



**PENGEMBANGAN BIO-BAKTERISIDA YANG MEMANFAATKAN  
BAHAN AKTIF BAKTERI ENDOFIT POTENSIAL ANTAGONIS UNTUK  
MENGENDALIKAN *Erwinia carotovora* DI UMBI KENTANG**

Oleh  
**Eka Kartini**

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG**

**2014**



**PENGEMBANGAN BIO-BAKTERISIDA YANG MEMANFAATKAN  
BAHAN AKTIF BAKTERI ENDOFIT POTENSIAL ANTAGONIS UNTUK  
MENGENDALIKAN *Erwinia carotovora* DI UMBIKENTANG**

Oleh  
**Eka Kartini**

**105040213111050**

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**SKRIPSI**

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**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

Eka Kartini





## RINGKASAN

**Eka Kartini. 105040213111050. Pengembangan Bio-Bakterisida Yang Memanfaatkan Bahan Aktif Bakteri Endofit Potensial Antagonis Untuk Mengendalikan *Erwinia carotovora* Di Umbi Kentang. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS dan Luqman Qurata Aini SP, MSi, Ph.D.**

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu pangan utama dunia setelah padi, gandum, dan jagung. Perkembangan iklim yang tidak menentu memicu munculnya penyakit yang mempengaruhi tingkat produktivitas umbi kentang. Salah satu penyebab turunnya produktivitas umbi kentang yaitu adanya serangan patogen penyakit berupa *Erwinia carotovora* (*Enterobacteriaceae; Erwinia*). Upaya yang dapat dilakukan untuk menangani penyakit tersebut yaitu dengan memanfaatkan agens hayati berupa bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman dan dapat berpindah antar jaringan. Oleh karena itu, penelitian ini akan membahas pengaruh pemberian bakteri endofit dengan beberapa konsentrasi suspensi untuk mengendalikan *E. carotovora*. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri endofit dari bagian tanaman kentang dan mengetahui efektifitas aplikasi suspensi bakteri endofit untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen *E. carotovora* pada umbi kentang.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya mulai bulan Januari 2014 – Juni 2014. Penelitian ini menggunakan desain rancangan acak lengkap (RAL) untuk uji yang akan dilakukan secara *in vitro* dan uji pada umbi kentang. Uji secara *in vitro* menggunakan 9 perlakuan diulang 3 kali dan diamati selama 3 hari, sedangkan uji pada umbi kentang menggunakan 10 perlakuan diulang 3 kali dan diamati selama 7 hari. Tahapan yang akan dilakukan pada uji *in vitro* ialah eksplorasi dan isolasi bakteri endofit dari sampel akar tanaman kentang, isolasi *E. carotovora* dari umbi tanaman kentang yang bergejala dan uji antibiosis bakteri endofit terhadap *E. carotovora* pada cawan petri dan uji antagonis pada perkembangan penyakit busuk lunak di umbi kentang.

Berdasarkan hasil eksplorasi bakteri endofit pada bagian tanaman kentang didapatkan 99 isolat serta 52 isolat bakteri endofit yang mampu menghasilkan zona hambat, penekanan terbaik didapatkan 7 isolat selanjutnya digunakan dalam uji antibiosis pada cawan petri dan uji antagonis pada umbi kentang. Penghambatan terbaik terhadap pertumbuhan *E. carotovora* pada cawan petri ditunjukkan oleh isolat dengan kode isolat P1 (Endofit 36) dan P2 (Endofit 38). Bakteri endofit dapat menekan perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang dibandingkan dengan kontrol negatif (bakterisida). Dibuktikan dengan berat bagian umbi yang terserang mencapai 0,048% hingga 3,75 % dibandingkan dengan penekanan kontrol yang diinokulasikan dengan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida, tembaga oksiklorida (POB) menghasilkan berat bagian umbi yang terserang lebih besar mencapai 59,58%

## SUMMARY

**Eka Kartini. 105040213111050. Development of Bio-Bactericide with Active Ingredients Potential Endophytic Antagonistic Bacteria to Control *Erwinia carotovora* in Potato Tubers. Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS and Luqman Qurata Aini SP, MSi, Ph.D.**

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the world's major food after rice, wheat, and corn. The development of uncertain climate, trigger the emergence of disease that affects to productivity of potato tubers. One of the causes of the decrease in the productivity of the potato tuber is disease pathogen attack such as *Erwinia carotovora* (Enterobacteriaceae; Erwinia). Efforts to do to handle the disease is utilizing biological agents such as endophytic bacteria. Endophytic bacteria are bacteria that live inside plant tissues and can switch between plant tissues. Therefore, this research will discuss the effect of endophytic bacteria with some concentration of the suspension to control *E. carotovora*. The purpose of this research is to get endophytic bacteria from the potato crop and to find out the effectiveness of application suspension endophytic bacteria to control the growth of pathogenic bacteria *E. carotovora* on potato tubers.

This research was conducted at the Plant Disease Laboratory Department of Plant Pests and Diseases Agriculture Faculty of Brawijaya University from January 2014 to June 2014. This research using completely randomized design (CRD) for the test to be performed in vitro and tested on potato tubers. In vitro test using 23 treatment was repeated 3 times and observed for 3 days, while tests on potato tubers using 24 treatment was repeated 3 times and observed for 7 days. Stages to be performed on in vitro assays is exploration and isolation of endophytic bacteria from root samples of potato plants, isolation of *E. carotovora* from symptomatic potato tubers and endophytic bacteria antibiosis test against *E. carotovora* on petri and test antagonist on the growth of soft rot disease in potato tubers.

Based on the exploration results of endophytic bacteria in the potato plant obtained 99 isolates and 52 isolates of endophytic bacteria capable of producing inhibition zone, the best emphasis obtained 7 isolates subsequently used in antibiosis test on petri dishes and test antagonist on potato tubers. The best inhibition against *E. carotovora* growth on petri dishes with codes indicated by P1 isolates (Endophytic 36) and P2 isolates (Endophytic 38). Endophytic bacteria can emphasis the growth of soft rot potato tubers compared with negative controls (bactericidal). Proven by the weight of tubers are attacked reaches 0.048% to 3.75% compared with emphasis controls inoculated with bactericidal active ingredients kasugamisin hydrochloride, copper oxychloride (POB) produce weight tubers that attacked are higher, up to 59.58%.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas berkah dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengembangan Bio-Bakterisida yang Memanfaatkan Bahan Aktif Bakteri Endofit Potensial Antagonis untuk Mengendalikan *Erwinia carotovora* di Umbi Kentang”**.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS dan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing atas segala kesabaran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ketua Jurusan Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo SU atas segala nasehat dan bimbingannya kepada penulis beserta seluruh dosen dan karyawan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya atas fasilitas dan bantuan yang diberikan. Penulis pula mengucapkan terima kasih kepada PT. Indofood Sukses Makmur, Tbk atas Program Indofood Riset Nugraha yang telah membantu penulis untuk melaksanakan penelitian ini.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada orangtua dan keluarga atas cinta, kasih sayang, dukungan, semangat, dan doanya yang diberikan kepada penulis. Juga kepada rekan-rekan Agroekoteknologi angkatan 2010 atas bantuannya. Serta tidak lupa kepada Daramuslimah Daulay, Amalia Afai Lubis, Dyan Kusumaning Ayu dan Moch Iqbal Sholehudin atas dukungan dan kebersamaan serta senantiasa selalu ada dalam suka maupun duka.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2014

Eka Kartini



## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 18 Agustus 1991 di Bandung, sebagai putri kelima dari 5 bersaudara dari pasangan Bapak Soman dan Ibu Iday.

Penuli memulai jenjang pendidikan pada tahun 1998-2004 SDN Tarunabakti. Tahun 2004 meneruskan pendidikan di SMPN Cimaung 1 dan lulus pada tahun 2007. Lanjut tingkat atas di SMAN Soreang 1 dan lulus pada tahun 2010. Pada tahun yang sama 2010 penulis melanjutkan pendidikan Strata 1 (S1) di Fakultas Pertanian, Program Studi Agroekoteknologi, Universitas Brawijaya Malang melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam organisasi diantaranya Staff ahli dari Advokesma Eksekutif Mahasiswa pada tahun 2010-2011, Staf dari Akpro (Akademisi dan keprofesian) FORSIKA pada tahun 2010-2011, Anggota di Pusat Riset dan Kajian Imiah Mahasiswa (PRISMA) pada tahun 2010-2011, Mentri Advokesma Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Pertanian pada tahun 2012-2013. Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya pada tahun 2013-2014. Kegiatan kepanitiaan diantaranya Pengenalan Kehidupan Kampus Mahasiwa (PK2M Fakultas), LKTI Nasional, dan kegiatan kepanitiaan lainnya. Penulis juga aktif ikut serta dalam acara Seminar, Diklat, Pelatihan dan Lomba-lomba Karya Tulis yang diadakan oleh pihak kampus maupun diluar kampus.

Pengalaman kerja yang dimiliki penulis, Magang Kerja di Balai Karantina Pertanian Surabaya tahun 2013, menjadi Asisten Praktikum Ekologi Pertanian tahun 2011-2012, menjadi Koordinator Asisten Bakteriologi tahun 2014.

**DAFTAR ISI**

RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	ii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Hipotesis Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanaman Kentang .....	4
2.2 Penyakit Busuk Lunak Kentang .....	4
2.3 Bakteri Endofit .....	6
<b>III. METODE DAN PELAKSANAAN</b>	
3.1 Waktu dan Pelaksanaan penelitian .....	10
3.2 Alat dan Bahan .....	10
3.3 Metode Penelitian .....	10
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	13
3.5 Variabel yang diamati .....	16
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Penelitian .....	18
4.2 Pembahasan hasil .....	27
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	36
5.2 Saran .....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	37
<b>LAMPIRAN</b> .....	41



**DAFTAR GAMBAR**

<b>Nomor</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
1.	Gejala umbi kentang yang terserang <i>E. Carotovora</i> .....	5
2.	Gejala tanaman kentang yang terserang <i>E. carotovora</i> di lapang .....	6
3.	Teknik <i>Dillution Plate</i> .....	13
4.	Pengujian pendahuluan pada cawan petri dan pengukuran zona bening (A. Agens Hayati, B. Zona Bening dan C. Patogen) .....	16
5.	Biakan bakteri patogen yang diduga <i>E. carotovora</i> di media NA .....	18
6.	Daya hambat antar jenis bakteri. ....	22
7.	Zona hambat yang terbuka oleh metabolit dari bakteri endofit .....	23
8.	Bentuk pertumbuhan isolat bakteri endofit yang digunakan dalam pengujian pada media NA .....	24
9.	Uji antagonis antar jenis bakteri .....	26



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Ciri-ciri morfologi isolat bakteri patogen penyebab penyakit busuk lunak yang diduga bakteri <i>E. carotovora</i> .....	20
2.	Identifikasi bakteri patogen <i>E. carotovora</i> .....	20
3.	Pengaruh jenis bakteri endofit terhadap pembentukan zona hambatan pertumbuhan <i>E. carotovora</i> .....	21
4.	Indeks Zona Hambat Antibiosis Bakteri Endofit Terhadap <i>E. Carotovora</i> di Cawan Petri.....	22
5.	Ciri-ciri morfologi isolat bakteri patogen penyebab penyakit busuk lunak yang diduga bakteri <i>E. carotovora</i> .....	24
6.	Karakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri endofit.....	25
9.	Data uji antagojis bakteri endofit terhadap patogen <i>E. carotovora</i> pada umbi kentang.....	26

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Uji antibiosis bakteri endofit di cawan petri.....	41
2.	Data uji antagonis bakteri endofit terhadap patogen <i>E. carotovora</i> pada umbi kentang.....	41
3.	Gejala busuk lunak yang disebabkan bakteri <i>E. carotovora</i> .....	41
4.	Hasil uji perumbuhan pada media anaerobik.....	41
5.	Gejala Hipersensitif positif.....	42
6.	Zona hambat yang terbentuk pada bakteri endofit endofit.....	42
7.	Uji antagonis pada umbi ketang aplikasi kontrol perlakuan akuades.....	42
8.	Uji antagonis pada umbi ketang aplikasi kontrol perlakuan bakterisida.....	43
9.	Uji antagonis pada umbi ketang aplikasi kontrol dengan perlakuan bakteri <i>E. carotovora</i> dan akuades.....	43
10.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 36 .....	43
11.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 38 .....	43
12.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 39 .....	44
13.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 40 .....	44
14.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 42 .....	44
15.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 98 .....	44
16.	Kenampakan uji antagonis pada bagian dalam umbi ketang setelah diaplikasikan bakteri <i>E. carotovora</i> dan bakteri endofit 99 .....	45
17.	Pengujian fermentatif terhadap bakteri endofit 36.....	45
18.	Pengujian fermentatif terhadap bakteri endofit 38.....	45
19.	Pengujian fermentatif terhadap bakteri endofit 39.....	45
20.	Pengujian fermentatif terhadap bakteri endofit 40.....	46



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu pangan utama dunia setelah padi, gandum, dan jagung. Disamping itu, kentang termasuk salah satu komoditas hortikultura yang mempunyai nilai perdagangan domestik dan potensi ekspor yang cukup baik. Produksi kentang di Indonesia pada tahun 2010 mencapai 1.060.579 t dengan produktivitas 15,95 t/ha yang menurun jika dibandingkan produksi dan produktivitas kentang pada tahun 2009 masing-masing 1.176.394 t dan 16,51 t/ha (BPS, 2009). Pengembangan teknologi untuk meningkatkan produksi tanaman kentang menjadi isu yang krusial untuk terus dikaji sehingga permasalahan-permasalahan yang ada dapat segera diatasi.

