PEMANFAATAN BAKTERI RIZOSFER DAN BAKTERI ENDOFIT AKAR TANAMAN JAHE (*Zingiber officinale)* DI UB *FOREST* UNTUK MENGHAMBAT PENYAKIT LAYU BAKTERI PADA TANAMAN JAHE

Oleh

ELOK MIFTAHUL ILMI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 27 Mei 2019

Elok Miftahul Ilmi

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian	: Pemanfaatan Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe (*Zingiber officinale)* di UB *Forest* untuk Menghambat Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman Jahe
Nama	: Elok Miftahul Ilmi
NIM	: 155040201111038
Jurusan	: Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	: Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,	Pembimbing Kedua,
Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph. D.	Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIP. 19720919 199802 1 001	NIK. 201409 880504 2 001

Diketahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan:

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I,

Dr. Akhmad Rizali, SP., M. Si
NIK. 201405 770415 1 001

Penguji II,

Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Penguji III,

Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Tanggal Lulus:

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

“ BISMILLAHIRRAHMANIRRAHIM “

Tidak ada kerberhasilan tanpa doa terbaik dari ayah dan ibu, kasih sayang, kepercayaan dan ketulusan yang selalu mendampingi dalam setiap proses. Tidak ada kata lain yang bisa saya ucapkan selain TERIMAKASIH…..

“ ALHAMDULILLAHIRABBIL ALAMIN “

Skripsi ini saya persembahkan kepada

Ayahanda dan Ibunda tercinta

Mas Tomi dan Ade Wildhan tersayang

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

Elok Miftahul Ilmi. 155040201111038. Pemanfaatan Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe (*Zingiber officinale)* di UB *Forest* untuk Menghambat Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Jahe. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D dan Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc

Tanaman jahe (*Zingiber officinale)* merupakan tanaman herbal yang banyak digunakan masyarakat Indonesia sehingga mendapatkan perhatian untuk dikembangkan di Indonesia, namun produksinya belum optimal. Salah satu penyebab penurunan produksi jahe yaitu gangguan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh patogen *Ralstonia solanacearum*. Pengendalian penyakit tanaman saat ini mengacu pada konsep pengendalian hama terpadu (PHT) yang salah satu komponennya menggunakan bakteri antagonis. Bakteri antagonis pada penelitian ini diisolasi dari rizosfer dan endofit akar tanaman jahe di UB Forest. Penelitian bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum.*

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya mulai bulan November 2018 sampai dengan April 2019. Penelitian terdiri dari beberapa tahapan: (1) Isolasi bakteri patogen *R. solanacearum* dan uji patogenesitas (2) eksplorasi dan isolasi bakteri rizosfer tanaman jahe (3) eksplorasi dan isolasi bakteri endofit akar tanaman jahe (4) seleksi bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* (5) Uji Hipersensitif (6) Uji penghambatan bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe terhadap *R. solnacearum* (7) karakterisasi dan identifikasi bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum.*

Hasil eksplorasi didapatkan total 45 isolat dengan rincian 28 isolat bakteri rizosfer dan 17 isolat bakteri dari endofit akar. Berdasarkan hasil seleksi, terdapat 10 bakteri yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* dengan ditandai menghasilkan zona hambat yang bening, kemudian dipilih 6 isolat bakteri yang memiliki nilai zona hambat tertinggi yaitu R1.2, R10, R28, R2, E8, E2 untuk dilakukan pengujian selanjutnya. Dari hasil pengujian penghambatan patogen *R. solanacearum* pada cawan petri terdapat empat isolat bakteri antagonis yang memiliki kemampuan menghambat *R. solanacearum* lebih baik dari bakterisida streptomisin sulfat yaitu isolat R1.2, R2, R10 dan E2. Sedangkan terdapat dua isolat bakteri antagonis yang memiliki kemampuan menghambat *R. solanacearum* yang sama dengan bakterisida streptomisin sulfat yaitu isolat E8 dan R28. Hasil identifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia menunjukkan isolat bakteri R1.2, R10, R2, E8, E2 termasuk genus *Pantoea* sp. Sedangkan isolat R28 termasuk genus *Clostridium* sp.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

SUMMARY

Elok Miftahul Ilmi. 155040201111038. Utilization of Rizosphere Bacteria and Endophytic Bacteria of Ginger Root (*Zingiber officinale*) in UB *Forest* to Inhibit Bacterial Wilt of Ginger Plant. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP. M.Sc. Ph.D and Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc.

