

# SKRINING KEMAMPUAN PATOGENISITAS ISOLAT ACTINOMYCETES ASAL RHIZOSFER KOPI DALAM MENGINFEKSI TELUR DAN LARVA STADIUM 2 NEMATODA PURU AKAR *Meloidogyne* Sp.

Agustinur<sup>1</sup>, Siwi Indarti<sup>2</sup>, Donny Widianto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Teuku Umar, Meulaboh 23615.

<sup>2</sup> Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta,

E-mail: agustinur.hamka@gmail.com

## ABSTRACT

Root-knot Nematode (*Meloidogyne* sp.) is one of plant-parasitic nematode causing a serious damage of coffee. The spread of this parasites occurs through the distribution the number of eggs on the plantation, while the process of infection in plants is acted by juvenile 2. Therefore, to solve this problem, several effort to decrease the infesting nematodes are needed. This may be done by using natural enemy that can suppress and control eggs and juvenile 2. The objective of this research was to determine the potency of pathogenicity of actinomycetes toward *Meloidogyne* eggs and juvenile 2. A total of 39 actinomycetes isolates were obtained from rhizosphere soil of coffee plantation from PT Perkebunan Nusantara XII, Bondowoso, East Java. The result of in vitro pathogenicity screening showed that there are 5 isolates (P2A01, K1B1, P4A04, H106 and H203) than had the potency in controlling eggs and juvenile 2. Then, crude extract of the isolates tested on mature and immature eggs. The result showed that isolates H106 and P2A01 were able to control *Meloidogyne* by triggering immature egg hatching and increase juvenile mortality. While isolates P4A04, K1B1 and H203 could decrease the percentage of egg hatching as well as increase juvenile mortality.

**Keywords:** Actinomycetes, *Meloidogyne* sp., Pathogenicity, Egg, Juvenile 2

## PENDAHULUAN

Nematoda puru akar, *Meloidogyne* sp., merupakan salah satu nematoda parasit tanaman yang diketahui telah menyebabkan timbulnya kerugian terhadap hasil panen berbagai tanaman budidaya, salah satu di antaranya adalah tanaman kopi. Kelompok nematoda ini memiliki serangan relatif besar, yaitu mencapai 32%, yang terjadi hampir di seluruh sentra perkebunan kopi di Indonesia, seperti di provinsi Aceh, Lampung, Jawa tengah, Jawa timur, Bali, Sulawesi selatan dan Nusa tenggara timur

(Wiryadiputra dan Tran, 2008). Serangan ini mengakibatkan terjadinya penurunan angka produksi kopi sebesar 11%, dengan nominal kerugian diperkirakan mencapai US\$ 63 juta/tahun dari keseluruhan angka ekspor kopi (ICO, 2014). Umumnya nematoda puru akar menyerang tanaman kopi dengan cara menginfeksi bagian akar. Di dalam jaringan akar, larva infeksiif nematoda menyerang tanaman kopi dengan cara menghisap nutrisi dari sel-sel akar tanaman sehingga jaringan pembuluh tanaman menjadi terganggu, akibatnya translokasi air

dan hara menjadi terhambat. Tidak hanya itu, serangan nematoda juga dapat mempengaruhi proses fotosintesis dan transpirasi sehingga menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat, warna daun menguning seperti gejala kekurangan hara dan mudah layu (Lopez, 2004). Nematoda puru akar diketahui memiliki beberapa fase dalam siklus hidupnya, yaitu telur, 4 fase larva dan dewasa. Fase telur dan larva stadium II merupakan fase saat nematoda ini berada di lingkungan luar. Dalam sekali bertelur, nematoda puru akar ini diperkirakan mampu mengeluarkan hingga 2000 butir telur dari kantung gelatin (*egg mass*). Di dalam telur, larva stadium pertama berkembang dan mengalami pergantian kulit hingga menjadi larva stadium II. Larva stadium II inilah yang memiliki kemampuan untuk menginfeksi jaringan tanaman. Setelah menemukan tanaman inang yang sesuai, nematoda tersebut akan menetap di dalam akar. Perkembangan larva stadium II akan berlanjut di dalam jaringan inang hingga fase dewasa dan kembali menghasilkan telur. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menangani serangan hama nematoda puru akar adalah dengan memutus siklus hidupnya pada fase telur dan stadium II melalui musuh alami yang memiliki