Saat ini produksi kentang mendapat hambatan besar, disebabkan oleh perubahan iklim yang tidak menentu sehingga memicu munculnya perkembangan patogen penyakit. Salah satu penyakit penting adalah penyakit busuk lunak oleh bakteri *Erwinia carotovora* (*Enterobacteriaceae*; *Erwinia*) baik ketika masih di lapangan maupun di gudang penyimpanan (Addy, 2007). Serangan patogen tersebut dapat menyebabkan perubahan fisik, fisiologi dan kimia pada umbi kentang sehingga berpengaruh terhadap kualitas produksi umbi kentang.

Pengendalian yang dilakukan selama ini ialah menggunakan bakterisida dengan bahan aktif kimia sintetik yang bertujuan untuk mengendalikan perkembangan penyakit pada tanaman kentang. Bakterisida kimia sintetik dapat menyebabkan peledakan penyakit akibat resistensi dan berakibat fatal bagi lingkungan dan manusia.

Kondisi ini memberikan gagasan untuk melakukan pengendalian dengan memanfaatkan teknologi hayati yang lebih efektif dan ramah lingkungan (Arwiyanto dan Hartana, 1999). Bakteri antagonis termasuk dalam pengendali hayati yang menjanjikan untuk dikembangkan dalam bentuk paket teknologi tertentu. Diantara bakteri potensial antagonis yang dapat digunakan sebagai pengendali hayati ialah bakteri endofit. Istilah endofit karena bakteri tersebut hidup di dalam jaringan tanaman dan dapat berpindah antar jaringan. Menurut Hallman (1997) bakteri endofit dapat berpengaruh pada kesehatan tanaman dalam hal: (1) antagonisme langsung, (2) menginduksi ketahanan sistemik dan (3)





meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan. Kemanfaatan lain yang dapat diperoleh dengan aplikasi bakteri ini, yaitu tidak akan meninggalkan residu kimia dan tidak menyebabkan resistensi. Bahkan bakteri endofit juga terbukti mampu mengurangi serangan hama tanaman (Ramamoorthy, *et.al*, 2001).

Bakteri-bakteri endofit yang akan terseleksi dapat dipaketkan dalam bentuk suspensi, sehingga didapatkan teknologi Bio-bakterisida cair berbahan aktif bakteri endofit. Oleh karena potensi bakteri endofit yang masih luas dan memerlukan kajian lebih dalam, maka penelitian ini dilakukan untuk mengendalikan serangan patogen *E. carotovora* pada umbi kentang. Penelitian ini merupakan tahap awal untuk mengembangkan teknologi aplikatif untuk pengendalian hayati yang berkelanjutan sehingga peningkatan produksi tanaman kentang yang tinggi dan sehat dapat tercapai.

## 1.2 Perumusan Masalah

1. Diduga dalam akar umbi kentang terdapat banyak bakteri endofit
2. Mencoba untuk melakukan eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman kentang
3. Bagaimana kemampuan bakteri endofit dalam menekan penyakit busuk lunak umbi kentang (*E.carotovora*) secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Melakukan uji antagonis bakteri endofit dari akar tanaman kentang terhadap penyakit busuk lunak pada umbi kentang (*E. carotovora*) secara *in vitro*
2. Mengetahui kemampuan bakteri endofit paling kuat antagonistik pada penyakit busuk lunak pada umbi kentang (*E. carotovora*) secara *in vitro*
3. Mengetahui bakteri endofit dari perakaran tanaman kentang yang berpotensi sebagai bahan aktif dalam Bio-Bakterisida untuk mengendalikan penyakit busuk lunak pada umbi kentang (*E. carotovora*) secara *in vitro*



#### 1.4 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat bakteri endofit dari perakaran tanaman kentang yang berpotensi sebagai bahan aktif dalam Bio-Bakterisida untuk mengendalikan penyakit busuk lunak pada umbi kentang (*E. carotovora*) secara *in vitro*
2. Bakteri endofit mampu menghambat perkembangan *E. carotovora* secara *in vitro*
3. Bakteri endofit berpotensi menghambat penyakit busuk lunak pada umbi kentang

#### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada petani mengenai Bio-Bakterisida sebagai alternatif baru bakterisida kimia sintetis untuk menekan pertumbuhan penyakit busuk lunak pada umbi kentang
2. Memberikan informasi kepada akademisi mengenai bakteri endofit sebagai bahan aktif Bio-Bakterisida
3. Memberikan informasi kepada peneliti mengenai bakteri endofit dari perakaran tanaman sebagai bahan aktif Bio-Bakterisida untuk menekan pertumbuhan *E. carotovora*



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kentang

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan tanaman sayuran semusim, berumur pendek kurang lebih hanya 90-180 hari dan berbentuk perdu atau semak bervariasi sesuai varietasnya (Rukmana, 1997). Pertumbuhan tanaman kentang cocok di dataran tinggi atau daerah pegunungan dengan ketinggian 1000-3000 m dpl, pada dataran medium, dapat di tanam pada ketinggian 300-700 m dpl. Keadaan iklim yang ideal pada suhu rata-rata harian  $15^{\circ}$ - $20^{\circ}$  C, kelembaban udara 80-90% dengan curah hujan antara 200-300 mm per bulan atau rata-rata 1000 mm selama pertumbuhan (Rukmana, 1997).

Tanaman kentang dapat tumbuh dengan baik pada tanah-tanah subur, mempunyai drainase yang baik, tanah liat yang gembur, debu atau debu berpasir dengan kadar air tanah pada kedalaman 15 cm tidak boleh kurang dari 50 % kapasitas lapang dan pH berkisar 5-6,5 (Asandhi dan Gunandi, 1989). Namun derajat keasaman tanah (pH tanah) yang sesuai untuk kentang bervariasi, tergantung dari varietasnya.

### 2.2 Penyakit Busuk Lunak Kentang

#### 2.2.1 Klasifikasi bakteri *E. carotovora*

Goto (1990), mengklasifikasikan bakteri penyebab busuk lunak pada tanaman kentang *E. carotovora*, sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae  
 Divisio : Gracilicutes  
 Kelas : Proteobacteria  
 Famili : Enterobacteriaceae  
 Genus : Erwinia  
 Spesies : *Erwinia carotovora*

#### 2.2.2 Fisiologi dan morfologi bakteri *E. carotovora*

*E. carotovora*, seperti anggota Enterobacteriaceae lainnya bersifat anaerobik fakultatif, berbentuk batang dengan ukuran  $0,5 \times 1,0-3 \mu\text{m}$ , bersifat gram negatif dan bergerak dengan flagela peritrik. Bakteri tersebut bersifat katalase positif, fermentatif, menghasilkan asam dari glukosa, mereduksi nitrat,



menghasilkan  $\beta$ -galaktosidase dan  $H_2S$ , L-arabinose, D-galaktose, D-glukose, glyserol, D-mannose, D-ribose dan sucrose tapi tidak menghasilkan urease dan tidak menghasilkan asam dari adonitol. Beberapa strain menghidrolisa L-rhamnose dan D-mannitol tapi tidak dekstrin. Suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri *E. carotovora* antara 27-30°C, suhu maksimum bervariasi dari 32°C sampai 40°C. *E. carotovora* bersifat patogenik pada beberapa tanaman (Schaad, 2001).

### 2.2.3 Gejala penyakit busuk lunak *E. carotovora*

Pada awal infeksi umbi terlihat seperti bintik yang berwarna krem sampai coklat kemerahan, busuk dan lunak, kemudian jika kondisi lingkungan lembab, bintik tersebut akan meluas dengan cepat dan bagian jaringan umbi hingga umbi bagian dalam. Jika umbi dipotong, bagian umbi dalam akan terlihat basah, seperti bubur, berwarna krem sampai coklat kemerahan dengan dibatasi oleh warna hitam antara bagian umbi yang terserang dengan umbi yang masih sehat. Jaringan yang membusuk sangat lunak dan kental, pembusukan tersebut akan meluas hingga hampir ke sebagian besar umbi kentang (Chailani, 2010). Pada awalnya umbi yang membusuk tidak mengeluarkan bau, kemudian mengeluarkan bau busuk ketika pembusukan berkembang merata ke seluruh bagian umbi. Jika kondisi lingkungan kering maka bagian umbi tersebut akan menjadi seperti berkapur berwarna pucat sampai putih. Sedangkan infeksi pada tanaman menyebabkan daun menjadi layu, menguning, kadang daun terlihat menggulung keatas. Batang yang terinfeksi berwarna coklat muda, kadang tidak berwarna namun juga tidak berwarna hitam, dan batang yang terinfeksi akan menjadi seperti berkapur berwarna pucat sampai putih (Chailani, 2010).



Gambar 1. Gejala umbi kentang yang terserang *E. carotovora* (FOSFAT, 2010)



Gambar 2. Gejala tanaman kentang yang terserang *E. carotovora* di lapang (Hamm dan Ocamb, 2002).

#### 2.2.4 Penyebaran penyakit

Bakteri *E. carotovora* hidup dalam tanah, air tanah dan sisa-sisa tanaman, terutama pada kelembaban dan suhu yang tinggi. Bakteri ini tersebar luas di Indonesia, seperti terdapat di Sumatera Utara, Sumatera Selatan, Lampung, Jawa Timur, Jawa Tengah, Bali, Sulawesi Selatan dan Nusa Tenggara Timur. Bakteri *E. carotovora* menginfeksi umbi kentang melalui lentisel, luka pada umbi kentang maupun luka karena serangga, kemudian menyebar ke bagian umbi yang lain. Bakteri ini dapat menyerang bersama dengan patogen yang lain. Faktor yang mempengaruhi infeksi dan perkembangan patogen tersebut adalah umbi yang masih muda, terdapat luka pada umbi, kekurangan cahaya atau sinar, kelembaban pada tanah yang tinggi dan kekurangan oksigen ketika umbi di penyimpanan. *E. carotovora* dapat menyebar selama proses setek atau “cutting”, penanaman atau “planting”, percikan air hujan serta melalui irigasi (Chailani, 2010).

### 2.3 Bakteri Endofit

#### 2.3.1 Definisi bakteri endofit

Bakteri endofit adalah bakteri yang berada dalam jaringan tanaman, umumnya adalah mikroorganisme yang berada dalam jaringan pembuluh tanaman dan dapat berpindah di dalam tanaman. Dalam arti luas, endofit adalah mikroorganisme yang berada dalam jaringan tanaman walaupun tidak melakukan kolonisasi (Hallman *et.al.*, 1997). Secara praktis bakteri endofitik adalah bakteri yang dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang telah disterilisasi permukaan



(Kloepper *et.al.*, 1999). Endofit masuk ke dalam jaringan tanaman terutama melalui akar dan bagian tanaman lain yang terpapar udara luar seperti bunga, batang, dan kotiledon dapat juga dilalui. Secara khusus, bakteri masuk ke jaringan melalui jaringan yang berkecambah, akar, stomata, maupun jaringan yang rusak (Kloepper *et.al.*, 1999). Endofit berkebang di dalam jaringan tanaman dengan menembus jaringan tanaman di akar, atau pada bagian tanaman yang luka (Carrol, 1988). Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman tanpa merusak jaringan tanaman tersebut.

### 2.3.2 Ekologi bakteri endofit

Endofit memiliki asosiasi yang lebih alami dan intim dengan tanaman. Kelebihan dari bakteri endofitik adalah jaringan tanaman memberikan lingkungan yang relatif lebih seragam dan terlindungi dibandingkan pada rhizosphere dan rhizoplane (Bacon, 2006). Sedangkan bakteri ektofitik harus berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi dengan mikroba yang lain dan mengalami fluktuasi suhu dan kelembaban serta paparan radiasi UV di atas permukaan tanah (Ramamoorthy, *et.al.*, 2001). Keberadaan bakteri endofitik pada bagian tanaman juga bervariasi, umumnya terdapat pada bagian akar dan batang tanaman. Beberapa bakteri endofitik dapat menembus endodermis melalui korteks akar dan masuk ke sistem pembuluh dan dapat berada dalam batang di atas tanah. (Kloepper, *et.al.*, 1999)

Beberapa studi ekologi mikroba bakteri endofitik membuktikan bahwa keragaman bakteri endofitik sama dengan keragaman pada rizosfer walaupun total kepadatannya lebih rendah (Hallmann *et.al.*, 1997 dalam Kloepper *et. al.*, 1999). Pada penelitian yang dilakukan oleh Elvira-Recuenco dan Van Vuurde (1999) pada tanaman buncis diketahui populasi bakteri endofit pada bagian batang berkisar antara  $10^3$  sampai  $10^7$  CFU/g berat basah batang tanaman buncis. Hal ini sesuai dengan data yang telah diketahui pada tanaman yang lain. Jenis bakteri yang dominan diketahui adalah *Pseudomonas fluorescens* dan *Erwinia herbicola* selain juga *P. viridiflava* dan *Bacillus megaterium*. Variasi diantara media isolasi yang berbeda adalah sangat kecil (Elvira-Recuenco dan Van Vuurde, 1999).