Ginger plant (*Zingiber officinale*) is an herbal plant that widely used by Indonesian people so that it gets attention to be developed in Indonesia, but its production is not optimal. One of the causes of decreased ginger production is the disruption of bacterial wilt caused by the pathogen *R. solanacearum*. Current plant disease control refers to the concept of integrated pest control (IPM), which one component uses antagonistic bacteria. The antagonistic bacteria in this study were isolated from the rhizosphere and endophytic roots of ginger plants in UB Forest. This study aims to obtain rhizosphere bacterial isolates and endophytic bacteria from the roots of ginger plants that are antagonistic to *R. solanacearum*.

The study was conducted at the Laboratory of Plant Diseases, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University from November 2018 to April 2019. The study consisted of several stages: (1) Isolation of pathogenic bacteria *R. solanacearum* and pathogenicity test (2) exploration and isolation of rhizosphere bacteria from ginger plants (3) exploration and isolation of endophytic bacteria of ginger root (4) selection of rhizosphere bacteria and endophytic roots of ginger plants that are antagonistic to *R. solanacearum* (5) Hypersensitive Test (6) Test of rhizosphere bacterial antagonism and endophytic bacteria roots ginger plant against *R. solanacearum* (7) characterization and identification of antagonistic bacteria against *R. solanacearum*.

Exploration results obtained 45 isolates bacteria with details of 28 isolates of rhizosphere bacteria and 17 isolates of root endophytic bacteria. Based on the results of the selection, there were 10 opposite antagonistic bacteria against *R. solanacearum* markedly producing inhibit zones, then 6 bacterial isolates were selected which had the highest inhibitory zone values, namely R1.2, R10, R28, R2, E8, E2, which must be done next. From the results of testing the inhibition of pathogen *R. solanacearum* on petri dishes, four isolates of antagonistic bacteria that had the ability to overcome *R. solanacearum* were better than bactericidal streptomycin sulfate, namely isolates R1.2, R2, R10 and E2. While there were two isolates of antagonistic bacteria which had the ability to inhibit *R. solanacearum* which was the same as bactericidal streptomycin sulfate, namely isolates E8 and R28. The results stated morphologically, physiologically and biochemically showed bacterial isolates R1.2, R10, R2, E8, E2 including the genus *Pantoea* sp. While R28 isolates included the genus *Clostridium* sp.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa atas Rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Selama penulisan skripsi , penulis mendapatkan bimbingan dan saran serta bantuan baik moril maupun materil yang mendukung penyelesaian skripsi dengan judul " Pemanfaatan Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) di UB *Forest* untuk Menghambat Layu Bakteri pada Tanaman Jahe". Penulis mengucapkan terimakasih kepada.

1. Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph. D dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc selaku pembimbing skripsi yang selalu sabar dalam mendampingi penulis dengan memberikan segala saran, arahan, dukungan maupun masukan.
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Seluruh dosen Jurusan Hama dan P`enyakit Tumbuhan dan karyawan jurusan HPT atas ilmu, bimbingan, fasilitas dan bantuan yang telah diberikan.
3. Kedua orang tua (Sutrisno (alm) dan Ulfah), kakak, adik serta keluarga besar yang telah memberikan doa, cinta, kasih sayang dan dukungan.
4. Mahasiswa bimbingan skripsi Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph. D dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc angkatan 2018, teman- teman seperjuangan minat bakteri, dan semua teman terdekat saya yang telah memberikan doa, dukungan dan bantuan.

Malang, 27 Mei 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Mojokerto pada tanggal 08 Agustus 1997 dari pasangan Bapak Sutrisno (alm) dan Ibu Ulfah. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara. Riwayat pendidikan penulis pernah sekolah di TK Manbaul Ulum (2002-2003), sekolah dasar di MI Manbaul Ulum (2003-2009), sekolah menengah pertama di SMPN 1 Kemlagi (2009-2012), sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Mojokerto (2012-2015), kemudian tahun 2015 penulis terdaftar sebagai mahasiswi Strata-1 Program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti kepanitiaan yang diselenggarakan oleh SC (Sport Corner) pada kegiatan ABC (Agriculture Basket Competition) sebagai divisi hubungan masyarakat tahun 2016, penulis pernah mengikuti kepanitiaan yang diselenggarakan HIMAPTA (Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman) pada kegiatan KPP (Komisi Penyelenggara Pemilihan) Formatur sebagai divisi hubungan masyarakat tahun 2018 dan mengikuti kepanitiaan PROTEKSI (Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian) sebagai divisi kesehatan pada tahun 2018. Penulis pernah magang kerja di Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya sebagai asisten di laboratorium Mikrobiologi.

