

**PENGENDALIAN NEMATODA PARASITIK TANAMAN SECARA HAYATI
DENGAN BAKTERI *PASTEURIA PENETRANS* :
INVENTARISASI, PEMBIAKAN MASSAL DAN UJI PATOGENISITAS
ISOLAT BAKTERI**

**(BIOLOGICAL CONTROL OF PLANT PARASITIC NEMATODES
BY *PASTEURIA PENETRANS* :
INVENTORY, MASS PRODUCTION AND PATHOGENICITY TEST OF
BACTERIAL ISOLATES**

Mulyadi, B. Triman dan Bambang R.T.P.
Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

The research on "Biological control of plant parasitic nematodes by nematophagous bacteria (*Pasteuria penetrans*)" was planned to be conducted within 3 years period, started in 1994/1995. In the first year the research was done with the following objectives : 1) inventory on the isolates of *P. penetrans*, and 2) study on the mass production and pathogenicity test of *P. penetrans*. Survey of *P. penetrans* was done in the provinces of D.I. Yogyakarta, Central Java, East Java and West Java. Soil and root samples were collected in this survey, plant parasitic nematodes were isolated using centrifugation and funnel and spray method. Mass production of *P. penetrans* was done with their host especially root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). The bacterial infected nematodes were inoculated on tomato planted on sterilized soil. Roots contain root-knot nematodes inhabiting spores of *P. penetrans* were used as inoculum source. The pathogenicity tests of the isolates were done using bioassay method and in the green house in Completely Randomized Design.

The research results is as follows : 1) seventeen isolates of *P. penetrans* were found in the survey, these isolates were pathogenic to root-knot nematodes, 2) mass production of *P. penetrans* was done with their host especially root-knot nematodes and 4) treatment with *P. penetrans* significantly reduced the root-gall caused by root-knot nematodes.

Key word : Biological control, Parasitic nematodes, *Pasteuria penetrans*

INTISARI

Penelitian "Pengendalian nematoda parasitik tanaman secara hayati dengan bakteri *Pasteuria penetrans*" direncanakan dilakukan 3 tahap. Tahap I (1994/1995) ditujukan untuk mendapatkan isolat bakteri *P. penetrans* yang potensial untuk mengendalikan nematoda parasitik tanaman khususnya nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) yang merupakan nematoda parasitik tanaman terpenting di Indonesia.

Survei isolat bakteri *P. penetrans* dilakukan di D.I. Yogyakarta (Kabupaten Bantul, Sleman dan Kulonprogo), Jawa Tengah (Klaten, Karanganyar, Temanggung, Wonosobo dan Semarang), Jawa Timur (Kediri, Malang dan Jember), serta di Jawa Barat (Cianjur dan Sukabumi). Isolat yang didapatkan diperbanyak dengan pembiakan massal menggunakan nematoda puru akar sebagai inangnya. Uji patogenisitas isolat bakteri yang didapatkan dilakukan dengan uji hayati (bioassay) dan dengan tanaman dalam pot di rumah kaca.

Hasil penelitian pada Tahap I (1994/1995) adalah sebagai berikut :

1. Survei menghasilkan 17 isolat bakteri *P. penetrans*.
2. Isolat yang didapatkan menginfeksi nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) dan tidak pada nematoda yang lain.
3. Pembiakan massal bakteri tersebut dilakukan menggunakan inangnya yaitu nematoda puru akar.
4. Isolat-isolat bakteri *P. penetrans* yang diuji bersifat patogenik terhadap nematoda puru akar dan dapat menekan tingkat kerusakan akar akibat serangan nematoda tersebut.

Kata kunci : Pengendalian hayati, Nematoda parasitik, *Pasteuria penetrans*

PENGANTAR

Nematoda parasitik tanaman merupakan salah satu jenis hama penting pada berbagai jenis tanaman pertanian dan perkebunan. Kerusakan yang ditimbulkannya dapat mencapai 25%, bahkan

dapat lebih besar (Mai, 1985; Dropkin, 1988; Luc *et al.*, 1990).

