT<sub>50</sub>) 32,99 jam. Sedangkan perlakuan bakteri *B. subtilis* memiliki nilai LC<sub>50</sub>  $1 \times 10^{13}$  cfu/ml untuk dapat menyebabkan kematian 50% juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) 56,78 jam.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dikemukakan saran yakni perlu adanya penelitian lanjutan dalam skala lapang.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, W. S. 1925. A Method of Compating The Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267
- Agrios, G. N. 1988. Ilmu Penyakit Tumbuhan 3<sup>rd</sup> edition. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Ahl, P., C., Voisard and G. Defage. 1986. Iron bound sidephores, cyanic acid and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by *Pseudomonas fluorescens* strain. *Journal of Phytopathology* 116: 121-134
- Anonymous. 2014. Life cycle of root knot nematodes. Available at <http://www.daff.qld.gov.au/plants/fruit-and-vegetables/a-za-list-of-horticultural-insect-pests/root-knot-nematode> (Verified 15 April 2014)
- Baron, G. I. 1977. The Nematode Destroying Fungi. Topics in Mycology. Canadian Biological Publications Ltd. Guelp. Ontario. Canada
- Cayrol, J. C. 1983. Biological control of *Meloidogyne* by *Arthrobotrys irregularis*. *Revue de Nematologie* 6: 265-273
- Crueger, W dan A. Crueger. 1994. Biotechnology: A textbook of industrial microbiology. Science Tech, Inc. USA. pp 12-13, 54-59
- Dawar, S., M. Tariq, M. J. Zaki. 2008. Application of *Bacillus* species in control of *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood in cowpea and mash bean. Departement of Botany, University of Karachi, Pakistan. Pak. Journal of Botany 40 (1): 439-444
- de Medeiros, J. E., R. L. R. Mariano., E. M. R. Pedrosa and E. B. da Silveira. 2009. Inconsistency of the Biological Control of *Meloidogyne incognita* Race 2 in Melon by Endophytic Bacteria (online). Horticultura Brasileira, 27. Available at [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-05362009000300010](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362009000300010). Verified 8 Maret 2014
- Cox, G. N., Kush M and Edgar R. S. 1981. Cuticle of *Caenorhabditis elegans*. Its isolation and partial characterization. *Journal of Cell Biology* 90: 7-17
- Dropkin, V. H. 1991. Pengantar Nematologi Tumbuhan. Edisi Kedua (Terjemahan dari bahasa inggris). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Eisenback, J. D., H. Hirschmann., J. N. Sasser and A. C. Triantaphyllou. 1981. A Guide to the Four Most Common Spesies of Root Knot Nematodas (*Meloidogyne* spp.) With a Pictorial Key. The Departement of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University



- Eliza., A. Munif., I. Djatnika and Widodo. 2007. Karakter Fisiologis dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran Graminae terhadap Fusarium dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Pisang. Jurnal Horticultura 17 (2): 150-160
- El-Hamshary, O. I. M., W. M. A. El-Nagdi and M. N. A. Yousuf. 2006. Genetical Studies and Antagonistic Effects of Newly Bacterial Fusant Against *Meloidogyne incognita*, Root Knot Nematode and a Plant Pathogen *Fusarium Oxysporum* Infecting Sunflower. Pak. Journal of Biotechnology. Vol. 3 (1-2): 61-70
- Esbenshade P. R. and A. C. Triantaphyllou. 1990. Isozyme Phenotypes for the Identification of Meloidogyne species. Journal of Nematology 22: 10-15
- Ganiswara, S. G. 1995. Farmakologi dan terapi. Edisi 4. Fakultas kedokteran-Universitas Indonesia. Jakarta. pp 571-572
- Gooday, G. W. 1994. Physiology of Microbial Degradation of Chitin and Chitosan. in Ratledge C, editor. Biochemistry of microbial degradation. Netherlands: Kluwer Academic Publish. p 279-312
- Harman, G. E., C. K. Hayes., M. Lorito., R. M. Broadway., A. di Pietro., C. Peterbauer and A. Tronsmo. 1993. Chitinolytic Enzymes of *Trichoderma harzianum*: Purification of Chitobiosidase and Endochitinase. Phytopathology 83: 313-318
- Harni, R., A. Munif., Supramana and E. Mustika. 2007. Potensi Bakteri Endofit Pengendali Nematoda Peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada Nilam. Jurnal of Bioscience. pp 7-12
- Harni, R., S. Supramana., S. S. Meity., Giyanto and Supriadi. 2010. Pengaruh Filtrat Bakteri Endofit Terhadap Mortalitas, Penetasan Telur dan Populasi Nematoda Peluka Akar *Pratylenchus brachyurus* Pada Nilam. Jurnal Litri 16 (1): 43-47
- Hsin chi. 1997. Probit Analysis. National Chung Hsing University. Taichung: Taiwan
- Leong, J. 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 24: 187-209
- Li W., D. P. Roberts., P. D. Dery., L. S. F. Meyer., S. Lohrke., R. D. Lumsden and K. P. Hebbar. 2002. Broad Spectrum Antibiotic Activity and Disease Suppression by the Potential Biocontrol Agent *Burkholderia ambifaria* BC-F. Crop Protection 21: 129-135
- Lindberg, G. S. 1981. An Antibiotic Lethal to Fungi. Plant Disease 65: 680-683
- Madigan, M. T. 1997. Biology of microorganisms, Eighth Edition. Prentice Hall International. New Jersey. p 459-460

