

EVALUASI BAKTERI ENDOFIT UNTUK PENGENDALIAN NEMATODA *Pratylenchus coffeae* PADA TANAMAN KOPI

EVALUATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN CONTROLLING OF *Pratylenchus coffeae* IN COFFEE

*Rita Harni dan Khaerati

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
*rita_harni@yahoo.com

(Tanggal diterima: 2 April 2013, direvisi: 20 April 2013, disetujui terbit: 25 Juni 2013)

ABSTRAK

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman dan memberikan efek yang baik pada tanaman, dapat diisolasi dari akar, batang, daun, dan buah. Penelitian isolasi, seleksi, dan potensi bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus coffeae* pada tanaman kopi telah dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar dari bulan Januari sampai Desember 2012. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi isolat bakteri endofit yang potensial untuk mengendalikan nematoda pada tanaman kopi. Bakteri endofit diisolasi dari akar pertanaman kopi dari daerah Jawa Barat (KP. Pakuwon, Sukabumi, Garut, dan Pengalengan) dan Lampung (KP. Natar, KP. Cahaya Negeri, dan Liwa) menggunakan metode sterilisasi permukaan. Selanjutnya bakteri endofit diseleksi antagonismenya terhadap nematoda dan kemampuan memicu pertumbuhan tanaman. Hasil isolasi bakteri endofit dari akar kopi diperoleh 442 isolat dengan kerapatan populasi bakteri endofit 5×10^3 – 5.77×10^6 cfu/g berat basah akar. Dari 422 isolat yang diuji, 50 isolat (12,3%) di antaranya adalah isolat yang antagonis, 60 isolat (14,21%) terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil pengujian *in vitro* dan *in vivo* di rumah kaca diperoleh 3 isolat yang potensial menekan nematoda *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi, yaitu PG132, PG76, dan LW15.

Kata Kunci: Kopi, isolasi, seleksi, potensi, bakteri endofit, nematoda, *Pratylenchus coffeae*

ABSTRACT

*Endophytic bacteria are bacteria that live inside plant tissues and give a good effect on the plant, and can be isolated from the roots, stems, leaves, and fruit. Isolation, selection and potential of endophytic bacteria to control nematodes (*Pratylenchus coffeae*) on coffee plant had been carried out in the Laboratory and Greenhouse of Research Institute for Industrial and Beverage Crops from January to December 2012. The objectives of the study was to evaluate the potential of endophytic bacterial isolates to control nematodes in coffee plants. Endophytic bacteria were isolated from coffee root crops samples from several areas in West Java (KP. Pakuwon, Sukabumi, Garut, Pengalengan) and Lampung (KP. Natar, KP. Cahaya Negeri and Liwa). Furthermore, the isolates were selected their antagonistic activities and plant growth *coffeae* plant. A total of 442 isolates endophytic bacteria was obtained from coffee root with a population density of 5×10^3 – 5.77×10^6 cfu/g of fresh weight roots, as many as 50 (12.3%) isolates performed antagonis on nematodes, 60 isolat (14.21%) isolates stimulated the growth of *coffeae* plant. Result *in vitro* and *in vivo* test, there were 3 potential endophytic bacterial isolates, namely PG132, PG76, and LW15, effective to control *P. coffeae* and increase the coffee growth.*

Keywords: Coffee, isolation, selection, potential, endophytic bacteria, nematode, *Pratylenchus coffeae*

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan sebagai penghasil devisa negara dan sumber pendapatan petani. Luas areal perkebunan kopi Indonesia 1.235.802 ha dengan produksi 666.046 ton (Ditjenbun, 2012). Berdasarkan luasan tersebut 96% merupakan perkebunan rakyat, 902.341 ha (79,21%) merupakan kopi Robusta dan sisanya adalah jenis kopi Arabika. Produktivitas kopi Indonesia, yaitu 776 kg/ha, produktivitas ini masih rendah jika dibandingkan produktivitas potensial varietas/klon unggul kopi mencapai 1,5–2 ton/ha (Ditjenbun, 2012).