Telah dikenal berbagai cara pengendalian nematoda parasitik tanaman antara lain secara fisis, mekanis, kultur teknis, varietas tahan, pengen-

dalian hayati dan kimiawi. Namun yang paling banyak dilakukan ialah secara kimiawi (Luc *et al.*, 1990). Dengan adanya dampak negatif penggunaan pestisida, maka perlu dicari alternatif pengendalian yang dapat mengurangi dampak negatif tersebut. Pengendalian hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian yang dapat dilakukan, sebab selain tidak menimbulkan pencemaran lingkungan secara ekonomis lebih memadai.

Dari berbagai jenis jasad pengendali hayati nematoda, bakteri *Pasteuria penetrans*, merupakan salah satu jasad pengendali hayati nematoda yang memberi harapan untuk dikembangkan pada masa mendatang (Mankau, 1980; Stirling, 1984; Khan dan Esfahani, 1992; Bernard, 1994).

Bakteri *P. penetrans* tersebar luas di dunia dan memarasit lebih dari 146 jenis nematoda (Sayre, 1988; Sturhan, 1988). Dari hasil penelitian Mulyadi *et al.* (1992), didapatkan isolat-isolat bakteri *P. penetrans* terutama di D.I. Yogyakarta.

Bakteri *P. penetrans* bersifat obligat parasitik pada nematoda, membentuk "spora" dalam sel. Spora tersebut menempel pada kutikula nematoda setelah terjadi kontak dengan nematoda di dalam tanah (Sayre, 1988). Spora melakukan penetrasi ke dalam tubuh nematoda, kemudian tumbuh dan berkembang di seluruh rongga tubuh nematoda sampai nutrisi tubuh nematoda habis digunakan, endospora terbentuk memenuhi rongga tubuh nematoda. Diperkirakan tiap tubuh nematoda betina dapat mengandung $2,1 \times 10^6$ spora. Spora tersebut tersebar dalam tanah setelah nematoda mati dan dapat tetap hidup dalam jangka waktu relatif lama serta tahan terhadap kekeringan dan panas. Spora *P. penetrans* tersebut tahan hidup lama dalam simpanan (Mankau, 1980; Sayre, 1988).

Penelitian Tahap I ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri *P. penetrans* yang potensial untuk mengendalikan nematoda parasitik tanaman terutama nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) yang merupakan nematoda parasitik terpenting di Indonesia, dan untuk mempelajari cara pembiakan massal bakteri *P. penetrans*.

BAHAN DAN METODE

1. Survei bakteri *P. penetrans*

Survei dilakukan di D.I. Yogyakarta (Kabupaten Sleman, Bantul dan Kulonprogo), di Jawa Tengah (Klaten, Karanganyar, Temanggung, Wonosobo dan Semarang), Jawa Timur (Kediri, Malang dan Jember) dan Jawa Barat (Cianjur dan Sukabumi). Survei dilakukan pada berbagai jenis tanaman penting yang peka terhadap nematoda parasitik tanaman terutama nematoda puru akar. Contoh yang diambil adalah akar dan tanah di daerah perakaran.

2. Pembiakan Massal Bakteri *P. penetrans*

Pembiakan massal *P. penetrans* dilakukan dengan 2 cara sebagai berikut :

1. Larva nematoda (hasil ekstraksi-isolasi) yang terinfeksi bakteri *P. penetrans* diinokulasikan pada tanaman tomat yang ditanam dalam pot dengan medium tanah steril. Setelah dua bulan tanaman dicabut, kemudian akar yang mengandung nematoda terinfeksi *P. penetrans* dan tanah yang mengandung spora *P. penetrans* digunakan sebagai sumber inokulum.

2. Nematoda betina (hasil isolasi dari akar) yang mengandung spora *P. penetrans* dipecah, spora yang keluar ditampung di dalam erlenmeyer. Kemudian suspensi spora tersebut ditambah dengan suspensi larva nematoda puru akar yang sehat (tidak terinfeksi *P. penetrans*). Suspensi nematoda dan spora *P. penetrans* diaduk atau digojog selama dua hari. Larva nematoda yang terinfeksi spora bakteri kemudian diinokulasikan pada tanaman tomat dalam pot dengan medium tanah steril. Langkah selanjutnya seperti pada cara No. 1. Dua bulan kemudian tanaman dicabut, akar dan tanah yang mengandung spora bakteri dipakai sebagai sumber inokulum.