### 2.3.3 Hubungan bakteri endofit dengan inang

Diketahui bahwa faktor tanaman sangat mempengaruhi komunitas mikroba endofit, terutama pada variasi cara kolonisasi bakteri ke dalam tanaman. Sebagai



contoh beberapa endofit, adalah terbawa benih, sedangkan yang lain masuk ke dalam tanaman dengan mendegradasi selulosa (Hallmann *et al.*, 1997), atau kolonisasi lewat luka atau celah antara sambungan percabangan akar (Gough *et al.*, 1997). Diketahui pula bahwa eksudat yang dikeluarkan tanaman lewat akar juga mempengaruhi komunitas endofit. Misalnya Broeckling *et al.* (2008) menemukan bahwa eksudat akar mempengaruhi komunitas mikroba tanah pada rhizosfer yang akan mempengaruhi kontak antara mikroba dengan akar tanaman sehingga mempengaruhi masuknya endofit ke dalam tanaman. Selain itu eksudat pada akar tanaman juga diketahui mempengaruhi kolonisasi dari bakteri penghuni akar (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) seperti *Bacillus subtilis* (Bais, *et al.*, 2006; Rudrappa dan Bais 2007).

Sebenarnya bakteri endofitik maupun rhizobakteri lainnya merupakan bagian dari mikroflora alamiah dari tanaman yang sehat dan berkontribusi bagi kesehatan tanaman (Kloepper *et al.*, 1999). Bakteri endofit dapat berpengaruh pada kesehatan tanaman dalam hal: (1) antagonisme langsung atau penguasaan niche atas patogen, (2) menginduksi ketahanan sistemik dan (3) meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan (Hallman, 1999). Karena sifat-sifat tersebut bakteri endofit telah terbukti dapat dimanfaatkan sebagai pengendali hayati penyakit tanaman bahkan dapat mengurangi serangan hama tanaman (Ramamoorthy, *et al.*, 2001)

#### 2.3.4 Peran bakteri endofit dan pengendalian penyakit

Beberapa bakteri endofit dari tanaman kentang telah diketahui dapat menghambat perkembangan patogen tanaman seperti *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans* dan *Fusarium spp* secara invitro serta dapat menghambat perkembangan penyakit busuk lunak pada kentang yang disebabkan oleh *Pectobacterium carotovorum* (Sturz dan Matheson, 1996). Bakteri endofit juga dapat menghambat *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*, penyebab penyakit busuk cincin pada kentang (Hallman, 1997). Bakteri yang berada dalam umbi kentang diketahui mampu melakukan antibiosis terhadap patogen tanaman (Sturz, 1999).

Bakteri ini dapat berpindah ke atas atau ke bawah dari titik aplikasi dengan mengkolonisasi jaringan dalam dan dapat menghalangi pintu masuk patogen

dalam pembuluh stele. Bakteri endofit juga terbukti efektif dalam mengendalikan *F. solani* pada kapas serta *S. rolfsii* pada kacang. Perlakuan benih pada tomat dengan bakteri endofit *Bacillus pumilus* strain SE 34 mencegah masuknya jamur penyebab layu pembuluh *F. Oxysporum*, sp. *radicis-lycopersici* ke dalam pembuluh stele dan pertumbuhan miselium hanya terbatas pada epidermis dan korteks akar terluar (Benhamou *et. al.*, 1998 dalam Ramamoorthy *et. al.*, 2001). Pada buncis kolonisasi jaringan epidermis, korteks dan pembuluh akar oleh bakteri endofit mencegah masuknya pertumbuhan jamur atau membatasi pertumbuhan jamur pada epidermis (Benhamou *et. al.*, 1996 dalam Ramamoorthy, *et. al.*, 2001). Demikian pula aplikasi *P. fluorescens* strain 63-28 membatasi pertumbuhan *Pytium ultimum* dalam buncis (Benhamou *et. al.*, 1996 dalam Ramamoorthy, *et. al.*, 2001).

Pada beberapa studi diketahui bahwa perlakuan dengan bakteri endofitik terpilih mampu menginduksi ketahanan terhadap patogen vaskular melalui perubahan anatomi dan struktur dalam tanaman. (Benhamou, Kloepper dan Tuzun, 1998). Mekanisme induksi ketahanan sistemik tersebut diketahui melalui modifikasi struktur dan ultrastruktur dinding sel tanaman serta perubahan biokimia dan fisiologi dalam sel tanaman. Pemicunya bisa berupa lipopolisakarida, sideropore dan asam salisilat yang dihasilkan oleh bakteri (Ramamoorthy, *et. al.*, 2001). Selain itu perlakuan bakteri dalam kombinasi dengan chitosan pada konsentrasi yang sesuai menginduksi perubahan fisiologi dan biokimia pada tempat patogen mempenetrasi. Hal ini menjadi jelas bahwa pemberian bakteri dan chitosan memberikan efek sinergi dalam menimbulkan respon pertahanan (Benhamou, Kloepper dan Tuzun, 1998).

Penggunaan praktis bakteri endofitik harus diiringi dengan pengembangan metode penyampaian inokulum. Metode-metode yang dibuat untuk penyampaian inokulum rizobakteri ternyata juga dapat digunakan untuk bakteri endofit, walaupun sistem penyampaiannya bisa berbeda untuk setiap strain bakteri endofitik (Kloepper, *et.al.*, 1999). Metode aplikasi bisa dengan perlakuan benih, stek atau tunas, aplikasi tanah, dan aplikasi daun. Kombinasi dari beberapa metode dapat memberikan hasil yang lebih efektif dibanding hanya satu metode (Ramamoorthy, *et. al.*, 2001).





## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit (sub Laboratorium Bakteriologi) Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya mulai bulan Januari 2014 sampai dengan bulan Juni 2014.

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama penelitian antara lain timbangan, panci, kompor listrik, autoklaf, oven, scalpel, cawan petri, jarum ose, mikroskop, bunsen, mikropipet, timbangan analitik, tabung reaksi, pinset, pisau, botol media, gelas ukur, jarum suntik, gunting, gelas obyek, sprayer, cover glass, pipet, kotak plastik, spektrofotometer, sentrifugase, kertas saring, tub endofit dan laminar flow. Bahan yang digunakan adalah media *Nutrien Agar* (NA), aquadest steril. Biakan murni bakteri *E. carotovora*, biakan murni bakteri Endofit, *Nutrien Broth* (NB), kentang varietas Granola, bakterisida Agrept 20 WP, spiritus, alkohol 70%, alkohol 90% dan kloroform.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) untuk uji yang dilakukan secara *in vitro* dan uji pada umbi kentang dengan dua faktor penelitian:

1. Uji secara *in vitro* menggunakan 23 perlakuan diulang 3 kali dan diamati selama 3 hari:

POA: Media dalam cawan petri diinokulasi aquades steril dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

POB: Media dalam cawan petri diinokulasi Bakterisida berbahan aktif kasugamisin / hidroklorida dan tembaga oksiklorida dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E36A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 36 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E36B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 36 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).



E36C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 36 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E38A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 38 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E38B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 38 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E38C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 38 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E39A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 39 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E39B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 39 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E39C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 39 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E40A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 40 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E40B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 40 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E40C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 40 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E42A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 42 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E42B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 42 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E42C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 42 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E89A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 89 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E89B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 89 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E89C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 89 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).



E99A: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 99 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E99B: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 99 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

E99C: Media dalam cawan petri diinokulasi bakteri endofit isolat 99 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E.carotovora* ( $10^9$  cfu/ml).

2. Uji pada umbi kentang menggunakan 24 perlakuan diulang 3 kali dan diamati selama 7 hari

POA: Umbi kentang diinokulasi dengan aquades steril

POB: Umbi kentang diinokulasi Bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida dan tembaga oksiklorida dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

POC: Umbi kentang diinokulasi aquades steril dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E36A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 36 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E36B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 36 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E36C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 36 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E38A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 38 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E38B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 38 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E38C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 38 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E39A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 39 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E39B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 39 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E39C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 39 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)



E40A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 40 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E40B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 40 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E40C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 40 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E42A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 42 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E42B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 42 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E42C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 42 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E98A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 98 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E98B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 98 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E98C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 98 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E99A: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 99 ( $10^7$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

E99B: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 99 ( $10^9$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

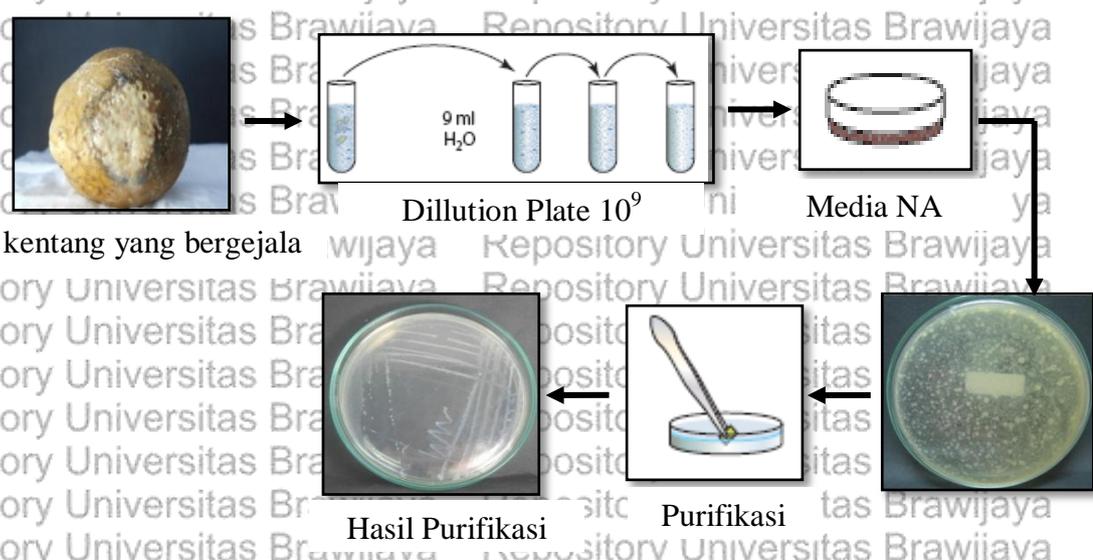
E99C: Umbi kentang diinokulasi bakteri endofit isolat 99 ( $10^{11}$  cfu/ml) dan bakteri patogen *E. carotovora* ( $10^9$  cfu/ml)

Tahapan penelitian yang sudah terlaksana pada uji *in vitro* ialah eksplorasi dan isolasi bakteri endofit dari sampel akar tanaman kentang yang selanjutnya dilakukan seleksi menggunakan uji antagonis, isolasi *E. carotovora* dari umbi tanaman kentang yang bergejala. Pada masing-masing rancangan baik pada cawan petri maupun pada umbi kentang perlakuan bakteri endofit dengan konsentrasi yang ditentukan kemudian diujikan dengan bakteri *E. carotovora* dengan konsentrasi  $10^9$ .

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Isolasi *Erwinia carotovora* dari umbi tanaman kentang yang bergejala

Bakteri *E. carotovora* diisolasi dari umbi tanaman kentang yang terserang penyakit busuk lunak. Proses isolasi bakteri *E. carotovora* menggunakan metode *Dillution Plate*. Selanjutnya umbi yang terserang diisolasi dengan cara umbi dicuci menggunakan air mengalir. Bagian kentang yang terserang dipotong kemudian dimasukan ke dalam cawan petri yang berisi alkoho 95 % secukupnya, selama 3 menit. Akuades sebanyak 10 ml dan kentang dimasukkan ke dalam mortal lalu digerus sampai keluar estraknya. Suspensi bakteri sebanyak 1ml diambil dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml dan seterusnya hingga pengenceran  $10^9$ . Kemudian 1 ml larutan diambil setelah pengenceran  $10^9$  dan dimasukan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media NA, digoyangkan kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang sudah steril (Gambar 3).