DAFTAR ISI

RINGKASAN i
SUMMARY ii
KATA PENGANTAR iii
RIWAYAT HIDUP iv
DAFTAR ISI v
DAFTAR TABEL vii
DAFTAR GAMBAR viii
I. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Hipotesis 3
1.5 Manfaat Penelitian 3
II. TINJAUAN PUSTAKA 4
2.1 Penyakit Layu Bakteri disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* 4
2.2 Bakteri Rizosfer 5
2.3 Bakteri Endofit 6
2.4 Kawasan UB *Forest* 7
2.5 Tanaman Jahe (*Zingiber officinale)* 8
III. METODE PENELITIAN 10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian 10
3.2 Alat dan Bahan 10
3.3 Pelaksanaan Penelitian 10
3.4 Variabel Pengamatan 18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 19
4.1 Karakteristik Morfologi Bakteri *Ralstonia solanacearum* dan Gejala layu Bakteri pada Jahe 19
4.2 Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe serta Potensinya untuk menghambat *R. solanacearum* 21
4.3 Reaksi Hipersensitif 23
4.4 Zona Hambat Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe terhadap Bakteri *R. solanacearum* 24
4.5 Karakteristik Morfologi dan Genus Bakteri Antagonis 27

V. KESIMPULAN DAN SARAN 38
5.1 Kesimpulan 38
5.2 Saran 38
DAFTAR PUSTAKA 39
LAMPIRAN 45

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Nomor Teks Halaman

1. Zona bening 45 isolat bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe dengan *R. solanasearum* setelah 24 jam inokulasi..... 22
2. Rerata zona bening yang dihasilkan setiap perlakuan pada 24-72 JSI..... 26
3. Karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri antagonis 29

Lampiran

1. Analisis ragam hasil uji penghambatan bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* pada cawan Petri.....45

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Nomor Teks Halaman

1. Gejala layu bakteri. 5
2. (a) Tanaman jahe, (b) Rimpang jahe 9
3. Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus 17
4. Koloni bakteri patogen *R. Solanacearum* berumur 48 jam : 19
5. Gejala layu bakteri oleh *R. solanacearum* pada tanaman jahe……...24
6. Lendir putih yang merupakan massa bakteri *R. solanacearum* 21
7. Gejala hipersensitif isolat bakteri pada daun tembakau pada pengamatan 48 jam 24
8. Zona hambat yang dihasilkan setiap perlakuan dalam menghambat pertumbuhan patogen *R. solanacearum* setalah 48 jam inokulasi. 25
9. Karakteristik morfologi koloni tunggal bakteri antagonis pada masa inkubasi 48 jam 28
10. Reaksi Pengujian KOH 3%..... 30
11. Warna dan bentuk sel bakteri pada uji pewarnan Gram 31
12. Gelembung isolat bakteri R2 pada reaksi positif uji katalase 32
13. Endospora isolat bakteri R28 33
14. Metabolisme fermentatif isolat bakteri R2 pada media OF 34
15. Warna kuning koloni isolat bakteri E2 pada media YDC 35

Lampiran

1. Morfologi 45 isolat bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe 46
2. Morfologi isolat bakteri antagonis pada pengamtan 24 jam..... 47
3. Reaksi uji KOH isolat bakteri antagonis 48
4. Warna dan bentuk sel bakteri antagonis pada perwarnaan Gram 49
5. Metabolisme fermentatif bakteri antagonis pada uji OF 50
6. Koloni kuning bakteri antagonis pada media YDC 51
7. Gelembung bakteri antagonis pada reaksi uji katalase..... 52
8. Gejala layu bakteri oleh *R. solanacearum* pada 8 hari setelah inokulasi di tanaman jahe 52
9. Gejala hipersensitif 6 bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum* 53