3. Uji patogenisitas *P. penetrans*

a. Uji hayati (bioassay) *P. penetrans* di laboratorium

Spora isolat bakteri *P. penetrans* yang didapatkan diuji patogenisitasnya. Spora tersebut diinokulasikan kedalam suspensi larva nematoda puru akar sehat, kemudian digojog dengan selama

2 hari. Pengamatan dilakukan terhadap persentase larva terinfeksi spora bakteri dan jumlah spora yang menginfeksi tiap larva nematoda. Pada kontrol suspensi nematoda tidak diinokulasi spora. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap.

b. Uji patogenisitas dengan tanaman dalam pot

Tomat ditanam dalam pot dengan medium tanah steril, tanah diinokulasi larva nematoda puru akar sebanyak 500 larva/pot. Bersama itu tanah diperlakukan dengan spora bakteri (dalam bubuk akar) sebanyak 1,0 dan 3,0 gram bubuk akar. Pengamatan dilakukan 25 hari setelah inokulasi, diamati tingkat kerusakan akar akibat serangan nematoda puru akar dengan metode Zeck (1971), jumlah puru dan massa telur nematoda serta persentase larva nematoda terinfeksi bakteri. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap.

Selain itu juga dilakukan penelitian tentang pengaruh jumlah spora yang menginfeksi tiap larva nematoda terhadap patogenisitas larva tersebut. Larva nematoda yang terinfeksi spora bakteri diinokulasikan pada tanaman tomat dibandingkan tanaman yang diinokulasi larva nematoda sehat. Dalam penelitian tersebut jumlah spora yang menginfeksi tiap larva nematoda dipisahkan, yaitu : 1-5 spora; 6-10 spora dan > 10 spora. Tiap tanaman diinokulasi dengan 10 larva nematoda. Khusus pada larva yang terinfeksi spora lebih dari 10 spora/ larva dilakukan juga uji yang lain, yaitu tiap tanaman diinokulasi 40 larva nematoda. Pengamatan dilakukan terhadap tingkat kerusakan akar karena serangan nematoda puru akar, jumlah puru dan jumlah massa telur nematoda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil survei didapatkan 17 isolat bakteri *P. penetrans*, yaitu : 5 dari Kabupaten Sleman, 2 dari Bantul, 2 dari Kulonprogo, 2 dari Klaten, 1 dari Karanganyar, 2 dari Temanggung dan 3 dari Sukabumi. Bakteri tersebut didapatkan hanya menginfeksi nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.), yang merupakan nematoda parasitik terpenting di Indonesia. Sedang 11 genera nematoda lain yang juga diamati (genus

Aphelenchus, Criconemoides, Dorylaimus, Helicotylenchus, Hoplolaimus, Pratylenchus, Radopholus, Rotylenchus, Rotylenchulus, Scutellonema dan Tylenchorhynchus) tidak terinfeksi *P. penetrans*.

Bakteri *P. penetrans* dapat dikembangkan dengan menggunakan inangnya yaitu nematoda puru akar sebab bakteri tersebut bersifat obligat parasitik. Spora bakteri mula-mula menginfeksi larva nematoda, setelah larva masuk ke dalam jaringan tanaman maka bakteri berkembang biak di dalam tubuh nematoda khususnya nematoda betina. Menurut Sayre (1988), dalam tubuh nematoda betina dapat dijumpai $2,1 \times 10^6$ spora *P. penetrans*. Dengan demikian diharapkan pembiakan massal bakteri tersebut tidak menjadi hambatan untuk usaha pemanfaatannya di masa mendatang. Namun demikian belum seluruh isolat yang didapatkan dapat dikembangkan karena populasi yang didapatkan dari lapangan ada yang sangat rendah.

Hasil uji hayati menunjukkan, bahwa isolat-isolat yang diuji bersifat patogenik terhadap nematoda puru akar. Persentase larva nematoda yang terinfeksi terendah 58,8% dan tertinggi mencapai 100%, sedang pada kontrol larva tidak terinfeksi bakteri *P. penetrans* (Tabel 1). Umumnya sebagian besar larva terinfeksi bakteri dengan jumlah spora lebih dari 10 tiap larva (Tabel 2).