Gambar 3. Teknik *Dillution Plate* yang digunakan dalam proses isolasi bakteri *E. carotovora* dari umbi yang bergejala

Setelah koloni-koloni bakteri *E. carotovora* tumbuh, dilakukan purifikasi menggunakan jarum ose untuk mendapatkan koloni tunggal dari bakteri tersebut. Bakteri patogen yang telah di isolasi kemudian diidentifikasi pada tingkat genus menurut Kerr (1980) meliputi, uji hipersensitif, uji reaksi gram dengan KOH 3%, uji reaksi gram dengan pengecatan gram dan uji oksidatif-fermentatif.

### 3.4.2 Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman kentang

Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman kentang sehat dilakukan dengan metode Hallman (1999). Berat basah akar tanaman kentang ditimbang selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir. Sterilisasi permukaan dengan campuran 1.05% sodium hipoklorit dan 0.1% Tween 20 selama 60 detik diikuti dengan tiga kali pencucian menggunakan buffer fosfat steril. Seluruh sistem akar dilekatkan pada media TSA (*Trypticase soy agar*) untuk melihat ada tidaknya kontaminasi permukaan. Bila dalam waktu 48 jam muncul koloni bakteri pada media tersebut, maka sterilisasi permukaan tersebut dianggap gagal dan sampel tersebut dibuang. Kemudian akar tersebut dicuci sebanyak lima kali menggunakan bufer fosfat (w/v) dihancurkan dengan mortar. Setelah larutan homogen lalu diencerkan dalam air steril dengan pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$  dan disebarkan dalam media TSA dengan ulangan sebanyak dua kali inkubasi pada suhu selama 2 sampai 3 hari.

Koloni tunggal hasil dari pemurniaan dipilih dan dipindahkan ke dalam media TSA baru dengan metode penggosokan. Bakteri kemudian diinkubasi pada suhu  $27^{\circ}\text{C}$  dan kemurnian bakteri diamati secara visual setelah 48 jam. Selanjutnya untuk penyimpanan bakteri dilakukan dengan mengambil dua loop ose bakteri kemudian dipindahkan dalam tabung kecil (ependorf volume 1.5 ml) yang mengandung 0.8 ml media TSB cair dan 0.2 ml gliserin. Sampel kemudian disimpan dalam freezer ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) sampai dilakukan proses lebih lanjut.

### 3.4.3 Uji antagonisme bakteri endofit terhadap *E. carotovora* pada cawan petri

Uji antagonisme dilaksanakan menurut Wakimoto *et al.* (1986) dan Hara dan Ono (1991). Bakteri endofit yang telah diinkubasikan selama  $2 \times 24$  jam dibuat pengenceran  $10^9$  CFU/ml dalam aquades steril. Selanjutnya kertas cakram yang sudah steril dengan diameter 5 mm dimasukan kedalam pengenceran selama  $\pm 1$  menit dan tiriskan pada tisu yang sudah steril selama 2 jam. Kemudian kertas saring yang sudah kering di tanam pada bagian tengah-tengah media NA dan inkubasi selama 2 hari. Bakteri antagonis pada cawan Petri kemudian dilapisi (*dioverlay*) dengan pengenceran bakteri patogen dicampur dengan 14 ml

media NA pada suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ . Hasil *overlay* tersebut diinkubasi selama 48 jam dan diamati daerah hambatan yang terbentuk diukur diameternya.

#### 3.4.4 Uji in vitro penghambatan filtrat endofit dalam cawan petri

Uji penghambatan filtrat bakteri endofit dibuat dengan metode Wakimoto *et al.* (1986). Bakteri endofit yang memiliki sifat antibiosis dibiakkan pada media NB dalam tabung reaksi, dan digojok selama 24 jam dalam suhu kamar. Sebanyak 1 ml biakan dipindahkan kedalam tabung eppendorf dan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 g. Supernatan difiltrasi menggunakan *filter syringe* dengan lubang pori berukuran  $0.2\ \mu\text{m}$  sebanyak dua kali. Kertas saring (diameter 5 mm) direndam dalam filtrat, dikeringanginkan dan ditanam pada media NA padat dalam cawan petri yang telah disebar dengan bakteri *E. carotovora*. Setelah diinkubasi selama 48 jam, kemudian ukur diameter daerah hambatan yang terbentuk.

#### 3.4.5 Karakterisasi morfologi dan fisiologis bakteri endofit antagonis terhadap *E. carotovora*

Karakterisasi bakteri endofit antagonis dilaksanakan menurut Kerr (1980) meliputi uji reaksi hipersensitif pada tembakau, uji Gram. Uji fisiologi meliputi produksi pigmen fluorescense, reduksi nitrat, oksidatif-fermentatif, akumulasi, dan uji katalase. Masing-masing penampakan yang muncul diamati.

#### 3.4.6 Uji antagonis bakteri endofit terhadap patogen *E. carotovora* pada umbi kentang

Uji antagonis bakteri endofit terhadap patogen *E. carotovora* pada umbi kentang dibuat dengan metode dari penelitian Haque *et al* (2009). Permukaan umbi kentang varietas Granola disterilisasi dengan perendaman dalam sodium hipoklorit 1% selama 10 menit, kemudian cuci dengan aquades steril tiga kali dan kering anginkan. Kentang dilubangi menggunakan ujung mikropipet tip, lalu diinokulasikan dengan bakteri endofit sebanyak  $50\ \mu\text{l}$  kemudian dibiarkan selama 1-2 jam sampai kering. Setelah itu pada lubang yang sama diinokulasi suspensi bakteri pathogen *E. carotovora* pada konsentrasi  $10^9\ \text{cfu/ml}$  sebanyak  $50\ \mu\text{l}$ . Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Umbi kentang diinkubasi dalam wadah lembab pada suhu kamar selama 7 hari.

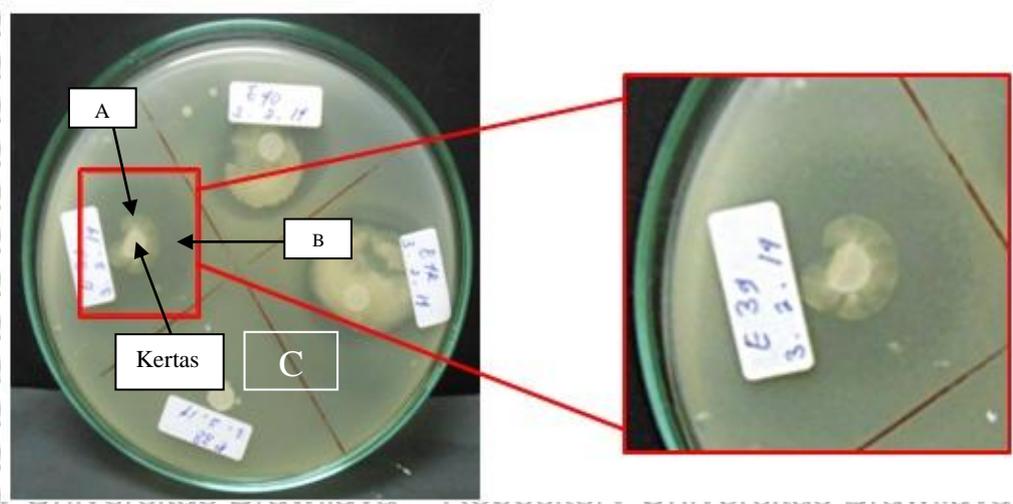


### 3.5 Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

#### 3.5.1 Variabel pengamatan percobaan pada cawan petri

1. Intensitas hambatan bakteri endofit terhadap patogen *E. carotovora* penyebab penyakit busuk lunak pada cawan petri.

Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan daerah bening atau zona penghambatan yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit. Diameter daerah bening diukur menggunakan jangka sorong. Indeks zona hambat dihitung dengan rumus menurut Sugiyono *et al.* (2008). Penampakan daerah bening yang terbesar menunjukkan potensi bakteri endofit yang paling potensial.



Gambar 4. Pengujian pendahuluan pada cawan petri dan pengukuran zona bening (A. Agens Hayati, B. Zona Bening dan C. Patogen)

Indeks zona hambat dihitung dengan rumus berikut :

$$I = \frac{B - A}{B}$$

dimana:

- I = Indeks zona hambat
- A = diameter koloni agens hayati
- B = diameter zona hambat

2. Dokumentasi luas hambatan agens hayati terhadap patogen penyebab penyakit busuk lunak pada cawan petri.

Merupakan variabel kualitatif dipergunakan sebagai bukti tingkat kemampuan hambatan bakteri endofit terhadap bakteri patogen. Dilakukan pengambilan gambar setelah inkubasi selama 2 hari.

### 3.5.2 Variabel pengamatan percobaan pada umbi kentang

#### 1. Massa busuk lunak pada jaringan umbi kentang

Pengamatan dilakukan terhadap jaringan yang busuk pada umbi kentang yang dihasilkan oleh isolat bakteri agens hayati dan bakteri patogen penyebab busuk lunak. Selanjutnya umbi kentang kemudian diiris dua, dan jaringan busuk yang dihasilkan oleh masing-masing isolat setiap perlakuan dikorek keluar dan ditimbang dengan timbangan analitik

#### 2. Dokumentasi luas hambatan agens hayati terhadap patogen penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang.

Merupakan variabel kualitatif dipergunakan sebagai bukti tingkat kemampuan hambatan bakteri agens hayati terhadap bakteri patogen. Dilakukan pengambilan gambar setelah inkubasi selama 7 hari.

### 3.5.3 Analisis Statistik untuk Uji Lanjut

Data yang diperoleh dari pengamatan percobaan pada cawan petri dan massa busuk lunak pada jaringan umbi ini dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kesalahan 5%.

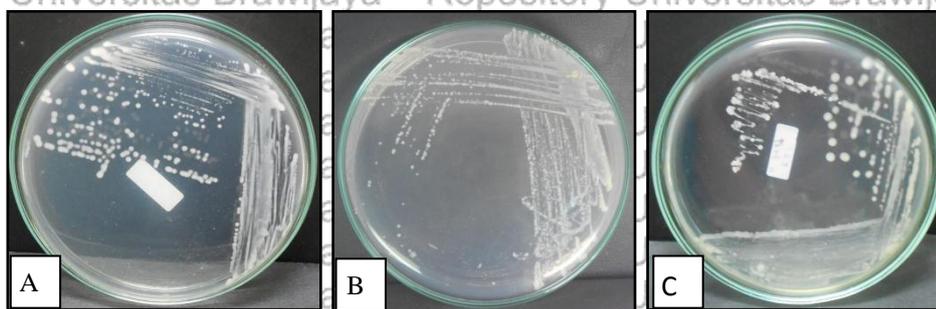


## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Isolasi Penyebab Busuk Lunak

Isolasi dari umbi tanaman kentang yang terkena penyakit busuk lunak telah menghasilkan 3 isolat bakteri murni yang dikode dengan nama Er 1, Er 2 dan Er 3 yang diduga patogen *Erwinia carotovora*. Sampel ini diambil dari gudang kentang di Desa Sumberbrantas, Kota Batu. Bakteri hasil isolasi digoreskan pada media NA untuk mengetahui bentuk morfologinya (lihat gambar 5).



Gambar 5. Biakan bakteri patogen yang diduga *E. carotovora* di dalam media NA. (A) *E. carotovora* [Er1]; (B) *E. carotovora* [Er2]; (C) *E. carotovora* [Er3]

Isolat yang didapatkan dari hasil reisolasi, kemudian diinokulasikan kembali pada umbi kentang sehat dengan metode suntik selanjutnya diinkubasi pada keadaan lembab di suhu kamar. Pengamatan dilakukan setiap hari dan dilakukan pembelahan umbi kentang setelah satu minggu. Gejala yang ditimbulkan dari hasil inokulasi sama dengan gejala sebelum diisolasi, yaitu pada awal infeksi terlihat seperti bintik yang berwarna krem sampai coklat, berbau busuk dan lunak.

Hasil inokulasi menunjukkan hanya satu isolat bakteri yang dapat menghasilkan gejala patogenitas seperti yang dipaparkan yaitu isolat bakteri Er 2.

#### 4.1.2 Karakterisasi Bakteri Patogen

##### Karakterisasi Morfologi

Hasil dari pengamatan morfologi masing-masing isolat bakteri yang diduga sebagai patogen *E. carotovora*, memiliki ciri-ciri yang sama dapat dilihat pada tabel 1. Kenampakan morfologi dari isolat Er2 yang sama dengan isolat lainnya kemudian dilanjutkan pada pengujian secara fisiologi.

Tabel 1. Ciri-ciri morfologi isolat bakteri patogen penyebab penyakit busuk lunak yang diduga bakteri *E. carotovora*

Isolat	Bentuk	Permukaan	Warna	Tepi
Er1	Bulat	Cembung	Putih	Rata
Er2	Bulat	Cembung	Putih	Rata
Er3	Bulat	Cembung	Putih	Rata

Keterangan: Kode isolat Er = Isolat *E. carotovora*

Masing-masing bakteri ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Masa inkubasi pada suhu kamar di butuhkan dalam proses pertumbuhan bakteri sehingga dapat mengamati koloni bakteri dari masing-masing isolat. Hasil pengamatan morfologi cenderung menunjukkan ciri-ciri yang sama, namun dari hasil inokulasi kembali pada umbi kentang sehat tidak semua isolat bakteri yang menunjukkan gejala yang sama dengan umbi kentang yang di duga terserang patogen *E. carotovora*. Hanya satu isolat Er2 yang digunakan untuk pengujian antibiosis pada cawan petri, filtrat dan antagonis pada umbi kentang.