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jahe (*Zingiber officinale)* merupakan tanaman herbal yang banyak digunakan masyarakat Indonesia sebagai bahan penyedap makanan, sebagai bahan baku obat tradisional, makanan dan minuman kesehatan, fitofarmaka serta produk kosmetik dan perawatan tubuh. Tanaman jahe termasuk salah satu komoditi unggulan dan dipertimbangkan dapat turut serta dalam usaha menggalakkan komoditi non migas, sehingga mendapat perhatian untuk dikembangkan di Indonesia (Suharti *et al*, 2011). Namun, pada tahun 2017 luas panen dan produksi jahe mengalami penurunan dari tahun sebelumnya. Berdasarkan data Badan Statistika tahun (2017) tercatat bahwa luas panen tanaman jahe turun sebesar 2.258,97 hektar dari luas panen sebelumnya dan produksi jahe turun sebesar 120.811 ton. Salah satu penyebab penurunan luas panen dan produksi jahe adalah gangguan penyakit layu bakteri.

Layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* merupakan penyakit utama pada jahe. Penyakit tersebut sering mengakibatkan menurunnya kualitas rimpang jahe dan kehilangan hasil sampai 90 %, sehingga petani sering dirugikan (Hartati, 2012). Penyakit layu bakteri mudah dan cepat sekali tersebar. Penyebaran di dalam kebun dapat terjadi melalui tanah, akar, air, sisa-sisa tanaman sakit, alat-alat pertanian, hewan, dan pekerja di lapangan. Penyebaran jarak jauh terutama terjadi melalui penanaman benih yang berupa rimpang jahe yang telah terinfeksi bakteri yang pada saat ditanam rimpangnya kelihatan sehat (infeksi laten), oleh karena itu pengendalian penyakit ini cukup sulit dilakukan (Ferniah *et al*., 2011).

Pengendalian penyakit tanaman yang disebabkan oleh bakteri saat ini mengacu pada konsep Pengendalian Hama Terpadu (PHT). Salah satu komponen dalam pengendalian tersebut yaitu pengendalian hayati. Keuntungan penggunaan agens hayati dalam pengendalian penyakit tanaman antara lain: sumber daya lokal, dapat diperbanyak dengan teknologi sederhana dan mudah cara aplikasinya (Suharti *et al.*, 2011). Penggunaan agens hayati dalam pengendalian penyakit membutuhkan waktu yang lama tetapi mampu mendukung sistem keberlanjutan lingkungan, murah dan tidak berbahaya bagi kehidupan dan lingkungan (Mingma *et al, 2014).*

Bakteri rizosfer dan bakteri endofit sebagian memiliki peran sebagai pengendali hayati terhadap patogen tanaman (Simatupang, 2008). Pemanfaatan bakteri penghuni akar tumbuhan (rizosfer) memiliki peran dalam optimalisasi siklus hara, pertumbuhan tanaman, dan sebagai pengendalian hayati terhadap patogen tular tanah (Prayudyaningsih *et al*., 2015). Seperti contoh, Isolat *Pseudomonas fluorescens* T906, *P. cepacia* 44 dan *Bacillus* sp dapat menekan penyakit layu bakteri pada jahe putih kecil, aplikasi campuran ketiga isolat bakteri tersebut dalam satu formulasi dapat menekan serangan bakteri dari 47 % menjadi 7,4 % (Mulya *et al.*, 2000). Pemanfaatan bakteri endofit yang berada dalam jaringan tanaman yang sehat telah banyak dilaporkan memiliki kontributor bagi kesehatan tanaman dalam hal antagonisme langsung terhadap patogen, mengiduksi ketahanan sistemik, dan meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan (Ramamooethy *et al.*, 2001).

UB Forest merupakan hutan pendidikan Universitas Brawijaya yang berada di lereng Gunung Arjuna dengan ketinggian 3339 meter. Jenis tanaman pada hutan didominasi oleh pinus dan tanaman bawah tegakan yang diusahakan oleh masyarakat yaitu kopi, jahe, wortel, sawi dan jenis sayuran lainnya (BUA, 2018), Selain itu UB Forest memiliki biodiversitas yang tinggi yang belum banyak dimanfaatkan. Biodiversitas yang tinggi di UB Forest diduga berpotensi menyediakan mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap patogen tanaman dan dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman.