Tabel 1. Persentase larva nematoda puru akar terinfeksi spora bakteri *P. penetrans*

Isolat <i>P. penetrans</i>	Larva nematoda terinfeksi (%)
1	80,8 bcd
2	98,55 a
3	80,0 bcd
4	93,74 ab
5	65,08 d
6	58,8 d
7	92,13 ab
8	86,32 bc
9	100,0 a
10	74,77 cd
Kontrol	0 e

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata menurut DMRT aras 5%

Tabel 2. Persentase larva nematoda terinfeksi spora bakteri *P. penetrans* berdasarkan jumlah spora yang menginfeksi tiap larva

Nomer isolat	Larva nematoda terinfeksi bakteri dengan jumlah spora/larva		
	1-5	6-10	>10
1	21,69	20,10	58,21
2	5,39	16,04	78,57
3	62,5	12,5	25,0
4	15,2	20,28	64,53
5	0	20,32	79,68
6	100	0	0
7	8,54	20,91	70,55
8	13,68	21,06	64,68
9	47,61	11,11	41,27
10	62,2	9,63	28,17
Kontrol	0	0	0

Dari hasil uji inokulasi tanaman tomat dengan larva nematoda yang terinfeksi spora, didapatkan kerusakan akar akibat serangan nematoda tersebut lebih rendah daripada kontrol (tanaman diinokulasi dengan larva nematoda yang tidak terinfeksi bakteri). Persentase massa telur yang dihasilkan dari nematoda yang terinfeksi bakteri *P. penetrans* juga lebih rendah daripada kontrol (Tabel 3 dan 4).

Tabel 3. Tingkat kerusakan akar tomat yang diinokulasi larva nematoda terinfeksi spora bakteri *P. penetrans* (10 larva/pot)

No. isolat	Jumlah spora/larva nematoda	Tingkat kerusakan akar	Jumlah puru	% Puru dgn. massa telur
3	1-5	1,0	30,33	15,02 b
4	1-5	1-2	24,67	11,26 b
3	6-10	2-3	39,67	12,89 b
4	6-10	0	0	0 c
3	>10	1-2	8,33	10,55 b
4	>10	0	0	0 c
Kontrol	0	5-6	112	49,47 d

Tabel 4. Tingkat kerusakan akar tomat yang diinokulasi larva nematoda puru akar terinfeksi spora bakteri *P. penetrans* sejumlah >10/larva (tiap pot diinokulasi 40 larva)

Nomer isolat	Tingkat kerusakan	Jumlah puru	% Puru dengan massa telur
2	1-2	40	14,44 b
4	0	0	0 a
7	0	0	0 a
Kontrol	6-7	105,33	59,95 c

Hasil uji patogenesis *P. penetrans* di rumah kaca menunjukkan bahwa perlakuan bakteri *P. penetrans* dapat menekan tingkat kerusakan akar akibat serangan nematoda puru akar, terutama terhadap jumlah puru (Tabel 5). Pada penelitian ini pengamatan dilakukan 25 hari setelah perlakuan. Ternyata sebagian besar nematoda belum menghasilkan massa telur, sehingga pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengamatan minimal 30 hari setelah inokulasi.

Tabel 5. Hasil uji patogenesis *P. penetrans* dengan tanaman dalam pot

No. isolat	Tingkat kerusakan	Jumlah puru	Jumlah massa telur	%Puru ber-massa telur
1	1-2	18 bcd	0 b	0 b
2	2	30,67 b	0 b	0 b
3	2	30,33 b	0 b	0 b
4	2	27,33 bc	0 b	0 b
5	2	33 b	0 b	0 b
6	1	6 d	0 b	0 b
7	2	17,67 bcd	0 b	0 b
8	2	17 bcd	0 b	0 b
9	2	12,33 cd	0,67 b	5,25 a
10	2	26,67 bc	0 b	0 b
Kontrol	2-3	70 a	3,33 a	5,68 a