**Karakterisasi Fisiologi**

Bakteri yang diperoleh dari hasil reisolasi dan menghasilkan gejala patogenesis yang mendekati gejala patogen *E. carotovora* selanjutnya diidentifikasi meliputi: uji hipersensitif, uji patogeniesitas, pengamatan morfologi koloni, uji fisiologi dan biokimia mengikuti petunjuk identifikasi menurut Schaad *et al.* (2001). Hasil pengujian fisiologi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Identifikasi bakteri patogen *E. carotovora*

Uji Fisiologi dan Biokimia	Isolat bakteri	Literatur Schaad <i>et al.</i> (2001)
Uji Busuk Lunak	+	+
Uji Patogenisitas	+	+
Uji Hipersensitif	+	+
Pertumbuhan Media YDC	+	+
Uji Reaksi Gram		
a. KOH 3%	-	-
b. Pengecatan gram	-	-
Uji Oksidatif-Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
Pertumbuhan di medium King's B	+	+
Pigmen Fluorescens di Medium Kings'B	-	-

Keterangan: Identifikasi bakteri patogen *E. carotovora* (Er2)

### 4.1.3 Hasil Eksplorasi pada Akar Tanaman Kentang dan Seleksi Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *Erwinia carotovora*

Hasil dari eksplorasi bakteri endofit pada akar tanaman kentang didapatkan 99 isolat. Hasil ekplorasi selanjutnya diuji potensi antagonisnya terhadap *E. carotovora* yang ditumbuhkan pada media NA. Zona hambatan yang terbentuk diantara koloni bakteri patogen dan bakteri endofit menunjukkan adanya sifat antagonis yang saling menghambat pertumbuhan bakteri yang satu dengan yang lainnya. Hasil seleksi dari 99 bakteri endofit didapatkan 57 isolat yang antagonis terhadap bakteri *E. carotovora* dapat di lihat pada tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh jenis bakteri endofit terhadap pembentukan zona hambatan pada pertumbuhan *E. carotovora*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat						
Endofit 1	0	Endofit 26	0,24	Endofit 51	0,67	Endofit 76	0
Endofit 2	0	Endofit 27	0,27	Endofit 52	0,82	Endofit 77	0
Endofit 3	0	Endofit 28	0,24	Endofit 53	1,36	Endofit 78	0
Endofit 4	0	Endofit 29	0,81	Endofit 54	1,73	Endofit 79	0
Endofit 5	1,02	Endofit 30	0,31	Endofit 55	1,81	Endofit 80	0
Endofit 6	0	Endofit 31	1,07	Endofit 56	0	Endofit 81	0,93
Endofit 7	2,05	Endofit 32	0	Endofit 57	0	Endofit 82	0
Endofit 8	0	Endofit 33	0	Endofit 58	0	Endofit 83	0,60
Endofit 9	0	Endofit 34	1,04	Endofit 59	1	Endofit 84	1,27
Endofit 10	0	Endofit 35	0,47	Endofit 60	1,2	Endofit 85	0,5
Endofit 11	0	Endofit 36	1,93	Endofit 61	1,7	Endofit 86	0,5
Endofit 12	0	Endofit 37	0	Endofit 62	0	Endofit 87	0
Endofit 13	0,82	Endofit 38	1,98	Endofit 63	0,77	Endofit 88	0,84
Endofit 14	0	Endofit 39	1,84	Endofit 64	0	Endofit 89	0,7
Endofit 15	0,93	Endofit 40	1,67	Endofit 65	0,91	Endofit 90	0
Endofit 16	1,12	Endofit 41	0	Endofit 66	0	Endofit 91	0
Endofit 17	0	Endofit 42	2,46	Endofit 67	0	Endofit 92	0
Endofit 18	0	Endofit 43	0,5	Endofit 68	0,54	Endofit 93	0
Endofit 19	0,87	Endofit 44	0	Endofit 69	0,84	Endofit 94	0,61
Endofit 20	0	Endofit 45	0,51	Endofit 70	0,84	Endofit 95	0
Endofit 21	0	Endofit 46	0,51	Endofit 71	0,6	Endofit 96	0,61
Endofit 22	0,34	Endofit 47	0,5	Endofit 72	1,5	Endofit 97	0,61
Endofit 23	0,14	Endofit 48	0,81	Endofit 73	1,8	Endofit 98	2,92
Endofit 24	0,27	Endofit 49	0,91	Endofit 74	0	Endofit 99	3,21
Endofit 25	0,21	Endofit 50	0	Endofit 75	0		

Keterangan: Diameter zona hambatan dalam satuan cm



#### 4.1.4 Uji Antagonis Bakteri Endofit Terseleksi terhadap *Erwinia carotovora*

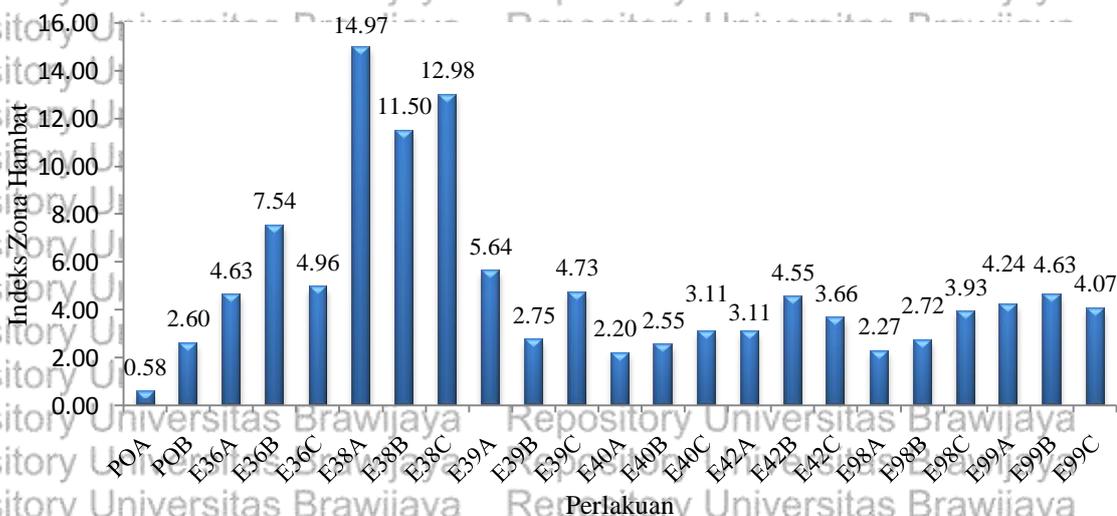
Hasil seleksi isolat bakteri endofit terhadap *E. carotovora* yang menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan dengan isolat endofit yang lainnya digunakan dalam pengujian antagonis pada cawan petri. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan E38A, E38B dan E38C diketahui berpengaruh terhadap bakteri *E. carotovora*. Data rerata antibiosis bakteri endofit dapat di lihat pada tabel 4.

Tabel 4. Indeks zona hambat antibiosis bakteri endofit terhadap *E. Carotovora* di cawan petri

Perlakuan	Diameter zona bening (cm)
POA	0,59 a
POB	2,61bcd
Endofit 36A	4,62efg
Endofit 36B	7,54 h
Endofit 36C	4,97 fg
Endofit 38A	14,97 j
Endofit 38B	11,50 i
Endofit 38C	12,98 i
Endofit 39A	5,64 g
Endofit 39B	2,75 bcde
Endofit 39C	4,73 efg
Endofit 40A	2,20 ab
Endofit 40B	2,55 bcd
Endofit 40C	3,11 bcdef
Endofit 42A	3,11 bcdef
Endofit 42B	4,54 defg
Endofit 42C	3,66 bcdefg
Endofit 98A	2,27 abc
Endofit 98B	2,71 bcde
Endofit 98C	3,93 bcdefg
Endofit 99A	4,24 cdefg
Endofit 99B	4,63 efg
Endofit 99C	4,07 bcdef

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%, kontrol (POA): aplikasi menggunakan aquades, kontrol (POB) aplikasi menggunakan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida dan tembaga oksiklorida. Kode endofit isolat 36 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 38 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 39 A, B dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 40 A, B dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 42 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 98 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), dan kode endofit isolat 99 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ).

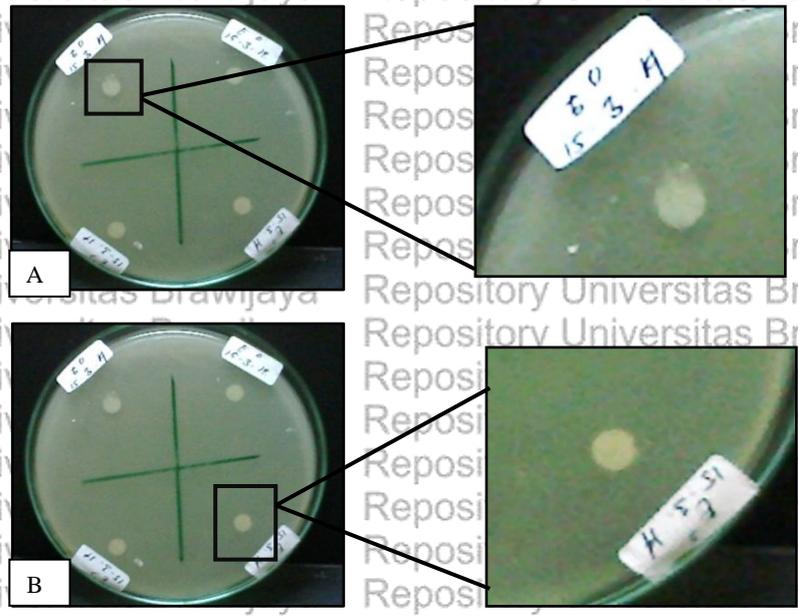
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua perlakuan bakteri endofit maupun bakterisida berpengaruh terhadap penekanan pertumbuhan bakteri patogen pada cawan petri. Pemberian perlakuan bakteri endofit E36, E38, E39, E40, E42, E98, dan E99 dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen, perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan kontrol inokulasi menggunakan akuades (POA). Penekanan pertumbuhan bakteri patogen pada perlakuan E36 dan E38 berbeda nyata dengan perlakuan POB: kontrol (bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida dan tembaga oksiklorida) dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Daya hambat antar jenis bakteri. (POA): aplikasi menggunakan aquades, kontrol (POB) aplikasi menggunakan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida dan tembaga oksiklorida. Kode endofit isolat 36 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 38 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 39 A, B dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 40 A, B dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 42 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), kode endofit isolat 98 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ), dan kode endofit isolat 99 A, B, dan C ( $10^7, 10^9, 10^{11}$ ).

**4.1.5 Uji Filtrat Bakteri Endofit Terseleksi terhadap *Erwinia carotovora***

Hasil uji penghambatan filtrat menunjukkan tidak semua bakteri endofit yang terpilih dapat menghambat terhadap *E. carotovora*. Berdasarkan gambar 7 diketahui hanya dua isolat bakteri endofit yang mampu menghasilkan zona hambat. Pengujian filtrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan metabolit sekunder dari masing-masing bakteri endofit terpilih dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.



Gambar 7. Zona hambat yang terbentuk oleh metabolit dari bakteri endofit; (A) filtrat bakteri endofit dengan kode isolat 98 (E<sup>0</sup>), (B) filtrat bakteri endofit dengan kode isolat 99 (E<sup>1</sup>)

**4.1.6 Karakterisasi Bakteri Endofit**

**Karakterisasi Morfologi**

Bakteri endofit yang terpilih di goreskan pada media NA padat dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar bertujuan untuk menghasilkan koloni tunggal yang akan di amati. Proses pengamatan dilakukan terhadap koloni bakteri yang tumbuh. Hasil dari pengamatan morfologi dari isolat bakteri yang terpilih didapatkan ciri-ciri seperti pada tabel 5.