Penelitian tentang eksplorasi mikroba antagonis yang dapat mengendalikan penyakit tanaman paling banyak ditemukan di tanah dekat perakaran dan bagian akar tanaman karena pada daerah-daerah tersebut terdapat banyak mikroorganisme yang dapat dianalisa secara langsung atau dengan teknik isolasi. Mikroorganisme tersebut sebagian besar memiliki kemampuan memproduksi metabolit sekunder yang sesuai dan menguntungkan tanaman inangnya (Jasim *et al.,* 2014). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan eksplorasi bakteri rizosfer dan bakteri endofit yang didapatkan dari rizosfer tanaman jahe dan bagian akar tanaman jahe di UB Forest. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman jahe dan dapat dikembangkan menjadi alternatif pengendalian hayati yang berkelanjutan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat isolat bakteri yang berasal dari rizosfer maupun endofit akar tanaman jahe yang bersifat antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada jahe?
2. Bagaimana kemampuan daya hambat isolat bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar tanaman jahe dalam menghambat *Ralstonia solanacearum* pada tanaman jahe?
3. Bagaimana karakter bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe di UB *Forest* yang besifat antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum* pada tanaman jahe?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian diuraikan sebagai berikut :

1. Mengkaji keberadaan bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar dari tanaman jahe yang bersifat antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum*.
2. Mengkaji kemampuan daya hambat bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar yang menghambat *Ralstonia solanacearum*.
3. Mengetahui karakter bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar tanaman jahe di UB Forest yang bersifat antagonis terhadap *Rasltonia solanacearum.*

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini yaitu pada rizosfer dan endofit akar tanaman jahe di UB Forest terdapat isolat bakteri yang mampu menghambat bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada jahe.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu dapat menjadi solusi alternatif dalam mengendalikan dan menekan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman jahe yang efektif dan efisien.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Layu Bakteri disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* merupakan salah satu penyakit penting dan merupakan kendala utama dalam produksi tanaman jahe di banyak negara beriklim tropis dan sub tropis didunia. Di Indonesia, penyakit layu bakteri jahe ditemukan pada tahun 1971 di Kuningan, Jawa Barat kemudian menyebar ke daerah Jawa Barat, Jawa Tengah, Jambi, Lampung, Bengkulu, dan Sumatera Utara. Penyakit ini dapat menurunkan potensi hasil jahe sampai 90 % (Rahayuningsih *et al*., 2011). Bakteri patogen *R. solanacearum* ditemukan di seluruh dunia dan memiliki kisaran inang yang luas termasuk dalam ratusan spesies rentan dari sekitar 50 famili tumbuhan yang berbeda, sehingga sulit dikendalikan. Strategi pengelolaan konvensional seperti rotasi tanaman, penyesuaian waktu tanam, teknik budaya dan pengelolaan tanah masih belum efektif.

Bakteri *Ralstonia solanaceraum* merupakan bakteri yang menyebabkan layu pada beberapa tanaman khususnya famili solanaceae. Bakteri *Ralstonia Solanaceraum* memiliki kisaran inang yang banyak yang dibedakan menjadi 5 ras berdasarkan kepatogenannya terhadap inang utama. Berdasarkan Schaad *et al.*, (2001) bakteri *R. solanacearum* dibagi menjadi 5 ras berdasarkan kisaran inang : ras 1 menyerang tembakau, tomat, dan Solanaceae lainnya; ras 2 menyerang pisang (tripoloid) dan Heloconia; ras 3 menyerang kentang; ras 4 menyerang jahe, dan ras 5 menyerang murbei.

Menurut Agrios (2005) Klasifikasi bakteri *Ralstonia solacearum* termasuk kedalam kingdom Prokaryotae, divisi Gracilicutes, kelas proteobacteria, famili Pseudomonadaceae, genus Ralstonia dengan spesies *Ralstonia solanacearum*.

R. solanacearum berbentuk batang, bersifat gram negatif, aerob, tidak berspora, bergerak dengan satu flagel di kutub (monotrik), berukuran 0,5 – 0,7 x 1,5 – 2,0 µm. *R. solanacearum* dapat tumbuh pada tanah dengan pH 4 – 8,5 dengan suhu 13 – 37^{o}C. Pada medium TTC, koloni *R. solanacearum* yang virulen akan membentuk koloni yang luas, tidak beraturan, cembung, berlendir, warna putih susu dengan tengahnya berwarna merah muda, sedangkan yang tidak virulen atau kurang virulen koloninya berwana merah (Schaad *et al*., 2001).