- Mankau, R. 1975. *Bacillus penetrans* n. comb. causing a virulent disease of plant-parasitic nematodes. Journal of Invertebrate Pathology 26: 333-339
- Munif, A. 2001. Studies on the Importance of Endophytic Bacteria for the Biological control of the Root-Knot Nematoda *Meloidogyne incognita* on Tomato (Dissertation). Doktor der Agrarwissenschaften. Rheinischen Friedrich-Willhelms-Universitat Bonn
- Mustika, I. 2005. Konsepsi dan Strategi Pengendalian Nematoda Parasit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor. Volume 4 (1): 20-32
- Pal, K. K and G. B. McSpadden. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02. <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Documents/PHI-BiologicalControl.pdf>. [3 Juni 2014]
- Patil, R. S., V. Ghormade and M. V. Deshpande. 2000. Chitinolytic Enzymes: An Exploration. Enzym and Microbial Technology 26: 473-483
- Prasasti, W. D. 2012. Strategi Pengendalian Penyakit Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp.) pada Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Program Studi Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta
- Sastrahidayat, I. R. 1990. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Penerbit Usaha Nasional. Surabaya. Hal 201-237
- Sayre, R. M. and M. P. Starr. 1985. *Pasteuria penetrans* (ex. Thorne 1940) nom. rev., comb. nov., sp. nov., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 52: 149-165
- Sayre, R. M. 1986. Pathogens for biological control of nematodes. Crop Protection 5 (4): 268-276
- Siddiqui, Z. A. and M. Irshad. 1998. Effect of a plant growth promoting bacterium, an AM fungus and soil type on the morphometrics and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato. Applied Soil Ecology 8: 77-84
- Siddiqui, I. A. and S. S. Shaukat. 2003. Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphologlucinol. Soil Biology and Biochemistry 35: 1615-1623
- Sikora, R. A., K. Schafer dan A. A. Dababat. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. Australasian Plant Pathology 36: 124-134

- Sikora, R. A. and E. Fernandez. 2005. Nematoda Parasites of Vegetables. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2nd edition. CABI publishing. pp 319-392
- Southey, J. F., T. J. W. Alphey., D. A. Cooke., Jennie A. W and P. L. Matiiinas. 1982. Plant Pathology. Available at DOI: 10.1111/j.1365-3059.1982.tb02824.x (Verified 8 Juli 2014)
- SPSS. 2008. SPSS Statistic 17.0. IBM Statistics
- Taylor, A. L. and J. N. Sasser. 1978. Biologi, Identification and Control of Root Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.) International Carolina *Meloidogyne* Project. Printed by Nor Carolina State University Graphics. p 107
- Tian, B., J. Yang and K. Q. Zhang. 2007. Bacteria Used in the Biological Control of Plant Parasitic Nematode: Population, Mechanisms, and Future Prospects. *Microbiology Ecology* 61: 197-213
- Thomashow, L. S. and D. M. Weller. 1995. Current Concepts in the Use of Introduced Bacteria for Biological Disease Control. In: Stacey, G., Keen, N. (Eds.), Plant-microbe interactions, vol. 1. Chapman & Hall. New York. pp. 187–235
- Wiratno, T. D., H. Van den Berg., J. A. G. Riksen., and J. A. G. Rietjens., S. R. Djiwanti., J. E. Kammenge., and A. J Murk. 2009. Nematicidal Activity of Plant Extracts Against the Root Knot Nematode, *Meloidogyne incognita*. *The Open Natural Products Journal*. p 77-85

UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
**LAMPIRAN**





(a)

(b)

Gambar Lampiran

1. Tanaman tomat; (a) Tanaman tomat yang terserang nematoda puru akar, (b) Gejala pada daun tanaman tomat yang tampak menguning

Tabel Lampiran 1. Analisis ragam rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*Meloidogyne javanica*) pada pengamatan 6 jam

Mortalitas

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Kelompok	3	47.671	15.890	3.579	.725
Perlakuan	5	639.568	127.914	3.579	.025
Galat	15	536.055	35.737		
Total	24	2073.788			

Tabel Lampiran 2. Hasil uji lanjutan rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 6 jam

Mortalitas

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
p1	p2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063
	p3	13.5750	4.22712	.054	-.1588	27.3088
	b1	7.8575	4.22712	.461	-5.8763	21.5913
	b2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063
	b3	14.2850*	4.22712	.039	.5512	28.0188
p2	p1	-13.5725	4.22712	.054	-27.3063	.1613
	p3	.0025	4.22712	1.000	-13.7313	13.7363
	b1	-5.7150	4.22712	.753	-19.4488	8.0188
	b2	.0000	4.22712	1.000	-13.7338	13.7338
	b3	.7125	4.22712	1.000	-13.0213	14.4463
p3	p1	-13.5750	4.22712	.054	-27.3088	.1588
	p2	-.0025	4.22712	1.000	-13.7363	13.7313
	b1	-5.7175	4.22712	.753	-19.4513	8.0163
	b2	-.0025	4.22712	1.000	-13.7363	13.7313
	b3	.7100	4.22712	1.000	-13.0238	14.4438
b1	p1	-7.8575	4.22712	.461	-21.5913	5.8763
	p2	5.7150	4.22712	.753	-8.0188	19.4488
	p3	5.7175	4.22712	.753	-8.0163	19.4513
	b2	5.7150	4.22712	.753	-8.0188	19.4488
	b3	6.4275	4.22712	.657	-7.3063	20.1613
b2	p2	.0000	4.22712	1.000	-13.7338	13.7338
	p3	.0025	4.22712	1.000	-13.7313	13.7363
	b1	-5.7150	4.22712	.753	-19.4488	8.0188
	b3	.7125	4.22712	1.000	-13.0213	14.4463
	p1	-14.2850*	4.22712	.039	-28.0188	-.5512
b3	p2	-.7125	4.22712	1.000	-14.4463	13.0213
	p3	-.7100	4.22712	1.000	-14.4438	13.0238

b1	-6.4275	4.22712	.657	-20.1613	7.3063
b2	-.7125	4.22712	1.000	-14.4463	13.0213
p2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

#### Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
b3	4	2.1450	
p3	4	2.8550	2.8550
p2	4	2.8575	2.8575
b2	4	2.8575	2.8575
b1	4	8.5725	8.5725
p1	4		16.4300
Sig.		.657	.054

Tabel Lampiran 3. Analisis ragam rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 12 jam

#### Mortalitas

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Kelompok	3	485.440	161.813	1.885	.176
Perlakuan	5	1834.270	366.854	4.272	.013
Galat	15	1287.976	85.865		
Total	24	7648.621			

Tabel Lampiran 4. Hasil uji lanjutan rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 12 jam

#### Mortalitas

#### Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
p1	p2	19.2850	6.55229	.087	-2.0032	40.5732
	p3	22.8575*	6.55229	.032	1.5693	44.1457
	b1	17.8550	6.55229	.127	-3.4332	39.1432
	b2	24.2850*	6.55229	.021	2.9968	45.5732
	b3	26.4275*	6.55229	.011	5.1393	47.7157
p2	p1	-19.2850	6.55229	.087	-40.5732	2.0032
	p3	3.5725	6.55229	.993	-17.7157	24.8607
	b1	-1.4300	6.55229	1.000	-22.7182	19.8582
	b2	5.0000	6.55229	.970	-16.2882	26.2882
	b3	7.1425	6.55229	.878	-14.1457	28.4307
p3	p1	-22.8575*	6.55229	.032	-44.1457	-1.5693