kemampuan antagonis. Di antara musuh alami yang diketahui mampu mengendalikan *Meloidogyne* sp. adalah kelompok actinomycetes yang umumnya berhabitat di tanah dan lingkungan sekitar perakaran (rhizosfer) tanaman. Menurut Oliveira *et al.* (2007), mikroorganisme yang terdapat pada bagian rhizosfer tanaman yang terinfeksi nematoda memiliki potensi besar sebagai musuh alami untuk kemudian dijadikan pengendali yang mampu menekan pertumbuhan dan penyebaran hama ini. Hal tersebut diperkuat karena mikroorganisme ini sudah beradaptasi dan memiliki mekanisme tertentu sebagai upaya pertahanan hidup di lingkungan yang menjadi habitat nematoda parasit. Selain itu, actinomycetes juga dianggap menjadi salah satu agens pengendali hayati yang paling berpotensi karena diketahui memiliki beberapa mekanisme antagonistik diantaranya adalah dengan menghasilkan enzim hidrolitik ekstraseluler dan antibiotik serta berbagai macam metabolit sekunder lain (Ashokvardhan *et al.*, 2014; Jain *et al.*, 2009; Mitra *et al.*, 2005; Rifaat *et al.*, 2007; Brzezinska *et al.*, 2013; Mane dan Desmukh, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan patogenisitas actinomycetes yang berasal dari rhizosfer tanaman kopi dalam menginfeksi telur dan

larva stadium 2 nematoda puru akar, *Meloidogyne* sp.

## **BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

### **Pengambilan dan preparasi sampel**

Pengambilan sampel dilakukan di perkebunan kopi PT Perkebunan Nusantara XII, Bondowoso, Jawa Timur. Sebanyak 500 g sampel tanah diambil pada kedalaman 10 cm dari permukaan tanah pada 10 titik yang ada di afdeling Plalangan dan Kalisat. Sampel tanah yang diambil berasal dari rhizosfer tanaman sehat dan juga tanaman yang diperkirakan telah terkena infeksi nematoda. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium dan ditempatkan pada cawan petri, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 50°C selama 60 menit sebelum digunakan untuk mengisolasi (Takizawa *et al.*, 1993).

### **Isolasi dan purifikasi Actinomycetes**

Isolasi dilakukan dengan mencampurkan 1 g sampel ke dalam 9 ml akuades steril dan dihomogenkan menggunakan vortex (Khasabuli dan Nyamache, 2014). Kemudian dilakukan pengenceran serial hingga seri  $10^{-5}$ , yaitu dengan cara mencampurkan 1 ml sampel ke dalam 9 ml akuades steril secara bertahap (Oskay *et al.*, 2004, Khasabuli dan Nyamache, 2014). Sebanyak 0,1 ml sampel dari pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  diinokulasi pada media

SNA (*Starch Nitrate Agar*) dengan menggunakan teknik *pour plate*, masing-masing pengenceran dibuat sebanyak 2 ulangan (duplo). Sebelum dituang, media SNA ditambahkan terlebih dahulu dengan antifungi nistatin sebanyak 2 ml/100 ml media. Selanjutnya media yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu ruang selama 7-10 hari. Pengamatan dilakukan dengan mengamati pertumbuhan koloni pada permukaan media. Koloni yang tumbuh masih berupa koloni campuran sehingga perlu dilakukan purifikasi. Koloni actinomycetes ditandai dengan ciri koloni yang menyerupai fungi, namun memiliki bentuk yang lebih lekat dan padat serta ukuran yang lebih kecil. Koloni hasil purifikasi kemudian digores pada media SNA baru dan diinkubasi kembali. Selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi terhadap koloni untuk membedakan isolat (Shirling dan Gottlieb, 1966).