Gejala khas penyakit layu bakteri pada jahe yang disebabkan oleh bakteri *R. solanacearum* yaitu daun menguning dan menggulung dimulai dari daun tua dan diikuti daun muda. Gejala daun menguning dimulai dari pinggir daun, kemudian menyebar ke seluruh helai daun. Tanaman akan layu, mengering dan mati. Proses kematian berlangsung cepat (Gambar 1a). Pada bagian pangkal batang. Terlihat cekung basah dan garis - garis hitam atau abu – abu sepanjang batang. Rimpang busuk berwarna kecoklatan jika dibelah dan berbau (Gambar 1b) dan batang mudah dicabut dari pangkalnya. Bila pangkal batang atau rimpang dipotong dan dipijit, akan ke luar eksudat/lendir berwarna putih susu. Penyakit berkembang paling cepat pada suhu 27 °C (Direktorat Perlindungan Hortikultura, 2018).

a b

Gambar 1. Gejala layu bakteri: (a) pada tanaman jahe (b) pada rimpang jahe (Hartati, 2012)

2.2 Bakteri Rizosfer

Rizosfer merupakan suatu zona lingkungan mikro yang berada di sekitar perakaran tanaman dan berperan sebagai pertahanan luar bagi tanaman terhadap serangan patogen akar. Secara teori, luasnya daerah rizosfer sangat dipengaruhi oleh seberapa luas daerah yang masih tercakup oleh pengaruh aktivitas perakaran tanaman beserta dengan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman tersebut. Daerah rizosfer dicirikan dengan aktivitas biologinya yang paling tinggi pada tanah. Pada daerah rizosfer terdapat sekitar 106-109 sel populasi bakteri, dan fungi sekitar 105 sampai dengan 106 per gram tanah rizosfer. Beberapa dari mikrobia rizobakteri yang telah digunakan sebagai inokulan antara lain *Agrobacterium tumefaciens*, *Alcaligenes* spp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas*

fluorescens, *Psuedomonas putida*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (Sylvia, 2005). Secara alami, di dalam tanah terdapat potensi mikroorganisme yang dapat menekan perkembangan patogen. Sebagian besar mikroorganisme antagonis hidup sebagai saprofit. Kemampuan mikroorganisme dalam beradaptasi terhadap berbagai keadaan lingkungan merupakan suatu potensi besar untuk digunakan sebagai agens pengendalian hayati.

Mikrobia dalam tanah (bakteri rizosfer) memiliki banyak peran penting di tanah terutama dalam daur unsur organik untuk kehidupan seperti penghasil hormon IAA. Hormon IAA adalah auksin endogen yang berperan dalam perkembangan akar, menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya absisi, serta berperan dalam pembentukan jaringan xylem dan floem (Silitonga *et al.*, 2008). Sukmadewi (2015) melaporkan, bakteri yang dieksplorasi dari rizosfer tanaman cengkeh memiliki potensi menghasilkan hormon IAA (Indole Acetic Acid) yang tinggi pada fase stasioner.

Bakteri rizosfer *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescen, pseudomonas putida* dilaporkan dapat bersifat antagonis terhadap bakteri *Rasltonia solanacearum* pada jahe (Bustaman, 2006). Beberapa bakteri rizosfer yang diisolasi dari rizosfer tanaman juga dilaporkan berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman ditunjukkan dengan kemampuan dalam menyediakan dan memobilisasi penyerapan berbagai unsur hara dalam tanah serta mensintesis dan mengubah konsentrasi berbagai fitohormon pemacu pertumbuhan tanaman. Bakteri rizosfer juga efektif selama masa hidup tanaman dan dan dapat menghasilkan senyawa tertentu yang berfungsi sebagai hormon tumbuh, penyedia dan memobilisasi unsur hara sehingga memberi manfaat ganda sebagai *biofertilizer* dan *bioprotecting* (Khaeruni *et al.*, 2010). Pada penelitian yang diakukan Situmorang *et al.,* (2015) melaporkan terdapat bakteri rizosfer dengan genus *Clostridium* sp. dan *Bacillus* sp. yang diisolasi dari rizosfer tanaman pisang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *R. solanacearum* phylotype 4 secara *in vitro*.