	p2	-3.5725	6.55229	.993	-24.8607	17.7157
	b1	-5.0025	6.55229	.970	-26.2907	16.2857
	b2	1.4275	6.55229	1.000	-19.8607	22.7157
	b3	3.5700	6.55229	.993	-17.7182	24.8582
b1	p1	-17.8550	6.55229	.127	-39.1432	3.4332
	p2	1.4300	6.55229	1.000	-19.8582	22.7182
	p3	5.0025	6.55229	.970	-16.2857	26.2907
	b2	6.4300	6.55229	.917	-14.8582	27.7182
	b3	8.5725	6.55229	.776	-12.7157	29.8607
b2	p1	-24.2850*	6.55229	.021	-45.5732	-2.9968
	p2	-5.0000	6.55229	.970	-26.2882	16.2882
	p3	-1.4275	6.55229	1.000	-22.7157	19.8607
	b1	-6.4300	6.55229	.917	-27.7182	14.8582
	b3	2.1425	6.55229	.999	-19.1457	23.4307
b3	p1	-26.4275*	6.55229	.011	-47.7157	-5.1393
	p2	-7.1425	6.55229	.878	-28.4307	14.1457
	p3	-3.5700	6.55229	.993	-24.8582	17.7182
	b1	-8.5725	6.55229	.776	-29.8607	12.7157
	b2	-2.1425	6.55229	.999	-23.4307	19.1457

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

#### Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
b3	4	5.0000	
b2	4	7.1425	
p3	4	8.5700	
p2	4	12.1425	12.1425
b1	4	13.5725	13.5725
p1	4		31.4275
Sig.		.776	.087

Tabel Lampiran 5. Analisis ragam rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 24 jam

#### Mortalitas

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Kelompok	3	582.506	194.169	1.537	.246
Perlakuan	5	3312.889	662.578	5.244	.006
Galat	15	1895.272	126.351		
Total	24	16326.841			

Tabel Lampiran 6. Hasil uji lanjutan rerata mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 24 jam

Mortalitas

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
p1	p2	26.4300*	7.94832	.043	.6062	52.2538
	p3	31.4300*	7.94832	.013	5.6062	57.2538
	b1	13.5725	7.94832	.547	-12.2513	39.3963
	b2	25.7125	7.94832	.051	-.1113	51.5363
	b3	34.2850*	7.94832	.007	8.4612	60.1088
p2	p1	-26.4300*	7.94832	.043	-52.2538	-.6062
	p3	5.0000	7.94832	.987	-20.8238	30.8238
	b1	-12.8575	7.94832	.600	-38.6813	12.9663
	b2	-.7175	7.94832	1.000	-26.5413	25.1063
	b3	7.8550	7.94832	.915	-17.9688	33.6788
p3	p1	-31.4300*	7.94832	.013	-57.2538	-5.6062
	p2	-5.0000	7.94832	.987	-30.8238	20.8238
	b1	-17.8575	7.94832	.274	-43.6813	7.9663
	b2	-5.7175	7.94832	.976	-31.5413	20.1063
	b3	2.8550	7.94832	.999	-22.9688	28.6788
b1	p1	-13.5725	7.94832	.547	-39.3963	12.2513
	p2	12.8575	7.94832	.600	-12.9663	38.6813
	p3	17.8575	7.94832	.274	-7.9663	43.6813
	b2	12.1400	7.94832	.653	-13.6838	37.9638
	b3	20.7125	7.94832	.156	-5.1113	46.5363
b2	p1	-25.7125	7.94832	.051	-51.5363	.1113
	p2	-.7175	7.94832	1.000	-25.1063	26.5413
	p3	5.7175	7.94832	.976	-20.1063	31.5413
	b1	-12.1400	7.94832	.653	-37.9638	13.6838
	b3	8.5725	7.94832	.882	-17.2513	34.3963
b3	p1	-34.2850*	7.94832	.007	-60.1088	-8.4612
	p2	-7.8550	7.94832	.915	-33.6788	17.9688
	p3	-2.8550	7.94832	.999	-28.6788	22.9688
	b1	-20.7125	7.94832	.156	-46.5363	5.1113
	b2	-8.5725	7.94832	.882	-34.3963	17.2513

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
b3	4	8.5725	
p3	4	11.4275	
p2	4	16.4275	
b2	4	17.1450	17.1450
b1	4	29.2850	29.2850
p1	4		42.8575
Sig.		.156	.051