### **Persiapan Telur Nematoda Uji dan Suspensi Spora Isolat Actinomycetes**

Telur nematoda diperoleh dengan cara diekstraksi dari akar tanaman tomat yang telah terinfeksi. Infeksi tersebut ditandai dengan terbentuknya puru akar pada akar tanaman tomat, terutama pada akar lateral. Akar tomat tersebut diambil dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan

tanah yang menempel, kemudian akar dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi natrium hipoklorida (NaOCl) 1% sebanyak 100 ml, lalu digojog keras selama 15 menit. Selanjutnya suspensi disaring menggunakan saringan bertingkat (dari atas ke bawah) 200 mesh dan 400 mesh. Telur yang tertinggal pada saringan 400 mesh dicuci menggunakan akuades steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan residu NaOCl (Sun *et al.*, 2006). Setelah bersih, telur tersebut dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dapat digunakan untuk uji patogenesis.

Persiapan suspensi spora actinomycetes diawali dengan mengkulturkan Isolat actinomycetes pada media miring SNA dan diinkubasi selama 7 hari. Selanjutnya sebanyak 5 ml larutan tween 80 0.05% dimasukkan ke dalam tabung tersebut dan digojog keras sehingga spora yang ada pada miselium aerial terlepas ke dalam larutan membentuk suspensi spora. Kemudian dilakukan penghitungan densitas spora yang ada di dalam suspensi dengan menggunakan hemasitometer. Suspensi tersebut diencerkan hingga jumlah kepadatan spora di dalamnya mencapai  $10^6$ /ml.

## **Skrining Patogenesis Isolat Actinomycetes terhadap Telur dan Larva *Meloidogyne***

Sebanyak 50 telur nematoda dimasukkan ke dalam gelas sirakus, kemudian ditambahkan 400  $\mu$ l suspensi spora masing-masing isolat actinomycetes. Pengujian dilakukan sebanyak 4 ulangan untuk masing-masing isolat berbeda beserta kontrol tween 80 0,05% dan akuades. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (Ruanpanun *et al.*, 2010). Pengamatan dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu pada hari ke 3, 5 dan 7 dengan menghitung jumlah telur yang menetas serta jumlah larva stadium 2 yang mati pada hari ke 7.

## **Uji toksisitas ekstrak kasar kultur cair isolat actinomycetes**

Ekstrak kasar kultur cair diperoleh dari 5 isolat terpilih yang memiliki kemampuan paling baik dalam menghambat penetasan telur dan meningkatkan kematian larva. Masing-masing isolat tersebut dikulturkan pada 50 ml media cair dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang sambil digojog dengan kecepatan 100 rpm (Srividya *et al.*, 2012). Setelah dipanen, kultur cair isolat disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 25 menit untuk memisahkan antara sel actinomycetes dengan filtrat kultur. Supernatan diambil dan

disaring menggunakan kertas saring yang memiliki diameter pori 5  $\mu\text{m}$  dan 0.22  $\mu\text{m}$  (Padgham and Sikora, 2007). Supernatan dari 5 isolat yang telah disaring masing-masing diujikan terhadap telur nematoda. Telur uji yang digunakan dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu telur muda dan telur tua. Pemilihan telur tersebut dilakukan berdasarkan kenampakan larva yang ada di dalam telur. Sebanyak 50 butir telur dimasukkan ke dalam sumuran yang ada pada *multi-well plate*. Kemudian ditambahkan ekstrak kasar isolat sebanyak 400  $\mu\text{l}$ . pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah larva yang menetas secara bertahap pada hari ke-3, 5 dan hari ke-7, serta pengamatan terhadap larva yang mati pada hari terakhir pengamatan. Pengujian dilakukan sebanyak 4 ulangan untuk masing-masing kelompok telur uji.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, diperoleh sebanyak 39 isolat actinomycetes dari sampel tanah rizosfer tanaman kopi. Pada sampel tanaman kopi yang tidak terinfeksi nematoda diperoleh sebanyak 18 isolat, sementara pada sampel tanaman kopi yang menunjukkan gejala terinfeksi nematoda diperoleh sebanyak 21 isolat. Berdasarkan karakter koloni isolat, terlihat bahwa semua