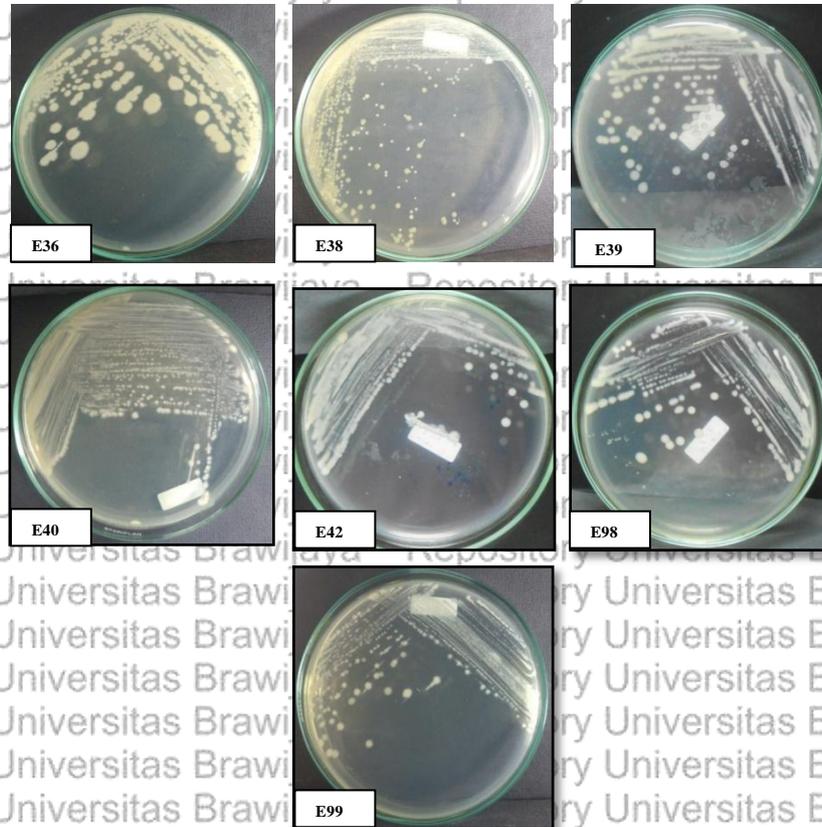
Tabel 5. Ciri-ciri morfologi isolat bakteri endofit yang digunakan dalam pengujian di cawan petri dan umbi kentang

Isolat	Bentuk	Permukaan	Warna	Tepi
E36	Bulat	Cembung	Putih kekuningan	Bergerigi
E38	Bulat	Cembung	Putih kekuningan	Rata
E39	Bulat	Cembung	Putih	Rata
E40	Bulat	Cembung	Putih kekuningan	Rata
E42	Lonjong	Cembung	Putih	Rata
E98	Bulat	Cembung	Putih	Rata
E99	Bulat	Cembung	Putih	Rata

Keterangan: Morfologi bakteri endofit yang di goreskan pada media NA. E36: bakteri endofit dengan kode isolat 36, E38: bakteri endofit dengan kode isolat 38, E39: bakteri endofit dengan kode isolat 39, E40: bakteri endofit dengan kode isolat 40, E42: bakteri endofit dengan kode isolat 42, E98: bakteri endofit dengan kode isolat 98, dan E99: bakteri endofit dengan kode isolat 99.



Hasil pengamatan menunjukkan masing-masing bakteri endofit memiliki morfologi yang berbeda. Hasil biakan bakteri endofit yang terpilih dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Bentuk pertumbuhan koloni bakteri endofit yang digunakan dalam pengujian pada media NA. E36: bakteri endofit dengan kode isolat 36, E38: bakteri endofit dengan kode isolat 38, E39: bakteri endofit dengan kode isolat 39, E40: bakteri endofit dengan kode isolat 40, E42: bakteri endofit dengan kode isolat 42, E98: bakteri endofit dengan kode isolat 98, dan E99: bakteri endofit dengan kode isolat 99.

**Karakterisasi Fisiologi**

Bakteri endofit yang terpilih selanjutnya dilakukan pengujian fisiologi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Karakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri endofit

Karakter	E36	E38	E39	E40	E42	E98	E99
Uji Reaksi Gram							
a. KOH 3%	+	+	+	+	-	+	+
b. Pengecatan gram	+	+	+	+	-	+	+
Uji OF	Fermentatif						
HR	-	-	-	-	-	-	-
Pertumbuhan di medium King's B	+	+	+	+	+	+	+
Pigmen	-	-	-	-	-	-	-
Fluorescens	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: Karakterisasi fisiologi bakteri endofit: Hiper sensitif (HR)

#### 4.1.7 Uji Bio-Bakterisida Berbahan Aktif Bakteri Endofit Antagonis terhadap Patogen *E. carotovora* pada Umbi Kentang

Berdasarkan hasil uji Bio-bakterisida berbahan aktif bakteri endofit yang terpilih mempunyai potensi penghambatan terhadap perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang (Tabel 7). Penghambatan bakteri endofit tersebut memberikan dugaan bahwa bakteri endofit yang terpilih memiliki senyawa antibakteri. Perlakuan pada uji antagonis dilakukan dengan menggunakan konsentrasi yang ditentukan yaitu  $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ , dan  $10^{-11}$ . Masing-masing konsentrasi diaplikasikan dengan metode yang sama. Hasil yang didapatkan selanjutnya dibandingkan dengan isolat endofit yang berbeda dan bakteri endofit dengan konsentrasi yang berbeda.

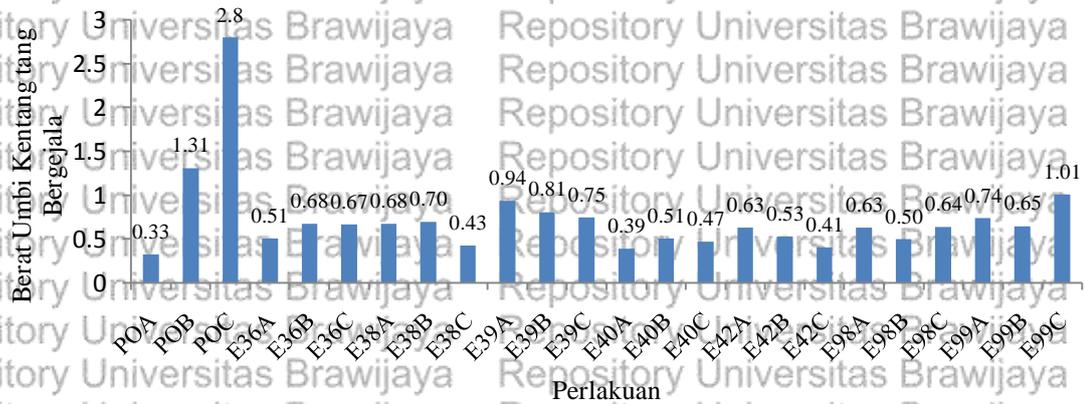
Tabel 7. Data uji antagonis bakteri endofit terhadap patogen *E. carotovora* pada umbi kentang

Perlakuan	Penghambatan bakteri endofit (gram)
POA	0,32 a
POB	1,01 de
POC	2,79 f
P1A	0,49 abc
P1B	0,70 abcd
P1C	0,67 abcd
P2A	0,68 abcd
P2B	0,70 abcd
P2C	0,43 ab
P3A	0,94 cd
P3B	0,81 bcd
P3C	0,75 abcd
P4A	0,39 ab
P4B	0,51 abc
P4C	0,48 ab
P5A	0,63 abcd
P5B	0,53 abc
P5C	0,41 ab
P6A	0,63 abcd
P6B	0,50 abc
P6C	0,63 abcd
P7A	0,74 abcd
P7B	0,65 abcd
P7C	1,01 abcd

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%, kontrol (POA): aplikasi menggunakan akuades, kontrol (POB) aplikasi menggunakan bakteri *Erwinia carotovora* dan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida dan tembaga oksiklorida, dan kontrol (POC) aplikasi menggunakan bakteri *Erwinia carotovora* dan akuades.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa kemampuan antar bakteri endofit dalam menghambat perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang berbeda nyata dengan kontrol dapat di lihat pada gambar 9. Pemberian perlakuan bakteri endofit dapat menekan pertumbuhan bakteri *E. carotovora*, perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan kontrol inokulasi dengan akuades (POA) dan kontrol inokulasi bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida, tembaga oksiklorida (POB).

Bakteri endofit mampu menekan pertumbuhan bakteri *E. carotovora* dibuktikan dengan berat bagian umbi yang terserang mencapai 0,048% hingga 3,75% dibandingkan dengan penekanan kontrol yang diinokulasikan dengan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida, tembaga oksiklorida (POB) menghasilkan berat bagian umbi yang terserang lebih besar mencapai 59.58%. Masing-masing perlakuan baik bakteri endofit maupun bakterisida mampu menekan pertumbuhan *E. carotovora* bila dibandingkan dengan kontrol yang diinokulasikan dengan bakteri *E. carotovora* dan akuades (POC).



Gambar 9. Uji antagonis antar jenis bakteri. POA: kontrol ( diinokulasikan dengan akuades), POB: kontrol (diinokulasikan dengan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida, tembaga oksiklorida), POC: kontrol (diinokulasikan dengan bakteri *E. carotovora* dan akuades. E36: bakteri endofit dengan kode isolat 36, E38: bakteri endofit dengan kode isolat 38, E39: bakteri endofit dengan kode isolat 39, E40: bakteri endofit dengan kode isolat 40, E42: bakteri endofit dengan kode isolat 42, E98: bakteri endofit dengan kode isolat 98, dan E99: bakteri endofit dengan kode isolat 99.



## 4.2 PEMBAHASAN

### 4.2.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Erwinia carotovora* dari Umbi Kentang

Dari hasil pengamatan, isolasi umbi kentang yang diduga bergejala busuk lunak telah menghasilkan 3 isolat. Hasil uji Gram menunjukkan bahwa semua isolat termasuk Gram negatif. Hasil isolasi bakteri *E. carotovora* diinokulasikan kembali pada umbi kentang dengan metode suntik. Hanya satu isolat yang berhasil menunjukkan gejala yang mendekati bakteri *E. carotovora* pada umbi kentang. Gejala yang dihasilkan berupa hancurnya jaringan tumbuhan akibat adanya aktivitas pektolitik, umbi menjadi lunak, dan gejalanya cepat meluas. Patogen penyebab busuk lunak menyerang jaring parenkim dan menghancurkan lamela tengah kemudian diikuti oleh kematian sel (Sinaga, 2006).

#### Karakterisasi Bakteri Patogen

Hasil karakterisasi bakteri patogen menunjukkan gejala busuk lunak termasuk kelompok Gram negatif. Hal ini ditandai dengan terbentuknya lendir ketika lup inokulasi diangkat setelah isolat bakteri dicampur dengan KOH 3%.

Ciri bakteri gram negatif yaitu struktur dinding sel tipis, kurang rentan terhadap penisilin, dan kurang resisten terhadap gangguan fisik (Pelczar dan Chan, 1986).

Bakteri *E. carotovora* penyebab busuk lunak memiliki karakteristik sifat Gram negatif. Pada uji fermentatif media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji mengalami perubahan warna menjadi orange, baik pada media tanpa *parafin oil* maupun dengan *parafin oil*. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa bakteri uji bersifat fermentatif. Bakteri yang bersifat fermentatif dapat beraktivitas dalam keadaan anaerob. Kontrol yang digunakan berupa media uji tanpa inokulasi bakteri tidak mengalami perubahan warna. Uji pertumbuhan pada media anaerobik dilakukan untuk mengetahui bakteri patogen termasuk dalam kelompok *Erwinia* dan *Pseudomonas* yang bersifat pektolitik (Baker dan Cook, 1974).

Pada uji patogenisitas kentang yang telah di suntik isolat bakteri kemudian mengalami perubahan seperti bintik berwarna krem, busuk dan lunak. Jika umbi dipotong, bagian dalam umbi akan terlihat basah, berwarna krem setelah diinkubasi selama 7 hari. Menurut Mehrotra dan Aggarwal (2005), *Erwinia* dari



kelompok *carotovora* memiliki aktivitas pektolitik yang tinggi dan dapat menyebabkan busuk lunak pada jaringan tanaman. Walaupun jaringan tersebut bukan dari tanaman yang masih hidup, bakteri *E. carotovora* tetap dapat berkembang dan mendegradasi jaringan.

Hasil uji HR (Hipersensitif) menunjukkan bahwa terjadi reaksi positif pada bakteri uji. Bagian daun yang di suntik berubah warna menjadi kuning dan akhirnya mengering (nekrosis). Berdasarkan pengamatan morfologi koloni, hasil uji hipersensitif, uji patogenesitas dan uji fisiologi serta uji biologi untuk mengetahui genus dan spesies, isolat bakteri tersebut termasuk dalam genus *Erwinia*, kemudian termasuk ke dalam spesies *Erwinia carotovora*. Untuk memisahkan bakteri yang bersifat patogen, pengujian pada daun tembakau (HR) merupakan cara yang paling baik dan paling cepat. Schad (2001) menyatakan bahwa reaksi hipersensitif merupakan sistem pertahanan tanaman dalam menolak bakteri patogen dengan mematikan sel tanaman di sekeliling sehingga bakteri tidak dapat berkembang.