Tabel Lampiran 7. Analisis ragam rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 6 jam  
Mortalitas

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Kelompok	3	47.671	15.890	.445	.725
Perlakuan	5	639.568	127.914	3.579	.025
Galat	15	536.055	35.737		
Total	24	2073.788			

Tabel Lampiran 8. Hasil uji lanjutan rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 6 jam  
Mortalitas

## Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
p1	p2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063
	p3	13.5750	4.22712	.054	-.1588	27.3088
	b1	7.8575	4.22712	.461	-5.8763	21.5913
	b2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063
	b3	14.2850*	4.22712	.039	.5512	28.0188
p2	p1	-13.5725	4.22712	.054	-27.3063	.1613
	p3	.0025	4.22712	1.000	-13.7313	13.7363
	b1	-5.7150	4.22712	.753	-19.4488	8.0188
	b2	.0000	4.22712	1.000	-13.7338	13.7338
	b3	.7125	4.22712	1.000	-13.0213	14.4463
p3	p1	-13.5750	4.22712	.054	-27.3088	.1588
	p2	-.0025	4.22712	1.000	-13.7363	13.7313
	b1	-5.7175	4.22712	.753	-19.4513	8.0163
	b2	-.0025	4.22712	1.000	-13.7363	13.7313



	b3	.7100	4.22712	1.000	-13.0238	14.4438
b1	p1	-7.8575	4.22712	.461	-21.5913	5.8763
	p2	5.7150	4.22712	.753	-8.0188	19.4488
	p3	5.7175	4.22712	.753	-8.0163	19.4513
	b2	5.7150	4.22712	.753	-8.0188	19.4488
	b3	6.4275	4.22712	.657	-7.3063	20.1613
b2	p1	-13.5725	4.22712	.054	-27.3063	.1613
	p2	.0000	4.22712	1.000	-13.7338	13.7338
	p3	.0025	4.22712	1.000	-13.7313	13.7363
	b1	-5.7150	4.22712	.753	-19.4488	8.0188
	b3	.7125	4.22712	1.000	-13.0213	14.4463
b3	p1	-14.2850*	4.22712	.039	-28.0188	-.5512
	p2	-.7125	4.22712	1.000	-14.4463	13.0213
	p3	-.7100	4.22712	1.000	-14.4438	13.0238
	b1	-6.4275	4.22712	.657	-20.1613	7.3063
	b2	-.7125	4.22712	1.000	-14.4463	13.0213
p1	p2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063
	p3	13.5750	4.22712	.054	-.1588	27.3088
	b1	7.8575	4.22712	.461	-5.8763	21.5913
	b2	13.5725	4.22712	.054	-.1613	27.3063
	b3	14.2850*	4.22712	.039	.5512	28.0188

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Mortalitas

#### Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
b3	4	2.1450	
p3	4	2.8550	2.8550
p2	4	2.8575	2.8575
b2	4	2.8575	2.8575
b1	4	8.5725	8.5725
p1	4		16.4300
Sig.		.657	.054



Tabel Lampiran 9. Analisis ragam rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 12 jam Mortalitas

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Kelompok	3	299.457	99.819	1.134	.367
Perlakuan	5	1879.821	375.964	4.273	.013
Galat	15	1319.837	87.989		
Total	24	7183.901			

Tabel Lampiran 10. Hasil uji lanjutan rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 12 jam Mortalitas

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
p1	p2	19.5150	6.63284	.087	-2.0349	41.0649
	p3	23.1325*	6.63284	.032	1.5826	44.6824
	b1	18.0850	6.63284	.127	-3.4649	39.6349
	b2	24.5800*	6.63284	.021	3.0301	46.1299
	b3	26.7625*	6.63284	.011	5.2126	48.3124
p2	p1	-19.5150	6.63284	.087	-41.0649	2.0349
	p3	3.6175	6.63284	.993	-17.9324	25.1674
	b1	-1.4300	6.63284	1.000	-22.9799	20.1199
	b2	5.0650	6.63284	.970	-16.4849	26.6149
	b3	7.2475	6.63284	.877	-14.3024	28.7974
p3	p1	-23.1325*	6.63284	.032	-44.6824	-1.5826
	p2	-3.6175	6.63284	.993	-25.1674	17.9324
	b1	-5.0475	6.63284	.970	-26.5974	16.5024
	b2	1.4475	6.63284	1.000	-20.1024	22.9974
	b3	3.6300	6.63284	.993	-17.9199	25.1799
b1	p1	-18.0850	6.63284	.127	-39.6349	3.4649
	p2	1.4300	6.63284	1.000	-20.1199	22.9799
	p3	5.0475	6.63284	.970	-16.5024	26.5974
	b2	6.4950	6.63284	.918	-15.0549	28.0449
	b3	8.6775	6.63284	.776	-12.8724	30.2274
b2	p1	-24.5800*	6.63284	.021	-46.1299	-3.0301
	p2	-5.0650	6.63284	.970	-26.6149	16.4849
	p3	-1.4475	6.63284	1.000	-22.9974	20.1024
	b1	-6.4950	6.63284	.918	-28.0449	15.0549
	b3	2.1825	6.63284	.999	-19.3674	23.7324