2.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit adalah bakteri yang mengkolonisasi jaringan internal tanaman dan tidak menimbulkan pengaruh yang merugikan bagi tanaman. Bakteri endofit sudah banyak dilaporkan berpotensi sebagai agens biokontrol untuk mengendalikan

beberapa jenis patogen seperti virus, fungi, bakteri, nematoda, dan beberapa serangga. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan vaskular tumbuhan tanpa menyebabkan efek negatif (Nursanty, 2012). Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti terkandung di dalam tumbuhan inangnya (Barbara *et al.*, 2006). Bakteri endofit dapat berasal dari biji, bahan vegetatif tanaman dan tanah rhizosfer maupun phylloplane. Pada umumnya bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman melalui stomata, lenti sel, luka (termasuk patahnya trikhom), area yang rentan pada perakaran tanaman, dan radikel perkecambahan, bakteri endofit tersebut mampu menghasilkan agensia biologis yang dapat memerangi penyakit tanaman, maka secara langsung tanaman akan terhindar dari serangan penyakit (Melliawati *et al.*, 2006).

Bakteri endofit saat ini menjadi perhatian para peneliti karena keberadaannya yang mempengaruhi mekanisme fisiologi tanaman. Terjadinya penyimpangan mekanisme fisiologi tanaman yang mengarah kepada peningkatan produksi metabolit sekunder tertentu berpeluang untuk mengarahkan produksi metabolit sekunder tertentu pada tanaman seperti tanaman obat (jahe) melalui bakteri endofit. Senyawa yang menginduksi metabolit sekunder, elisitor, dapat berupa polisakarida, oligosakarida, protein, glikoprotein dan asam lemak. Komponen tersebut salah satu diantaranya dapat berupa komponen dinding sel mikroorganisme (Zinnie *et al*., 2002). Bakteri endofit pada rimpang jahe merah menghasilkan senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, tanin, saponin, steroid dan flavonoid, senyawa golongan flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Triana *et al*., 2017). Kartikawati (2018) melaporkan bahwa terdapat 17 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman jahe merah dapat memacu pertumbuhan benih lada dengan cara dapat melarutkan p, memfiksasi N dan menghasilkan hormone *indole acetic acid* (IAA).

2.4 Kawasan UB *Forest*

UB *Forest* merupakan hutan pendidikan Universitas Brawijaya yang memiliki luas 554 hektar dikawasan lereng Gunung Arjuna, tepatnya di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo, Karangploso, Kabupaten Malang yang ditetapkan oleh Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan pada tanggal 19 September 2016

(BUA, 2018). Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus Universitas Brawijaya (KHDTK-UB) atau lebih dikenal dengan UB Forest merupakan salah satu contoh ekosistem hutan yang ada di Kabupaten Malang. Sejak tahun 1976, sebagian besar penggunaan lahan hutan telah dialihfungsikan menjadi lahan agroforestri dengan tanaman utama berupa pinus dan mahoni seluas 392,58 hektar sedangkan beberapa plot telah menjadi lahan pertanian seluas 81,42 hektar bagi penduduk setempat dan seluas 50 hektar masih berupa hutan lindung (Kusumawati, 2019)

Lokasi pengambilan sampel penelitian dilakukan di lahan jahe milik Bapak Mugito di Dusun Sumbersari Tawangargo, dimana secara geografis yang terletak pada titik koordinat 1120 35' 06''-1120 37' 53'' BT dan 70 55' 14''- 70 52' 27'' LS serta berada pada ketinggian di sekitar 1000-2000 meter di atas permukaan laut. Administrasi wilayah desa Tawangargo yaitu terletak pada kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur, dibatasi oleh wilayah desa serta hutan. Batas sebelah Utara adalah Perhutani, batas sebelah Barat adalah Desa Giripurno kecamatan Bumiaji Kota Batu, batas sebelah Selatan adalah desa Pendem Kecamatan Junrejo Kota Batu, dan batas sebelah Timur adalah Desa Donowarih Kecamatan Karangploso Kabupaten Malang. Luas lahan yang ada terbagi ke dalam beberapa peruntukan, yang dapat dikelompokkan seperti untuk fasilitas umum, pemukiman, pertanian, perkebunan, kegiatan ekonomi dan lain-lain. Wilayah di Desa Donowarih memiliki tanah yang cocok untuk lahan pertanian dan perkebunan (Diskominfo, 2016).