#### 4.2.2 Hasil Eksplorasi pada Akar Tanaman Kentang dan Seleksi Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *Erwinia carotovora*

Hasil eksplorasi bakteri endofit pada akar tanaman kentang menghasilkan 99 isolat. Berdasarkan penelitian Hallmann (2001) bahwa populasi bakteri endofit dipengaruhi oleh jenis tanaman, umur tanaman, tipe jaringan (akar, batang, daun), habitat, dan faktor lingkungan. Bakteri endofit yang didapatkan selanjutnya disimpan ke dalam tabung kecil eppendorf volume 1.5 ml yang mengandung 0.8 ml media TSB cair dan 0.2 ml gliserin dan disimpan dalam freezer (-20°C) sampai dilakukan proses lebih lanjut. Masing-masing isolat bakteri yang terpilih selanjutnya dilakukan seleksi yang bersifat antagonis terhadap bakteri *E. carotovora*.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak semua jenis bakteri endofit bersifat antagonis terhadap *E. carotovora*. Hal ini terlihat dari hasil pengamatan yang telah dilakukan dapat dilihat pada tabel 3. Zona hambat terbesar terjadi pada perlakuan endofit isolat 36 (diameter zona hambat dengan kode E36 sebesar 1,93 cm), endofit isolat 38 (diameter zona hambat dengan kode E38 sebesar 1,98 cm), endofit isolat 39 (diameter zona hambat dengan kode E39 sebesar 1,84 cm),



endofit isolat 40 (endofit zona hambat dengan kode E40 sebesar 1,67 cm), endofit isolat 42 (diameter zona hambat dengan kode E42 sebesar 2,46 cm), endofit isolat 98 (diameter zona hambat dengan kode E98 sebesar 2,92 cm), dan endofit isolat 99 (diameter zona hambat dengan kode E99 sebesar 3,21 cm). Masing-masing bakteri endofit yang menghasilkan zona hambat terbesar dilanjutkan pada pengujian antibiosis dengan menggunakan konsentrasi dan uji antagonis pada umbi kentang.

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas senyawa metabolit yang bersifat antagonis terhadap *E. carotovora*. Hal ini sesuai dengan penelitian Hallman (1997) bahwa bakteri endofit juga dapat menghambat *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*, penyebab penyakit busuk cincin pada kentang. Bakteri endofit ditemukan mampu menghasilkan antibiosis; pada mulanya diketahui bahwa bakteri mampu memproduksi metabolit antibakteri, antijamur dan antinematoda. Beberapa antibiotik telah diidentifikasi, seperti yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp., zat yang berfungsi sebagai antibiotik tersebut diantaranya adalah phloroglucinols, phenazine derivative, pyoluteorin, pyrrolnitrin, siklis lipopeptides dan sianida hydrogen, dan zat antibiotic lainnya adalah agrocin 84 (*Agrobacterium* sp.), Herbicolin A (*Erwinia* sp.), Iturin A, surfactin, dan zwittermicin A (*Bacsil* sp.) dan xanthobacin (*Stenotrophomonas* sp.) (Sturz, 2006).

Isolat bakteri endofit yang menghasilkan zona hambat kemudian dilakukan pengujian antagonis terhadap perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang dengan berbagai konsentrasi.

#### 4.2.3 Kemampuan Antibiosis bakteri endofit terhadap *E. carotovora* pada cawan petri

Uji in vitro masa inkubasi bakteri *E. carotovora* pada cawan petri menggunakan perlakuan bakteri uji tunggal dengan konsentrasi yang ditentukan, serta perlakuan bakterisida dan aquades. Uji penghambatan pertumbuhan bakteri *E. carotovora* dengan pembentukan zona hambat dimaksudkan untuk mengetahui besarnya penghambatan bakteri endofit terhadap bakteri patogen berdasarkan besar diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, semakin besar juga tingkat penekanannya terhadap pertumbuhan patogen. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan diketahui



berpengaruh terhadap bakteri *E. carotovora*. Data antibiosis bakteri endofit dapat di lihat pada tabel 4.

Beberapa bakteri endofit dilaporkan dapat berperan sebagai agen hayati yang berasosiasi dengan tanaman inangnya (Long *et al.*, 2008). Dalam penelitian ini isolat bakteri endofit yang terpilih menunjukkan reaksi antibiosis terhadap *E. carotovora*. Mekanisme antibiosis berkaitan erat dengan kemampuan isolat bakteri endofit menghasilkan enzim seperti kitinase, protease, dan selulase maupun senyawa sekunder lainnya yang sangat berperan dalam menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann *et al.*, 1997).

Enzim kitinase mampu mendegradasi kitin yang merupakan komponen dinding sel pada patogen *R. Solani*, *Fusarium oxysporum*, dan *Sclerotium rofsii* sedangkan enzim selulase mampu mengurai selulosa cendawan *Phytophthora capsici* (Raaijmaker *et al.*, 2008). Khan dan Doly (2009) melaporkan bahwa bakteri endofit berpengaruh positif terhadap tanaman tomat meskipun ditumbuhkan pada medium yang miskin hara. Uji antibiosis yang dihasilkan oleh bakteri endofit dengan konsentrasi yang sudah ditentukan mempunyai potensi berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan *E. carotovora*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri.

#### **4.2.4 Kemampuan Antagonis Antar Jenis Bakteri**

Secara umum kemampuan antagonis bakteri endofit antar jenis bakteri menghasilkan zona hambat yang bervariasi. Berdasarkan hasil pengujian bakteri endofit E36, E38, E39 E42, dan E99 menunjukkan indeks zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, sedangkan bakteri endofit E40 dan E98 lebih rendah di bandingkan dengan kontrol gambar (6). Zona hambat terbentuk di sekeliling koloni bakteri endofit. Daerah tersebut tidak ditumbuhi oleh patogen karena adanya senyawa antibiotik, yang bersifat menghambat atau membunuh patogen, yang dihasilkan oleh bakteri endofit.

Menurut Radji (2005), fase pertumbuhan stationer merupakan fase dimana bakteri endofit menghasilkan metabolit sekunder, pada saat ini aktivitas metabolit bakteri sangat menentukan pembentukan zona hambat karena bakteri endofit telah siap mensekresikan metabolitnya yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Menurut Radji (2005), bakteri endofit

memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, senyawa yang dihasilkan seperti *ecomycin* aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Cryptococcus neoformans*. *Ecomycin* merupakan lipopeptida yang terdiri dari molekul asam amino yang umumnya mengandung homoserin dan beta-hidroksi asam arpartat. Penelitian ini membuktikan bahwa bakteri endofit mempunyai potensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen termasuk *E. carotovora* pada cawan petri.

#### 4.2.5 Kemampuan Antagonis antar Konsentrasi dari Bakteri yang Sama

Perlakuan bakteri endofit dengan konsentrasi yang ditentukan memperlihatkan penekanan yang berbeda terhadap pertumbuhan *E. carotovora*. Berdasarkan hasil yang diperoleh, bakteri endofit E36, E42 dan E99 pada kerapatan  $10^9$  cfu/ml menghasilkan daya hambat paling besar dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya dibandingkan dengan kontrol (Gambar 6). Kemampuan penekanan yang sama juga terjadi pada bakteri endofit E38, dan E39 menghasilkan daya hambat paling besar pada kerapatan  $10^7$  cfu/ml (Gambar 6), sedangkan pada bakteri endofit E40 dan E98 pada kerapatan  $10^{11}$  cfu/ml dapat menekan pertumbuhan *E. carotovora* dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya dan kontrol (Gambar 6). Penekanan paling baik terhadap pertumbuhan *E. carotovora* terjadi pada bakteri endofit dengan kode isolat E38. Bakteri endofit ini mampu menekan bakteri patogen pada semua konsentrasi dan dapat tumbuh dengan baik pada media agar.

Hal ini sesuai dengan penelitiannya Damayanti (2010), bakteri endofit mampu menekan populasi *R. Solanacearum* dengan kerapatan dibawah  $10^4$  cfu/ml pada uji penghambatan pada media cair. Hasil penelitian Nawangsing (2007), menyatakan kemampuan bakteri endofit berkompetisi dalam media cair King B menghasilkan penekanan terhadap populasi bakteri penyakit darah relatif paling tinggi pada kerapatan  $4 \times 10^6$  cfu/ml dan  $7 \times 10^6$  cfu/ml.

#### 4.2.6 Uji In Vitro Penghambatan Filtrat Endofit pada Cawan Petri

Hasil pengujian penghambatan filtrat menunjukkan tidak semua bakteri endofit terpilih bersifat metabolit terhadap *E. carotovora*. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa metabolit yang di hasilkan oleh bakteri endofit 98 (luas zona hambat 0,009 cm) dan endofit 99 (luas zona hambat 0,0127 cm) lebih sensitif



menghambat pertumbuhan bakteri *E. cartovora* dibandingkan dengan endofit 36, 38,39,40, dan 42 tidak menghasilkan zona bening. Hal ini membuktikan bahwa zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh metabolit dari bakteri endofit yang ada di dalam filtrat dapat dilihat pada Gambar 7.

Menurut Stobel (2002), terbentuknya zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan bakteri uji yang berlebihan sehingga pengaruh metabolit yang dihasilkan oleh bakteri endofit tidak signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *R. Solanacearum*, jamur *Fusarium* sp dan jamur *P. Infestan*. Keberadaan mikroba endofit di dalam jaringan suatu tanaman diharapkan berperan dalam aktivitas metabolisme tanaman, misalnya memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder yang bermanfaat untuk tanaman inangnya atau memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Sehingga diharapkan keberadaan mikroba endofit tersebut dapat dikembangkan sebagai penghasil metabolit sekunder yang bermanfaat. Menurut Purwanto (2008), mikroba endofit memang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya.

Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (Munif, 2001). Kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa metabolik sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut.

#### **4.2.7 Uji Bakteri Endofit Terseleksi sebagai Antagonis terhadap Penyebaran Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Kentang**

Antagonisme merupakan penghambatan terhadap suatu organisme oleh metabolik yang dihasilkan oleh organisme lain dan aktivitas antibiosis ini umumnya menghambat pertumbuhan dan kemungkinan dapat mematikan mikroorganisme. Berdasarkan pengamatan daya hambat melalui uji antagonisme bakteri endofit yang terpilih mempunyai potensi daya hambat terhadap

perkembangan patogen *E. carotovora* pada umbi kentang (Gambar 9).

Perlakuan uji antagonis dengan aplikasi bakteri endofit secara tunggal mampu menekan perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang. Meskipun pada perlakuan isolat bakteri endofit tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (POA).

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan benar dan tidak terjadi kontaminasi. Perlakuan kontrol POB dan POC berbeda nyata dengan bakteri endofit, hal ini menunjukkan bahwa pemberian dan penambahan bakterisida belum mampu menghambat proses pertumbuhan bakteri *E. carotovora* sedangkan penambahan akuades membantu proses penyebarannya.

Seperti diketahui bahwa telah terjadi simbiosis antara bakteri endofit dan umbi kentang dengan mekanisme yang berbeda satu sama lain dalam melawan patogen *E. carotovora*. Menurut Bacon dan Hinton (2006), keaneka ragaman spesies bakteri endofit merefleksikan banyaknya cara kerja yang mungkin terjadi untuk melawan patogen, yang memungkinkan patogen memproduksi senyawa antibiotik untuk melawan bakteri endofit tersebut. Menurut Purwanto (2009), mikroba endofit umumnya dapat menghasilkan senyawa sejenis yang terkandung pada tanaman inang dengan bantuan aktivitas suatu enzim. Beberapa senyawa endofit yang bersimbiosis dengan tanaman inangnya juga ada yang mampu menghasilkan senyawa antibiotik. Senyawa antibiotik ini aktif terhadap mikroba-mikroba patogen manusia dan patogen tanaman.

Hasil perlakuan kontrol POB menunjukkan tidak adanya penekanan terhadap perkembangan patogen *E. carotovora* pada perlakuan kontrol negatif, sedangkan perlakuan dengan penambahan bakteri endofit yang diduga memiliki senyawa antibiotik akibatnya serangan patogen *E. carotovora* menjadi rendah.

Menurut Sigeo (1993), agens hayati sanggup untuk membatasi pertumbuhan dan aktifitas bakteri fitopatogen dengan dua langkah, yaitu dengan memproduksi substansi anti mikrobial serta berkompetisi atas ruang dan nutrisi yang spesifik pada permukaan tanaman.

#### 4.2.8 Kemampuan Antagonis Antar Jenis Bakteri

Kemampuan antagonis bakteri endofit mampu menghambat perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang. Berdasarkan pengamatan uji antagonis setelah 7 hari didapatkan data bagian umbi kentang



yang busuk, dengan cari dikorek lalu ditimbang menggunakan timbangan analitik.

Hasil aplikasi bakteri endofit lebih kecil dibandingkan dengan kontrolnya. Hal ini sesuai dengan penelitian lain yang melaporkan bahwa beberapa bakteri endofit dapat berasosiasi dan memacu pertumbuhan beberapa jenis tanaman, termasuk kentang (Sturz, 1995), tomat (Munif, 2001) dan cabai (Sundaramoorthy 2012).