b3	p1	-26.7625*	6.63284	.011	-48.3124	-5.2126
	p2	-7.2475	6.63284	.877	-28.7974	14.3024
	p3	-3.6300	6.63284	.993	-25.1799	17.9199
	b1	-8.6775	6.63284	.776	-30.2274	12.8724
	b2	-2.1825	6.63284	.999	-23.7324	19.3674

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

#### Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
b3	4	4.3075	
b2	4	6.4900	
p3	4	7.9375	
p2	4	11.5550	11.5550
b1	4	12.9850	12.9850
p1	4		31.0700
Sig.		.776	.087

Tabel Lampiran 11. Analisis ragam rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 24 jam

#### Mortalitas

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Kelompok	3	295.255	98.418	.725	.553
Perlakuan	5	3578.818	715.764	5.274	.005
Galat	15	2035.616	135.708		
Total	24	14295.893			

Tabel Lampiran 12. Hasil uji lanjutan rerata persentase terkoreksi mortalitas juvenil II nematoda puru akar (*M. javanica*) pada pengamatan 24 jam

#### Mortalitas

#### Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
p1	p2	27.4800*	8.23735	.043	.7171	54.2429
	p3	32.6925*	8.23735	.013	5.9296	59.4554
	b1	14.3000	8.23735	.531	-12.4629	41.0629
	b2	26.9350*	8.23735	.048	.1721	53.6979
	b3	35.6750*	8.23735	.006	8.9121	62.4379
p2	p1	-27.4800*	8.23735	.043	-54.2429	-.7171



	p3	5.2125	8.23735	.987	-21.5504	31.9754
	b1	-13.1800	8.23735	.611	-39.9429	13.5829
	b2	-.5450	8.23735	1.000	-27.3079	26.2179
	b3	8.1950	8.23735	.913	-18.5679	34.9579
p3	p1	-32.6925*	8.23735	.013	-59.4554	-5.9296
	p2	-5.2125	8.23735	.987	-31.9754	21.5504
	b1	-18.3925	8.23735	.279	-45.1554	8.3704
	b2	-5.7575	8.23735	.979	-32.5204	21.0054
	b3	2.9825	8.23735	.999	-23.7804	29.7454
b1	p1	-14.3000	8.23735	.531	-41.0629	12.4629
	p2	13.1800	8.23735	.611	-13.5829	39.9429
	p3	18.3925	8.23735	.279	-8.3704	45.1554
	b2	12.6350	8.23735	.650	-14.1279	39.3979
	b3	21.3750	8.23735	.159	-5.3879	48.1379
b2	p1	-26.9350*	8.23735	.048	-53.6979	-1.721
	p2	.5450	8.23735	1.000	-26.2179	27.3079
	p3	5.7575	8.23735	.979	-21.0054	32.5204
	b1	-12.6350	8.23735	.650	-39.3979	14.1279
	b3	8.7400	8.23735	.889	-18.0229	35.5029
b3	p1	-35.6750*	8.23735	.006	-62.4379	-8.9121
	p2	-8.1950	8.23735	.913	-34.9579	18.5679
	p3	-2.9825	8.23735	.999	-29.7454	23.7804
	b1	-21.3750	8.23735	.159	-48.1379	5.3879
	b2	-8.7400	8.23735	.889	-35.5029	18.0229

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

#### Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
b3	4	5.8650	
p3	4	8.8475	
p2	4	14.0600	
b2	4	14.6050	
b1	4	27.2400	27.2400
p1	4		41.5400
Sig.		.159	.531