isolat yang diperoleh memiliki karakteristik permukaan berbukuk dengan warna miselium aerial yang beragam, mulai dari putih, krem, abu-abu, merah muda, merah hingga cokelat. Permukaan koloni yang berbukuk menunjukkan bahwa isolat menghasilkan spora. Jumlah isolat yang diperoleh, baik yang berasal dari rizosfer tanaman terinfeksi maupun yang tidak terinfeksi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, demikian juga dengan karakter isolat, tidak terdapat karakter morfologi koloni yang spesifik antara isolat yang diperoleh dari kedua sumber tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa actinomycetes dapat berhabitat, baik pada rizosfer tanaman yang terinfeksi maupun tanaman yang tidak terinfeksi. Isolat yang diperoleh dari hasil isolasi selanjutnya diujikan ke telur *M. incognita*. Dari hasil uji statistik, pengaruh pemberian isolat menunjukkan perbedaan yang signifikan. Selanjutnya seleksi isolat dilakukan dengan mempertimbangkan persentase jumlah telur uji yang menetas serta jumlah larva yang mati setelah diberi perlakuan. Isolat yang memiliki potensi pengendalian adalah isolat yang mampu menurunkan angka penetasan serta meningkatkan angka mortalitas. Dari 2 parameter tersebut, dipilih sebanyak 15 besar isolat yang menunjukkan pengaruh

penetasan di bawah angka rata-rata 45,96% dari keseluruhan data pada skrining awal, serta 12 besar isolat yang menunjukkan pengaruh mortalitas di atas angka rata-rata 20,38%.

Berdasarkan hasil seleksi tersebut terdapat sebanyak 10 isolat yang memenuhi kedua parameter, yaitu isolat P1B01, K1B1, P3A02, H203, P1B02, F204, F206, P2B02, F103 dan P4A04. Sebanyak 5 isolat memenuhi kriteria penetasan, yaitu isolat P3B03, P2B04, H106, K1B4 dan B203, serta sebanyak 2 isolat memenuhi kriteria mortalitas, yaitu isolat P1A01 dan P2A01. Hasil uji potensi patogenisitas menunjukkan bahwa penghambatan penetasan telur sudah mulai terlihat pada hari ke 3 pasca pengujian (Tabel 1). Seleksi isolat pada tahap ini dilakukan dengan mempertimbangkan angka penetasan telur dan mortalitas larva. Isolat yang dipilih adalah isolat yang mampu memperlihatkan pengaruh angka penetasan yang rendah sekaligus angka mortalitas yang tinggi, atau isolat yang menyebabkan angka penetasan yang tinggi dan disertai dengan angka mortalitas yang tinggi pula. Dua kategori isolat tersebut diperkirakan mampu

menekan pertumbuhan populasi nematoda dengan sasaran kerusakan yang ditimbulkan adalah pada fase telur dan larva stadium 2.

Isolat yang menunjukkan pengaruh angka penetasan rendah sekaligus angka mortalitas tinggi adalah isolat P2A01 dan K1B1 dengan pengaruh persentase penetasan yang ditunjukkan masing-masing perlakuan sebesar 33,69% dan 33,57%, serta pengaruh persentase mortalitas mencapai angka 35,41% dan 47,6%. Kedua isolat ini diduga mampu bekerja menghambat pertumbuhan populasi pada kedua fase, yaitu telur dan larva stadium 2. Sementara kategori isolat yang menunjukkan pengaruh angka penetasan tinggi dan mortalitas tinggi adalah isolat P4A04, H106, dan H203 dengan persentase penetasan 60,78%, 59,98% dan 58,22%, sedangkan persentase mortalitas yang ditunjukkan adalah 43,9%, 41,34% dan 37,66%. Ketiga isolat ini diduga bekerja dengan cara mempercepat penetasan telur, sehingga larva yang menetas bersifat lemah dan tidak dapat bertahan. Oleh karena itu, kelima isolat tersebut, P2A01, H106, P4A04, H106 dan H203 dipilih untuk uji selanjutnya, yaitu uji toksisitas kultur cair.

Tabel 1. Pengaruh pemberian suspensi isolat terhadap persentase penetasan telur dan mortalitas larva *Meloidogyne* sp.