Nejad dan Jhonson (2000) melaporkan bahwa sifat yang paling dominan pada bakteri endofit adalah kemampuan dari bakteri endofit untuk hidup di dalam jaringan tanaman, sifat antagonisme terhadap patogen dan kemampuannya untuk menginduksi ketahanan.

Mekanisme kerja bakteri endofit sebagai agens biokontrol dengan menghasilkan senyawa antimikroba untuk melawan patogen dengan kemampuannya menghasilkan zat pengatur tumbuh maupun mengfiksasi dan memobilisasi nitrogen dan fosfat yang berperan dalam memacu dan memperkuat pertumbuhan ketahanan tanaman (Ikada *et al*, 2010). Mekanisme antibiosis juga berkaitan erat dengan kemampuan isolat bakteri endofit menghasilkan enzim kitinase, protease dan selulase maupun senyawa sekunder lainnya yang sangat berperan dalam menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann *et al*, 1997).

Bakteri patogen *E. carotovora* mengawali perkembangannya dengan mematikan sel inang, sehingga sel inang mengalami luka dan busuk (Adeline *et al*, 2008). Pada awal infeksi umbi terlihat seperti berwarna krem sampai coklat, bila ditekan agak lunak, kemudian mulai berkembang dan menimbulkan bau. Menurut Chailani (2010), beberapa faktor yang mempengaruhi infeksi dan perkembangan patogen tersebut adalah umbi yang masih muda, terdapat luka pada umbi, kekurangan cahaya atau sinar matahari, kelembaban pada tanah yang tinggi dan kekurangan oksigen ketika umbi di penyimpanan. Bakteri patogen *E. carotovora* memproduksi enzim pektinase, enzim ini dapat mendegradasi kandungan pektin yang terdapat pada umbi kentang. Baker dan Cook (1974) melaporkan bahwa umumnya aktivitas antagonisme umumnya terjadi dalam tiga tipe, yaitu (1) antibiosis dan lisis, (2) persaingan atau kompetisi, (3) parasitisme, dan (4) predasi.

#### 4.2.9 Uji Antar Konsentrasi dari Bakteri yang Sama

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua konsentrasi yang diinokulasi bakteri endofit berpengaruh nyata terhadap penghambatan bakteri *E. carotovora* dapat dilihat pada gambar 9. Berdasarkan hasil pengamatan setelah 7 hari aplikasi, bakteri endofit yang sudah disuspensikan menghasilkan busuk pada umbi kentang lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol.

Sessitsch *et al.* (2004) melaporkan bahwa 40% bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kentang mampu memacu pertumbuhan *plantlet* tanaman kentang. Hasil penelitian Adeline *et al.* (2007) menunjukkan bahwa bakteri endofit *Serratia* sp. yang diisolasi dari pisang liar mampu meningkatkan pertumbuhan *plantlet* pisang barangan kultivar Intan. Harni (2010) juga melaporkan bahwa 26 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman nilam mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman nilam (berat tajuk tanaman dan berat akar). Menurut Bacon & Hinton (2007), interaksi antara tanaman inang dan bakteri endofit dapat bersifat netralisme (tidak ada pengaruh terhadap tanaman inang), mutualisme (menguntungkan terhadap tanaman inang dan bakteri endofit), atau komensalisme (menguntungkan terhadap tanaman inang atau bakteri endofit).





## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Didapatkan 99 isolat bakteri endofit dari hasil eksplorasi, 57 isolat bakteri endofit mampu menghasilkan zona hambat dan penekanan terbaik didapatkan 7 isolat bakteri endofit.
2. Penghambatan terbaik terhadap pertumbuhan *E. carotovora* pada cawan petri ditunjukkan oleh bakteri endofit dengan kode isolat endofit 36 dan endofit 38.
3. Bakteri endofit mampu menekan pertumbuhan bakteri *E. carotovora* dibuktikan dengan berat bagian umbi yang terserang mencapai 0,048% hingga 3,75% dibandingkan dengan penekanan kontrol yang diinokulasikan dengan bakterisida berbahan aktif kasugamisin hidroklorida, tembaga oksiklorida (POB) menghasilkan berat bagian umbi yang terserang lebih besar mencapai 59,58%.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai aplikasi kombinasi antar bakteri endofit serta frekuensi aplikasinya pada tanaman dalam skala lapang.



## DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H.S. 2007. Pengaruh Sumber Mineral Terhadap Penekanan Erwinia carotovora oleh Psudomonas pendar-fluor Secara In Vitro. Jurnal HPT Tropika. Volume 7. No. 2.
- Adeline, S.Y.T, Sariah. M, Jugah. K, Son.R dan Gunit. S. 2008. Endophytic microorganisms as potential growth promoters of banana. *Biocontrol*, vol. 53, pp. 541-53
- Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Tembakau: Isolasi Bakteri Antagonis. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia 3:54-6
- Asandhi, A.A dan Gunadhi, N. 1989. Syarat Tumbuh Tanaman Kentang. Dalam Hidayati. E. N. 2004. Eksplorasi Bakteri Endofit Umbi Kentang Antagonistik terhadap Erwinia carotovora var. carotovora Patogen Penyebab Penyakit Busuk Lunak (Soft Rot) Pada Umbi Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L.). Skripsi. Jurusan HPT. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang.
- Bacon, C.W, Hinton D.M. 2006. Bacterial endophytes : the endophytic niche, its occupants, and its utility. Di dalam : Gnanamanickam SS, editor. *Plant-Associated Bacteria*. Netherland : Springer.
- Badan Pusat Statistik. 2009. Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Kentang, 2009-2010. [http://www.bps.go.id/tab\\_sub/view.php?tabel+1&daftar+1&id\\_sibyek+55&notab+15](http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?tabel+1&daftar+1&id_sibyek+55&notab+15). (25 Maret 2014)
- Baker, K.F., Cook, R.J. 1974. *Biological control of plant patogen*. San Fransisco:Freeman and Co.
- Bais, H.P., T.L. Weir, L.G Perry, S. Gilroy, dan J.M Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol* 57:233–266
- Benhamou, N, J.W Kloepper, S. Tuzun. 1998. Induction of Resistance Against Fusarium Wilt of Tomato by Combination of Chitosan with an Endophytic Bacterial Strain: Ultrastructure and Cytochemistry of the Host Response. *Planta* 204:153-168.
- Broeckling C.D., A.K Broz, J. Bergelson, D.K Manter, J.M Vivanco. 2008. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Appl Environ Microbiol* 74:738–744
- Chailini, S.R. 2010. Penyakit-penyakit Pasca Panen Tanaman Pangan. UB Press. Malang, Hal 22-23. 151 Hal.
- Damayanti I. 2010. Seleksi dan karakterisasi bakteri endofit untuk menekan kejadian penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada

tanaman tomat. [[skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Elvira-Recuenco, M dan J.W.L Van Vuurde. 1999. Stem Colonization of Pea Cultivars by Indigenous Endophytic Bacteria. Prosiding BSPP Congress.

FAOSTAT. Available at: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (25 Maret 2014.)

Goto, M. 1990. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press, Inc. Hartcourt Brace Jovanovich Publishers. New York

Gough C, C. Galera, J. Wasse, G. Webster, E.C. Cocking, J. Denarie. 1997. Specific flavonoids promote intercellular root colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Azorhizobium caulinodans*. *Mol. Plant Microbe Interact* 10:560–570

Hallman, J, A. Quadt-Hallmann, W.F. Mahaffee, dan J.W. Kloepper. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Can. J. Microbiol.* 43:895–914

Hallman, J. 1999. Interaction with Prokaryotes: Plant Interaction with Endophytic Bacteria. BSPP Presidential Meeting. [www.bspp.co.uk](http://www.bspp.co.uk).

Hamm, P. dan Ocamb, C.M. 2002. Potato (*Solanum tuberosum*) Bacterial Rot and Blackleg. Oregon State University Extension. Oregon.

Harni, R. 2010. Bakteri endofit untuk mengendalikannematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. Disertasi Program Doktor IPB. Bogor. 118p.

Haque, M.M., M. Shahinur Kabir, Luqman Qurata Aini, Hisae Hirata dan Shinji Tsuyumu. 2009. SlyA, a MarR Family Transcriptional Regulator, Is Essential for Virulence in *Dickeya dadantii* 3937. *Journal of Bacteriology*. Vol. 191. No.17.

Ikeda S, Okubo T, Anda M, Nakashita H, Yasuda M, Sato S, Kaneko T, Tabata S, Eda S, Momiyama A, Terasawa K, Mitsui H, Minamisawa K. 2010. Community- and genome-based views of plant-associated bacteria: plant-bacterial interactions in soybean and rice. *Plant Cell Physiol.* 51(9):1398–1410. doi:10.1093/pcp/pcq119.

Kerr, A. 1980. Bacteria and Mycoplasma as a Parasite, pp. 133-144. In JF. Brown, A. Kerr, F.G. Morgan dan I.H. Parbey. *A course Manual in Plant Protection*. Australian Vice-Chancellor Committee. Australia

Khan Z, Doty SL. 2009. Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant Soil.* 322 (1-2):197–207. doi:10.1007/s11104-009-9908-1.

Kloepper J.W, R Rodriguez-Ubana, G.W Zehnder, J.F Murphy, E. Sikora dan C. Fernandez. 1999. Plant Root-bacterial Interaction in Biological Control of





Soilborne Disease and Potential Extension to Systemic and Foliar Disease. *Australasian Plant Pathology* 28: 21-26

Long, Hoang Hoa., Schmidt, Dominik D., Baldwin, Ian T. 2008. Native Bacterial Endophytes Promote Host Growth in a Species-Specific Manner; Phytohormone Manipulations Do Not Result in Common Growth Responses. <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0002702>. Akses 29 Mei 2009

Mehrotra R.S, Aggarwal A. 2005. *Plant Pathology*. Ed ke-2. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing Company

Munif, A. 2001. Studies on the importance of endophytic bacteria for the biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. Inaugural-Dissertation. Institut für Pflanzenkrankheit der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 120p

Nawangsih, A.A, Hanudin, Sanjaya, L dan Cahyono, B 2010, Pengendalian *Erwinia carotovora* pada anggrek menggunakan biopestisida mikroba berbahan aktif *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*, Laporan akhir KKP3T TA 2009, Bogor.

Pelczar M.J, Chan E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Hadiotomo RS *et al.*, penerjemah. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. Jakarta: UI Press.

Purwanto. 2008. Peranan Mikroorganisme Endofit sebagai Penghasil Antibiotik. [www.kabarindonesia.com](http://www.kabarindonesia.com). Akses 5 Juni 2014.

Radji, Maksum. 2005. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2:113 – 126.

Raaijmakers, J.M, Bonsall, R.f dan weller, DM 1999, 'Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat', *Phytopathol.*, vol. 89, pp. 470-75

Ramamoorthy V, R. Viswanathan, T. Raguchander, V. Prakasan, dan R. Samiyappan. 2001 Induction of Systemic Resistance by Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Crop Plants Against Pests and Diseases. *Crop Protection* 20: 1-11. [www.Elsevier.com/locate/cropro](http://www.Elsevier.com/locate/cropro)

Rudrappa T, Bais H.P. 2007. *Arabidopsis thaliana* root surface chemistry regulates in planta biofilm formation of *Bacillus subtilis*. *Plant Sig Behav* 2:349–350

Rukmana, R. 1977. Kentang Budidaya dan Pasca Panen. Kanisius. Yogyakarta. P. 19-62



Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (2<sup>nd</sup> Edition). The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. p164.

Schaad, N., J Jones dan W. Chun. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd Edition. APS Press, Amerika. Hal 1-71.

Sessitsch, A, Reiter, B & Berg, G. 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities, *Can J Microbiol*, vol. 50, pp. 239-4

Sigeo D.C. 1993. *Bacterial Plant Pathology : Cell and Molecular Aspect*. Manchester : Cambridge University Press.

Sinaga, M.S. 2006. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Jakarta: PenebarSwadaya.

Sinaga M.S. 2006. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Ed ke-2 Jakarta:Penebar Swadaya.

Sugiyono, A., J. L Rosita dan A. S. Reysia. 2008. Karakterisasi Protease Bakteri Termofil Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah. *Jurnal Penelitian Perikanan*. Vol. II. No. 2

Sturz, A.V, B.R Christie, B.G Matheson, W.J Arsenault dan N.A Buchanan. 1999. Endophytic Bacterial Communities in the periderm of Potato Tubers and Their Potential to Improve Resistance to Soil-borne Pathogen. *Plant Pathology* 48:360-369

Sturz, A.V dan B.G Matheson. 1996. Population of Endophytic Bacteria which Influence on Host Growth. *Biology and Fertility of Soils* 25:13-19

Strobel, G.A. (2002). Microbial gifts from rain forests. *Can.J.PlantPathol*, 24: 14-20.

Wakimoto, S: *et al.* 1986. Production of antibiotics by Plant Pathogenic Pseudomonas. *Ann. Phytopathology Society, Japan* ( 52 ) : 835-842p