Rendahnya produktivitas kopi Indonesia salah satunya disebabkan oleh serangan nematoda par寄生虫 tanaman yaitu *Pratylenchus coffeae* dan *Radopholus similis*. Serangan nematoda ini dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu dan menurunkan produksi baik kuantitas maupun kualitas. Serangan *P. coffeae* pada kopi Robusta dapat menurunkan produksi sampai 57%, sedangkan serangan *R. similis* bersama-sama dengan *P. coffeae* pada kopi Arabika dapat mengakibatkan kerusakan 80% dan tanaman akan mati pada umur kurang dari 3 tahun. 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.

Pengendalian nematoda menggunakan bakteri endofit merupakan salah satu komponen pengendalian ramah lingkungan yang pada akhir-akhir ini banyak digunakan sebagai pengendalian biologi. 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, pemacu pertumbuhan karena dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi tertentu, dan menghasilkan hormon pertumbuhan (Bacon dan Hinton, 2007).

Bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jaringan tanaman seperti akar, batang, daun, buah, dan bunga. Kerapatan populasi dari bakteri endofit sangat tergantung pada jenis tanaman, tipe jaringan

(akar, batang, daun), umur tanaman, habitat, dan faktor lingkungan (McInroy dan Kloeppe, 1999; Hallmann, 2001; Zinniel *et al.*, 2002; Hallmann dan Berg, 2006), geografis, spesies, genotipe tanaman, dan teknik budidaya (Hallmann dan Berg, 2006).

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda pada tanaman kopi telah dilaporkan oleh Mekete *et al.* (2009), bakteri endofit *Bacillus pumilus* dan *B. mycoides* digunakan untuk mengendalikan nematoda *Meloidogyne incognita* pada tanaman kopi, kedua bakteri tersebut dapat menekan populasi dan jumlah puru akar nematoda 33% dan 39%. Di samping itu, beberapa peneliti juga melaporkan penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda komoditas lain seperti: kentang, pisang, kapas, padi, nilam, dan beberapa tanaman hortikultura. Hallmann *et al.* (1997) menggunakan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda puru akar (*Meloidogyne incognita*). Sikora dan Pocasangre (2006) dan Sikora *et al.* (2007) untuk mengendalikan nematoda ginjal (*Rotylenchulus reniformis*), nematoda kista (*Globodera pallida*), nematoda pelubang akar (*Radopholus similis*) dan Harni *et al.* (2007) menggunakan untuk nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*), baik pada skala laboratorium, rumah kaca maupun lapang.

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi isolat bakteri endofit yang potensial untuk mengendalikan nematoda pada tanaman kopi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Desember 2012 di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegaran, Sukabumi.

Eksplorasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit dieksplorasi dari akar kopi yang diambil dari pertanaman kopi di beberapa daerah di Jawa Barat (KP. Pakuwon, Sukabumi, Garut, dan Pengalengan) dan Lampung (KP. Natar, KP. Cahaya Negeri, dan Liwa). Pemilihan lokasi eksplorasi karena daerah tersebut merupakan pusat pertanaman kopi, kecuali untuk Pakuwon yang merupakan kebun percobaan kopi Balai Penelitian

Tanaman Industri dan Penyegar. Metode pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil akar tanaman kopi secara diagnostik, yaitu tanaman yang memperlihatkan pertumbuhan yang baik (sehat) di antara tanaman sakit, atau tanaman yang paling baik pertumbuhannya dibandingkan dengan tanaman di sekitarnya.

Isolasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit dari akar kopi diisolasi menggunakan metode Hallmann (2001). Masing-masing sampel akar dicuci dengan air mengalir sampai bersih, dikeringkan dengan kertas tisu, dan ditimbang sebanyak 1 g. Permukaan akar disterilisasi dengan cara direndam selama 1 menit dalam larutan NaOCl 5% yang telah diberi 0,01% Tween 20, kemudian akar dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Untuk memastikan proses sterilisasi permukaan akar berhasil atau tidak, maka akar diletakkan di atas permukaan media *Tryptic Soy Agar* (TSA) 10%, di dalam cawan petri kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Adanya pertumbuhan mikroorganisme di sekeliling akar, berarti proses sterilisasi gagal dan akar tidak dapat digunakan, sedangkan tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme berarti permukaan akar sudah steril dan proses isolasi bakteri endofit dapat dilanjutkan. Akar yang permukaannya sudah steril kemudian dihancurkan dengan mortar steril sampai halus. Ekstrak akar dicampur dengan 9 ml air steril dalam tabung reaksi, dikocok dengan menggunakan vorteks, selanjutnya 1 ml ekstrak diencerkan kembali ke dalam 9 ml air steril pada tabung reaksi, dengan demikian diperoleh tingkat pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara yang sama sehingga diperoleh pengenceran 10^{-3} . Dari pengenceran 10^{-3} diambil 0,1 ml ekstrak dan ditumbuhkan pada media TSA 10% lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. Koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA 10% dihitung dan dimurnikan pada media TSA 100%. Bakteri yang sudah murni dimasukkan ke dalam eppendorf yang telah berisi air steril kemudian disimpan pada suhu 4 °C. Selanjutnya dikarakterisasi berdasarkan ukuran, bentuk, warna, dan pinggiran koloni.

Seleksi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Nematoda

Bakteri yang bersifat antagonis adalah bakteri yang dapat menghambat atau mematikan patogen dengan metabolismik yang dihasilkannya. Mekanismenya bisa berupa antibiosis dengan menghasilkan enzim, senyawa-senyawa volatil, zat pelisis, dan substansi racun lainnya (Baker dan Cook, 1974). Pengujian bakteri yang bersifat antagonis dapat dilakukan dengan mengadu isolat bakteri dengan patogen. Isolat-isolat yang memperlihatkan daya hambat diuji daya mortalitasnya terhadap nematoda. Caranya bakteri endofit ditumbuhkan pada media *Tryptic Soy Broth* (TSB) selama 48 jam, kemudian disaring dengan kertas saring dan terakhir disaring dengan millipore. Cairan hasil saringan diuji pada nematoda.

Seleksi Bakteri Endofit Pemicu Pertumbuhan Tanaman

Seleksi bakteri endofit yang bersifat pemicu pertumbuhan dilakukan pada tanaman tomat (sebagai tanaman model). Benih tomat direndam dalam suspensi isolat bakteri selama 1 jam, selanjutnya benih disimpan di dalam kertas merang yang sudah dilembabkan, kemudian disimpan dalam box plastik. Untuk kontrol, benih tomat direndam dalam air steril. Pengamatan dilakukan terhadap panjang akar 4 hari setelah tanam.

Seleksi Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Nematoda *Pratylenchus coffeae* di Rumah Kaca

Isolat bakteri endofit terbaik (18 isolat) hasil *in vitro* diuji di rumah kaca. Isolat-isolat bakteri ditumbuhkan pada cawan petri yang berisi media *Tryptic Soy Agar* (TSA) kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. Selanjutnya bakteri disuspensikan dalam air steril dan diukur kerapatan populasinya secara spektrometrik mencapai 10^9 cfu/ ml atau $OD_{600} = 1$.

Tanaman kopi varietas Arabika umur 6 bulan diperlakukan dengan bakteri endofit dengan cara menyiramkan 100 ml suspensi bakteri endofit ke dalam pot yang berisi tanah steril (tanah:pasir, 2:1) sebanyak 3 kg/pot. Sebagai pembanding digunakan isolat TT dan MER yang sudah teruji

keefektifannya. Untuk kontrol tanaman hanya disiram dengan air steril. Satu minggu setelah perlakuan bakteri endofit, tanaman diinokulasi dengan nematoda. Inokulasi nematoda dilakukan dengan cara menuangkan suspensi nematoda di sekeliling tanaman pada kedalaman 1 cm. Populasi nematoda per tanaman adalah 500 ekor yang terdiri atas nematoda betina dan larva. Tiga bulan setelah inokulasi, tanaman dibongkar, akar dicuci, dan dikeringanginkan. Pengamatan dilakukan terhadap daya antagonis bakteri dan bobot pertumbuhan tanaman. Daya antagonis diamati dengan menghitung faktor reproduksi (p_f/p_i) nematoda. Faktor reproduksi adalah perbandingan antara populasi akhir dengan populasi awal nematoda. Nematoda pada akar diekstraksi dengan metode *Funnel spray method*, sedangkan tanah diisolasi dengan metode corong Baerman. Bobot tanaman yang diamati adalah tinggi tanaman, berat tajuk, dan berat akar tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit

Hasil isolasi bakteri endofit pada perakaran tanaman kopi dari beberapa daerah di Jawa Barat (KP. Pakuwon, Sukabumi, Garut, dan Pengalengan) dan Lampung (KP. Natar, KP. Cahaya Negeri, dan Liwa) diperoleh 422 isolat dengan kerapatan populasi bakteri endofit sangat bervariasi antara 5×10^3 – $5,77 \times 10^6$ cfu/g berat basah akar (Tabel 1). Kerapatan populasi tertinggi diperoleh pada kopi varietas Excelsa dari daerah Liwa yaitu $5,7 \times 10^6$ dan terendah kopi varietas Lokal dari daerah Sukabumi $5,0 \times 10^3$. Berbedanya kerapatan populasi bakteri terjadi karena perbedaan varietas, habitat, dan lingkungan dari tanaman kopi. Kerapatan bakteri yang diperoleh hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Mekete *et al.* (2009) bahwa kerapatan populasi bakteri endofit pada tanaman kopi adalah $5,2 \times 10^2$ – $2,07 \times 10^6$ cfu/g akar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi bakteri di daerah Pengalengan ($1,34 \times 10^6$) dan Liwa ($1,07 \times 10^6$) lebih tinggi dari lokasi lain seperti, KP. Pakuwon ($1,07 \times 10^5$), Garut ($2,8 \times 10^4$), KP. Cahaya Negeri ($3,8 \times 10^5$), dan KP. Natar ($4,2 \times 10^5$). Beragamnya populasi yang

didapat selain dipengaruhi varietas dipengaruhi oleh teknik budidaya. Pada daerah Pengalengan dan Liwa eksplorasi dilakukan pada tanaman kopi yang budidayanya tidak menggunakan bahan kimia sintetis seperti nematisida dan pupuk kimia. Sedang di daerah KP. Natar, KP. Cahaya Negeri, Garut, dan KP. Pakuwon tanaman kopi di budidayakan dengan penambahan input-input kimia seperti pemberian pupuk anorganik. Mekete *et al.* (2009) melaporkan bahwa teknik budidaya sangat mempengaruhi populasi bakteri endofit pada tanaman kopi. Kerapatan populasi endofit pada kopi semi hutan dan hutan lebih tinggi dibandingkan kopi di perkebunan skala besar.

Seleksi Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis

Hasil pengujian isolat bakteri endofit yang bersifat antagonis dari 422 isolat yang diuji diperoleh 51 isolat (12,3%) dengan daya bunuh terhadap nematoda 5–80%. Mekanisme bakteri endofit melindungi tanaman dari infeksi nematoda melalui beberapa cara di antaranya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat nematisidal. Senyawa hasil metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit yang dapat membunuh nematoda adalah antibiotik, HCN, dan siderofor (Keel *et al.*, 1992; Notz *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2002; Siddiqui dan Shaukat, 2003).

Seleksi Bakteri Endofit Pemicu Pertumbuhan

Hasil seleksi bakteri endofit yang bersifat pemicu pertumbuhan, dari 422 isolat yang diuji, 60 isolat (14,21%) dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Menurut Kloepper *et al.* (1999), bahwa bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, bakteri ini dapat menyediakan nutrisi bagi tanaman, seperti nitrogen, fosfat, dan mineral lainnya serta menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auxin, dan sitokin (Khalid *et al.*, 2004). Secara tidak langsung bakteri terlebih dahulu menekan pertumbuhan mikroorganisme pengganggu, yaitu *deleterious microorganisms rhizobacteria* (DMRO) melalui mekanisme kompetisi, predasi dan antibiotik yang dihasilkannya (Kloepper *et al.*, 1999).