Isolat	Penetasan telur (%)			Mortalitas larva hari ke 7 (%)
	Hari 3	Hari 5	Hari 7	
F204	19.88	37.80	50.96 cde	49.19 a
F206	23.99	38.53	53.93 bcd	39.46 ab
<b>H106</b>	<b>26.05</b>	<b>42.22</b>	<b>59.98 b</b>	<b>41.34 ab</b>
<b>H203</b>	<b>13.32</b>	<b>41.27</b>	<b>58.22 bc</b>	<b>37.66 ab</b>
P1B01	24.20	38.67	53.52 bcd	44.08 ab
P1B02	15.31	35.82	58.67 bc	31.11 bc
<b>P4A04</b>	<b>24.79</b>	<b>39.32</b>	<b>60.78 b</b>	<b>43.90 ab</b>
P3B03	18.19	40.01	55.86 bcd	47.95 a
<b>K1B1</b>	<b>8.04</b>	<b>21.71</b>	<b>33.57 fg</b>	<b>47.60 a</b>
B203	9.25	18.50	43.00 ef	36.20 ab
F103	13.85	34.04	58.14 bc	18.08 cd
P1A01	15.35	28.12	57.58 bcd	38.72 ab
<b>P2A01</b>	<b>6.85</b>	<b>19.81</b>	<b>33.69 g</b>	<b>35.41 ab</b>
P2B02	1.19	2.23	19.99 h	14.58 d
P2B04	13.24	15.47	39.87 fg	18.19 cd
P3A02	9.37	23.42	49.29 de	19.01 cd
K1B4	9.39	24.47	38.74 fg	15.38 cd
Akuades	27.12	50.16	72.07 a	4.17 d
Tween	32.22	55.27	77.87 a	9.00 d

Keterangan: Angka pada kolom yang sama dan diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan efek perlakuan yang tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Perlakuan yang dicetak tebal adalah perlakuan dengan isolat terpilih.

Uji toksisitas dilakukan dengan memaparkan supernatan kultur cair isolat terpilih terhadap telur *Meloidogyne*. Telur uji yang digunakan dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu telur muda dan telur tua. Pengelompokan ini dilakukan untuk melihat adanya perbedaan pengaruh toksisitas pada fase telur yang siap menetas dan yang belum siap menetas.

Dari hasil uji toksisitas supernatan kultur cair isolat terpilih, secara keseluruhan perlakuan menyebabkan terjadinya penurunan kemampuan penetasan telur sejak

hari ke-3 setelah pemaparan (Tabel 2).

Uji toksisitas pada kelompok telur yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan pengaruh angka penetasan. Secara keseluruhan, persentase penetasan telur tua lebih tinggi dibandingkan dengan telur muda, bahkan isolat P2A01 dan H106 menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan. Kedua isolat ini menyebabkan peningkatan penetasan pada hari ke 7 sebesar 76,01% dan 85,76% pada perlakuan terhadap telur tua.

Tabel 2. Pengaruh toksisitas kultur cair isolat actinomycetes terhadap penetasan telur muda dan telur tua *M. incognita*

Tipe telur uji	Isolat	Penetasan telur (%)		
		Hari ke 3	Hari ke 5	Hari ke 7
Telur muda	P2A01	0.00	5.00	17.21 bc
	K1B1	0.00	7.70	23.01 b
	P4A04	3.42	17.75	22.74 b
	H106	0.00	22.84	28.10 b
	H203	0.00	0.00	0.00 c
	Kontrol media	12.25	33.23	53.38 a
	Kontrol akuades	17.59	36.62	69.74 a
	Telur tua	P2A01	0.58	43.90
K1B1		0.71	27.50	34.12 b
P4A04		1.92	42.27	44.53 b
H106		3.42	37.03	85.76 a
H203		0.00	3.07	3.07 c
Kontrol media		29.05	74.17	88.98 a
Kontrol akuades		33.98	62.98	81.04 a

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan efek perlakuan yang tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Angka penetasan tersebut sangat berbeda jika dibandingkan dengan pengaruh perlakuan yang sama terhadap telur muda. Kedua isolat tersebut, P2A01 dan H106, diduga memiliki faktor tertentu yang mampu memicu penetasan telur tua, seperti pada penelitian Bonants *et al.* (1995) yang membuktikan bahwa terjadi peningkatan angka penetasan telur *Meloidogyne hapla*

setelah diperlakukan dengan ekstrak kasar *Paecilomyces lilacinus* yang diketahui mengandung enzim serin protease. Oleh karena itu, isolat P2A01 dan H106 diduga juga memiliki kemampuan menghasilkan enzim hidrolitik dari golongan yang sama sehingga dapat memicu terjadinya penetasan telur tua *Meloidogyne*.