Dari hasil pengamatan, nampak bahwa larva nematoda yang terinfeksi spora bakteri *P. penetrans* sebagian masih mampu masuk ke dalam akar dan menyebabkan terjadinya puru. Namun jumlah massa telur yang dihasilkan nematoda tersebut lebih rendah daripada nematoda yang tidak terinfeksi bakteri. Dengan demikian diharapkan pada generasi berikutnya populasinya lebih rendah dibanding yang tidak terinfeksi

bakteri. Penelitian Bird dan Brisbane (1988), menunjukkan nematoda puru akar betina yang terinfeksi *P. penetrans* tidak mampu berreproduksi atau menghasilkan telur. Sedangkan hasil pengamatan Stirling dan White (1982), *P. penetrans* ternyata mampu menekan populasi nematoda puru akar pada berbagai jenis tanaman di Australia Selatan.

Dari penelitian di atas, secara ringkas dapat dikemukakan :

1. Diperoleh tujuh belas isolat *P. penetrans* dari hasil survei di D.I. Yogyakarta, Jawa tengah, Jawa Timur dan Jawa Barat.
2. Didapatkan 12 genera nematoda parasitik tanaman namun yang terinfeksi bakteri *P. penetrans* hanya nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) yang merupakan nematoda parasitik terpenting di Indonesia.
3. Pembiakan massal bakteri tersebut menggunakan nematoda inangnya yaitu nematoda puru akar.
4. Isolat-isolat yang sudah dapat dikembangkan bersifat patogenik terhadap nematoda puru akar.
5. Perlakuan dengan bakteri *P. penetrans* dapat mengurangi tingkat kerusakan akar akibat serangan nematoda puru akar.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, yang telah membiayai penelitian ini melalui proyek "Peningkatan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat" (Penelitian Hibah Bersaing), No. 014/P4M/PHB/III/1/1994.

DAFTAR PUSTAKA

- Bernard, E.C. 1994. Nematology in the 21 st Century : A foray into the future. *Phytopathol. News* 28 : 40-41.
- Bird, A.F. and P.G. Brisbane. 1988. The influence of *Pasteuria penetrans* in field soils on the reproduction of root-knot nematodes. *Revue Nematol.* 11: 75-81.
- Dropkin, V.H. 1988. Introduction of plant nematology. A Wiley Interscience Publication. John Wiley and Sons, New York, 305 p.
- Khan, M.W. dan M.N. Esfahani. 1992. Root-knot of vegetables. *Dalam* H.S. Chaube; J. Kumar; A.N. Mukhopadhyay and U.S. Singh (Ed.) *Plant diseases of international importance*. Prentice Hall, New Jersey, 376 p.
- Luc, M., R.A. Sikora and J. Bridge. 1990. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. *C.A.B. Int. Inst. of Parasitol.* 629 p.
- Mai, W.F. 1985. Plant parasitic nematodes their threat to agriculture. *Dalam* J.N. Sasser dan C.C. Carter (Ed.) *An advanced treatise on Meloidogyne*, vol. I. Biology and control. North Carolina State Univ. Graph. p. 11-17.
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematodes pests by natural enemies. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18 : 415-440.
- Mulyadi, B. Triman dan C. Netscher. 1992. Pemanfaatan bakteri *Pasteuria penetrans* untuk mengendalikan nematoda parasitik tanaman secara hayati. *Fak. Pertanian UGM*, 31 p.
- Sayre, R.M. 1988. Bacterial disease of nematodes and their role in controlling nematode populations. *Dalam* Edwards, C.A. D. Stinner and S. Rabatin (Ed.), *Biological interaction in soil*. Elsevier, Tokyo, p. 263-279.
- Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. *Phytopathology*, 74 : 55-60.
- Stirling, G.R. dan A.M. White. 1982. Distribution of a parasite of root-knot nematode in South Australian vineyards. *Plant Disease* 66 : 52-53.
- Sturhan, D. 1988. New host and geographical records of nematode parasitic bacteria of the *Pasteuria penetrans* group. *Nematologica* 34: 350-356.
- Zeck, W.M. 1970. A rating scheme for field evaluation of root-knot nematodes infestation. *Bayer* 24: 141-144.