Tabel 1. Kerapatan populasi bakteri endofit dalam sampel akar kopi dari beberapa daerah di Jawa Barat dan Lampung

Table 1. Population density of endophytic bacteria on coffee root isolated from several areas of West Java and Lampung

No	Lokasi	Varietas	Populasi bakteri endofit cfu/g akar	Isolat yang dimurnikan
1.	Garut	Ateng 1	$12,8 \times 10^3$	14
2.	Garut	Ateng 2	$4,4 \times 10^4$	18
3.	Pengalengan	Andungsari	$1,1 \times 10^5$	21
4.	Pengalengan	Prianger	$1,7 \times 10^5$	16
5.	Pengalengan	Tim-tim	$3,71 \times 10^6$	27
6.	Pengalengan	Ateng (daun coklat)	$1,27 \times 10^6$	19
7.	KP. Pakuwon	Kartika 1	$3,0 \times 10^5$	14
8.	KP. Pakuwon	Kartika 2	$9,0 \times 10^4$	41
9.	Sukabumi	Lokal	$5,0 \times 10^3$	15
10.	KP. Natar	BP436	$5,7 \times 10^5$	8
11.	KP. Natar	BP939	$2,84 \times 10^5$	10
12.	KP. Natar	BP504	$4,2 \times 10^5$	12
13.	KP. Cahaya Negeri	Exelsa	$5,77 \times 10^5$	8
14.	KP. Cahaya Negeri	Lokal	$2,0 \times 10^5$	21
15.	Liwa	Exelsa	$5,7 \times 10^6$	12
16.	Liwa	Wulung	$2,06 \times 10^6$	12
17.	Liwa	BP436	$1,02 \times 10^6$	8
18.	Liwa	SA237	$6,2 \times 10^5$	10
19.	Liwa	BP936	$1,78 \times 10^6$	9
21.	Liwa	BP254	$1,14 \times 10^6$	17
22.	Liwa	Aigawa	$2,0 \times 10^5$	9
23.	Liwa	BP47	$2,3 \times 10^5$	7
24.	Liwa	BP923	$2,6 \times 10^5$	5
25.	Liwa	BP913	$1,5 \times 10^5$	3
26.	Liwa	BP397	$6,0 \times 10^4$	5
27.	Liwa	BP288	$5,9 \times 10^5$	10
28.	Liwa	BP436	$4,17 \times 10^6$	13
29.	Liwa	BP935	$6,3 \times 10^5$	12
30.	Liwa	BP234	$1,0 \times 10^5$	12
31.	Liwa	BP489	$6,3 \times 10^5$	6
32.	Liwa	BP42	$1,0 \times 10^5$	6
33.	Liwa	BP308	$4,27 \times 10^6$	9
34.	Liwa	BP534	$1,81 \times 10^6$	8
35.	Liwa	BP418	$5,2 \times 10^5$	5
Jumlah				422

Seleksi Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Nematoda *Pratylenchus coffeae* di Rumah Kaca

Hasil pengujian dari 18 isolat bakteri endofit terhadap nematoda *P. coffeae* di rumah kaca, semua isolat bersifat antagonis terhadap nematoda karena dapat menekan perkembangan nematoda di dalam akar dibandingkan kontrol dengan $pf/pi = 0,06-0,81$, sedangkan pada kontrol $pf/pi = 1,20$ (Tabel 2). Terjadinya hal tersebut karena bakteri endofit merupakan agens antagonis terhadap nematoda sehingga dapat menekan perkembangan *P. coffeae* di dalam akar. Bakteri antagonis, yaitu bakteri yang dapat menghambat reproduksi nematoda sehingga populasi akhir lebih rendah dari populasi awal, dengan salah satu indikatornya adalah kemampuan bakteri endofit menghambat laju perkembangan nematoda (pf/pi) di akar.

Hasil penelitian isolat bakteri endofit terhadap nematoda *P. coffeae* menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji dapat menekan secara nyata populasi nematoda dibandingkan kontrol (tanaman diinokulasi nematoda) (Tabel 2). Pengaruh tertinggi pada perlakuan isolat PG132, PG76, LW15, LW13, dan PG56 nyata lebih baik dibanding dengan isolat-isolat lain dengan populasi nematoda 30, 33, 40, 46, dan 47 ekor. Populasi nematoda *P. coffeae* tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol, yaitu 598 ekor dan terendah pada perlakuan PG132, yaitu 30 ekor. Hal ini disebabkan oleh bakteri endofit dapat melindungi akar tanaman kopi dari infeksi nematoda, dengan cara mengkolonisasi jaringan internal akar dan menghasilkan metabolit yang dapat menekan perkembangan nematoda (Hallmann, 2001).