dibandingkan dengan supernatan kultur cair. Kemungkinan hal ini terjadi karena adanya faktor yang memicu penetasan dini yang terdapat di dalam kultur cair seperti enzim protease (Bonants *et al.*, 1995). Sementara isolat P4A04 dan H203 menunjukkan bahwa supernatan kultur cair mampu menekan angka penetasan dibandingkan dengan suspensi spora. Hal ini menunjukkan bahwa

supernatan kultur cair isolat tersebut lebih efektif menghambat penetasan telur dibandingkan suspensi spora. Sedangkan isolat K1B1 memperlihatkan pengaruh penghambatan penetasan yang hampir sama antara perlakuan baik menggunakan suspensi spora maupun supernatan isolat kultur cair

Tabel 3. Pengaruh pemberian supernatan kultur cair isolat terhadap angka mortalitas larva setelah hari ke 7 pasca perlakuan

Isolat	Mortalitas hari ke 7 (%)	
	Telur muda	Telur tua
P2A01	34.58 a	12.45 cde
K1B1	25 ab	34.56 b
P4A04	31.67 a	25.69 bc
H106	36.39 a	20.47 cd
H203	-	100 a
SNA	4.2 c	5.77 e
Akuades	12.32 bc	11.61 de

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan efek perlakuan yang tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Tidak hanya angka penetasan, kemampuan proteolitik isolat P2A01 dan H106 juga mempengaruhi angka mortalitas larva. Pemberian supernatan kultur cair isolat ini menyebabkan meningkatnya angka kematian larva pada pengujian terhadap telur muda, yaitu sebesar 34,58% pada perlakuan dengan isolat P2A01 dan 36,39% pada perlakuan dengan isolat H106 (Tabel 3). Angka ini cenderung lebih tinggi dibandingkan jumlah larva yang mati pada kontrol media SNA dan akuades. Kecenderungan tingginya angka mortalitas diduga juga disebabkan oleh adanya kemampuan enzimatik yang dimiliki oleh kedua isolat. Menurut Shiddiqui *et al.* (2005), kemampuan proteolitik dapat

memicu kematian larva stadium 2 nematoda. Sementara pada perlakuan menggunakan telur tua, angka mortalitas larva cenderung lebih rendah dibandingkan dengan angka mortalitas yang ditunjukkan pada perlakuan terhadap telur muda, yaitu sebesar 12,45% dengan perlakuan menggunakan isolat P2A01 dan 20,47% pada perlakuan menggunakan isolat H106, meskipun angka tersebut masih lebih tinggi dibandingkan dengan angka mortalitas yang ditunjukkan pada kontrol media. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan isolat tidak berpengaruh efektif terhadap larva stadium 2 yang menetas dari telur tua. Larva tersebut diduga sudah mencapai fase perkembangan yang

lebih kuat dibandingkan larva yang berasal dari telur muda.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diketahui bahwa Actinomycetes yang diisolasi dari rhizosfer tanaman kopi memiliki kemampuan patogenisitas, baik terhadap telur maupun larva stadium 2 nematoda puru akar. Terdapat