Tabel 2. Pengaruh isolat bakteri endofit terhadap populasi nematoda, faktor reproduksi dan efek antagonis dalam akar kopi 12 minggu setelah aplikasi
 Table 2. The effect of endophytic bacteria isolates on population of nematode, reproduction factor and antagonistic effect in coffee roots at 12 weeks after application

No.	Isolat	Populasi nematoda	Pf/pi	Pengurangan populasi (%)	Efek antagonis
1.	LW28	248	0,50	58,53	+
2	LW33	270	0,54	54,85	+
3	PG2	80	0,16	86,62	+
4	PG94	243	0,49	59,36	+
5	MER	404	0,81	32,44	+
6	TT	197	0,39	67,06	+
7	PG56	47	0,09	92,14	+
8	L45	297	0,59	50,33	+
9	LW19	257	0,51	57,02	+
10	PG36	231	0,46	61,37	+
11	LW13	46	0,09	92,31	+
12	LW15	33	0,07	94,48	+
13	LW16	57	0,11	90,47	+
14	PG132	30	0,06	94,98	+
15	PG43	48	0,10	91,97	+
16	PG76	40	0,08	93,31	+
17	PG33	379	0,76	36,62	+
18	L24	382	0,76	36,12	+
19	K+	598	1,20	-	-

Keterangan : Efek antagonis + bila bakteri dapat menekan populasi nematoda dengan pf/pi kurang dari pf/pi pada tanaman kontrol + (tanaman hanya diinokulasi dengan nematoda), sedang antagonis - bila bakteri tidak dapat menekan populasi nematoda ($pf/pi \geq pf/pi$ kontrol +). Pf/pi = perbandingan populasi akhir dengan populasi awal.

Notes : The effect of antagonistic + if bacteria can reduce the population of nematode with pf/pi less than pf/pi in control + (plants only inoculated with the nematode), antagonistic - if bacteria can not reduce the population of nematode ($pf/pi \geq pf/pi$ control +). pf/pi =comparison of final population with early population.

Tabel 3. Pengaruh bakteri endofit terhadap tinggi tanaman, bobot akar dan bobot tajuk tanaman kopi 12 minggu setelah aplikasi
 Table 3. The effect of endophytic bacteria on plant height, root weight, and canopy height of coffee at twelve weeks after application

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

Persentase penurunan populasi nematoda *P. coffeae* oleh bakteri endofit sangat nyata pada tanaman kopi dibanding kontrol. Penurunan persentase populasi tertinggi pada penggunaan isolat PG132, yaitu sebesar 94,98% kemudian diikuti oleh isolat LW15, PG76, LW13, dan PG56

berturut-turut, yaitu 94,48%; 93,31%; 92,31%; dan 92,14% (Tabel 2). Terjadinya penurunan populasi nematoda *P. coffeae* pada akar kopi karena perlakuan bakteri endofit dapat menekan penetrasi dan reproduksi nematoda di dalam akar (Sikora *et al.*, 2007).

Hasil penelitian terhadap pertumbuhan tanaman kopi menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri endofit dapat memicu pertumbuhan (tinggi tanaman, berat tajuk, dan berat akar) dibandingkan kontrol (Tabel 3). Tinggi tanaman tertinggi adalah pada perlakuan isolat PG56, yaitu 39,3 cm, selanjutnya berturut-turut isolat-isolat PG43, LW13, PG76, dan PG132, yaitu 33; 32; 28,4; dan 27 cm, sedangkan pada kontrol tinggi tanaman 21,6 cm.

Pengaruh isolat bakteri endofit terhadap berat tajuk dan berat akar tanaman nyata lebih baik dibandingkan kontrol. Isolat terbaik adalah PG132, PG76, LW15, LW13, dan PG43 (Tabel 3). Terjadinya peningkatan pertumbuhan seperti tinggi tanaman, berat tajuk dan berat akar disebabkan oleh penekanan populasi nematoda oleh bakteri endofit sehingga kerusakan akar berkurang. Di samping itu bakteri endofit dapat merangsang pembentukan akar lateral dan jumlah akar sehingga dapat memperluas penyerapan unsur hara (Vasudevan *et al.*, 2002).

KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri endofit dari akar kopi diperoleh 442 isolat dengan kerapatan populasi bakteri endofit 5×10^3 – $5,77 \times 10^6$ cfu/g berat basah akar. Berdasarkan hasil penelitian dari 422 isolat yang diuji, 50 isolat (12,3%) di antaranya adalah isolat antagonis, 60 isolat (14,21%) terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil pengujian *in vitro* dan *in vivo* di rumah kaca diperoleh 3 isolat yang potensial menekan nematoda *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi, yaitu PG132, PG76, dan LW15.

DAFTAR PUSTAKA

- Bacon, C. W. and S. S. Hinton. 2007. Bacterial Endophytes: The Endophytic Niche, Its Occupants, and Its Utility. In Gnanamanickam S. S. Gnanamanickam (Ed). Plant-Associated Bacteria. Springer, Berlin. p. 155–194.
- Baker, K. F. and R. J. Cook. 1974. Biological Control of Microbial Plant Pathogen. Freeman, San Francisco.
- Benhamou, W. H. N., J. W. Kloepfer, A. Quadt-Hallman, and S. Tuzun. 1996. Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. *Plant Physiology* 112: 919-929.
- Ditjenbun. 2012. Kopi. Direktorat Jenderal Perkebunan. Jakarta.
- Hallmann, J., A. Quadt-Hallmann, W. F. Mahaffee, and J. W. Kloepfer. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 895-914.
- Hallmann, J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. In Jeger M. J. and N. J. Spence. (Eds). Biotic Interaction In Plant-Pathogen Associations. CAB International.
- Hallmann, J. and G. Berg. 2006. Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. In Schulz B., C. Boyle, and T. Sieber. (Eds). *Soil Biology Microbial Root Endophytes* 9: 15-31.
- Harni, R., A. Munif, Supramana, and I. Mustika. 2007. Pemanfaatan bakteri endofit untuk mengendalikan nematode peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. *Jurnal Hayati* 14 (1): 7-12.
- Keel, C., U. Schneider, M. Maurhofer, C. Voisard, J. Laville, U. Burger, P. Wirthner, D. Haas, and G. Defago. 1992. Supression of root disease by *Pseudomonas fluorescens*. CHAO: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4 diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant-Microbe Interact* 5: 4-13.
- Khalid, A., M. Arshad, and Z. A. Zahir. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat (abstract). *App Microb.* 96: 473.
- Kloepfer, 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* 28: 21-26.
- 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.
- McInroy, J. A. and J. W. Kloepfer. 1995. Population dynamics endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 3895-3901.
- Mekete, T., J. Hallmann, K. Sebastian, and R. Sikora. 2009. Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonisme *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 11 (1): 117-127.

- Notz, R., M. Maurhofer, U. Schnider-Keel, B. Duffy, D. Haas, and G. Défago. 2001. Biotic factors affecting expression of the 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis gene *phlA* in *Pseudomonas fluorescens* biological control strain CHA0 in the rizosphere. *Phytopathology* 91: 873-881.
- Siddiqui, I. A. and S. S. Shaukat. 2003. Endophytic bacteria: prospects and opportunities for the biological control of plant parasitic nematodes. *Nematological Mediterranea* 31: 111-120.
- Sikora, R. A. and L. Pocasangre. 2006. The concept of a suppressive banana plant: root health management with a biological approach. Proceedings of the XVII ACROBAT international congress, Joinville – Santa Catarina, Brazil 2006. Vol. I'. (Eds) Soprano, E., F. A. Tcacenco, L. A. Lichtenberg, and M. C. Silva. Association for Cooperation in Research on Banana in the Caribbean and Tropical America: Joinville, Brazil. p. 241–248.
- Sikora, R. A., K. Schafer, and A. A. Dababat. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology* 36: 124-134.
- Vasudevan, P., M. S. Reddy, S. Kavitha, P. Velusamy, and R.S.D. Paulraj. 2002. Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. *Current Science* 83: 1140-1143.
- Zinniel, D. K., P. Lambrecht, N. B. Harris, Z. Feng, D. Kuczmarski, and P. Higley. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *App. Env. Microbiology* 68: 2198-2208.