sebanyak 5 isolat yang menunjukkan potensi patogenisitas yang signifikan, yaitu isolat H106 dan P2A01 yang mampu memicu penetasan dini telur nematoda dan meningkatkan mortalitas larva, serta isolat P4A04, K1B1 dan H203 yang mampu menurunkan angka penetasan telur sekaligus meningkatkan mortalitas larva stadium 2 nematoda puru akar.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ashokvardhan, T., A. B. Rajithasri, P. Pratyusha and K. Satyaprasad. 2014. Actinomycetes from *Capsicum annum* L. Rhizosphere Soil Against Pathogenic Fungi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(4): 894-903.
- Bonants, P.J.M., P.F.L. Fitters, H. Thijs, E. den Belder, C. Waalwijk and W.D.M Henflings. A Basic Serine Protease from *Paecilomyces lilacinus* with Biological Activity against *Meloidogyne hapla* Eggs. *Microbiology*. 141: 775-784.
- Brzezinska, M.S., U. Jankiewich and M. Walczak. 2013. Biodegradation of Chitinous Substances and Chitinase Production by the Soil Actinomycetes *Streptomyces rimosus*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 84: 104-110.
- ICO, 2014. *World Coffee Trade (1963-2013): A Review of the Markets, Challenges and Opportunity Facing the Sector*. London, United Kingdom.
- Jain, R., S. C. Agrawal and P. C. Jain. 2009. Proteolytic Actinomycetes from Indian Habitats. *Journal of Culture Collections*. 6: 28-37.
- Khasabuli, O. Y. and A. K. Nyamache. 2014. Isolation, Characterization and Primary Screening of Soil Actinomycetes from Kenyatta University Arboretum Grounds for Antibacterial Activities. *Journal of Applied Biosciences*. 74: 6072-6079.
- Lopez, R. H. M., K. Evans and J. Bridge. 2004. Plant Disease Caused by Nematodas In: *Nematology Advances and Perspective: Nematodas Management and Utilization*. Eds. Z. X. Chen, S. Y. Chen and D. W. Mane, U. V. and A. M. Desmukh. 2009. Chitin Degrading Potential of Three Aquatic Actinomycetes and Its Optimization. *African Journal of Biotechnology*. 8(23): 6617-6620.
- Mitra, P. and P. K. Chakrabartty. 2005. An Extracellular Protease with Depilation Activity from *Streptomyces nogalator*. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 64: 978-983.
- Oliveira, D. F., V. C. Campos, D. R. Amaral, A. S. nunes, J. A. Pantaleao and D. A. Costa. 2007. Selection of Rhizobacteria Able to Produce Metabolites Active Against *Meloidogyne exigua*. *European Journal of Plant Pathology*. 119: 477-479.
- Oskay, M., U. Tamer and C. Azeri. 2004. Antibacterial Activity of Some Actinomycetes Isolated from Farming Soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology*. 3 (9): 441-446.
- Padgham, J.L. and R.A.Sikora. 2007. Biological Control Potential and Modes of Action of *Bacillus megatherium* against *Meloidogyne graminicola* on Rice. *Crop Protection*. 26: 971-977.
- Rifaat., H. M., O. H. El-Said, S. M. Hassanein and M. S. M. Selim. 2007. Protease Activity of Some Mesophilic Streptomyces Isolated from Egyptian Habitats. *Journal of Culture Collections*. 5: 16-24.
- Ruanpanum, P., N. Tangchitsomkid, K. D. Hyde and S. Lumyong. 2010. Actinomycetes and Fungi Isolated from Plant-parasitic Nematoda Infested Soil: Screening of the Effective Biocontrol Potential, Indol-3-acetic-acid and Siderophore Production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26: 1569-1578.
- Ruanpanum, P., H. Laatsch, N. Tangchitsomkid and S. Lumyong. 2011. Nematicidal

- Activity of Fervenuin Isolated from a Nematicidal Actinomycete, *Streptomyces* sp. CMU-MH021, on *Meloidogyne incognita*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27: 1373-1380.
- Shirling, E. B. and Gottlieb, D. 1966. Methods for Characterization of *Streptomyces* Species. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 16 (3): 313-340.
- Siddiqui, I. A., D. Haas and S. Heeb. 2005. Extracellular Protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a Biocontrol Factor with Activity against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 5646-5649.
- Srividra, S., A. Thapa, D.V.Bhat, K. Golmei and N. Dey. 2012. *Streptomyces* sp. 9p as Effective Biocontrol against Chilli Soilborne Fungal Phytopatogens. *European Journal of Experimental Biology*. 2(1): 163-173.
- Sun, M., L. Gao, Y. Shia, B. Li dan X. Liu. 2006. Fungi and Actinomycetes Associated with *Meloidogyne* spp. Eggs and Female in China and Their Biocontrol Potential. *Journal of Invertebrate Pathology*. 93: 22-28.
- Takizawa, M., R. R. Colwell and R. T. Hill. 1993. Isolation and Diversity of Actinomycetes in the Cheasepeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 (40): 997-1002.
- Wiriyadiputra, S and L. K. Tran. 2008. Worlds Reports Indonesia and Vietnam. In: *Plant-Parasitic Nematodes of Coffee*. Eds. R. M. Souza. Springer. Brazil.