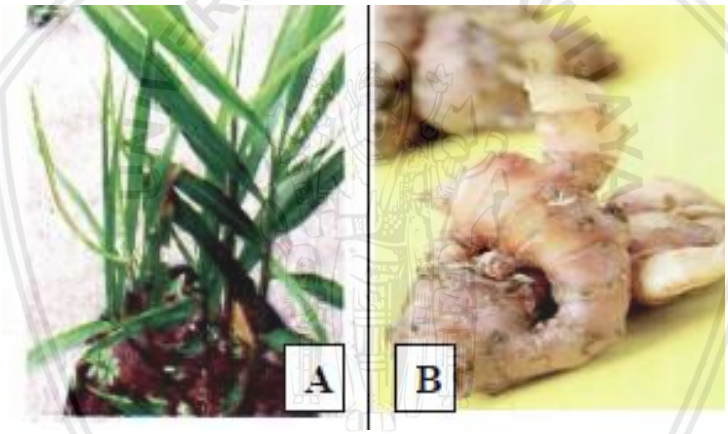
2.5 Tanaman Jahe (*Zingiber officinale)*

Tanaman jahe (*Zingiber officinale*) termasuk dalam keluarga tumbuhan berbunga (temu-temuan). Diantara jenis rimpang jahe, ada 2 jenis jahe yang telah dikenal secara umum, yaitu jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*). Tanaman ini sudah lama dikenal baik sebagai bumbu masak maupun untuk pengobatan. Rimpang dan batang tanaman jahe sejak tahun 1500 telah digunakan di dalam dunia pengobatan di beberapa negara di Asia (Gholib,2008).

Klasifikasi jahe berdasarkan USDA (2018) termasuk kedalam Kingdom Plantae dengan Subkingdom Tracheobionta, Superdivision Spermatophyta, Division Magnoliophyta, Class Liliopsida, Subclass Zingiberidae, Order

Zingiberales Family Zingiberaceae, Genus Zingiber Mill, Species *Zingiber officinale*

Jahe merupakan tanaman berbatang semu,tinggi 30 cm sampai dengan 1 m, tegak, tidak bercabang, tersusun atas lembaran pelepah daun, berbentuk bulat,berwarna hijau pucat dan warna pangkal batang kemerahan. Akar jahe berbentuk bulat, ramping, berserat, berwarna putih sampai coklat terang.Tanaman ini berbunga majemuk berupa malai muncul di permukaan tanah, berbentuk tongkat atau bulat telur yang sempit, dan sangat tajam (Wardana,2002). Tanaman jahe membentuk rimpang yang ukurannya tergantung pada jenisnya. Bentuk rimpang pada umumnya gemuk sedikit pipih dan tampak berbuku-buku (Gambar 2). Rimpang jahe Berkulit agak tebal yang membungkus daging rimpang, yang kulitnya mudah dikelupas.



Gambar 2. (a) Tanaman jahe, (b) Rimpang jahe (Wardana, 2002)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan November 2018 sampai dengan April 2019.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini antara lain timbangan analitik, autoklay type HL- 36 Ae Hirayama, kompor listrik, cawan petri diameter 9 cm, jarum ose, mikroskop kamera Olympus Szx7 series, kamera, Bunsen, tabung reaksi, pinset, botol media, gelas ukur, jarum suntik, gelas obyek, *cover glass*, *sprayer*, pipet tetes, gunting, *cutter*, stik L, mikropipet Vitlab dig 100- 1000 µL, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) type: H.S. 079S dan orbital *shaker.*

Bahan yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah tanah disekitar perakaran tanaman jahe dan bagian akar aktif tanaman jahe, Tanaman jahe yang terinfeksi *R. solanacearum*, Tanaman jahe sehat berumur 3 bulan, media *nutrient agar* (NA) dengan komposisi: 20 g/l NA dan 2 g/l agar, media *Triphenyl Tetrazolium Chloride* (TTC) dengan komposisi : 1 g/l pepton, 1 g/l casein hydrolisat, 18 g/l agar dan 10 ml/l larutan TTC, media *nutrient broth* (NB), media okidatif fermentatif (OF) dengan komposisi: 2 g/l pepton, 5 g/r NaCl, 0,3 g/l KH_2PO_4, 3 g/l agar, 2 gr/l glukosa dan 3 ml/l bromotil blue. media *yeast extract dextrose* (YDC) dengan komposisi: 10 g/l yeast extract, 20 g/l glukosa, 20 g/l $CaCO_3$ dan 15 g/l agar, akuades steril, NaOCL 3 %, alkohol 70 %, alkohol 96 %, spirtus, *tissue*, aluminium foil, plastik wrap, botol *sprayer*, pepton, agar, KOH 3%, H_2O_2, safranin, iodine, kristal violet, *malachite green*, *water agar*, tanaman tembakau, kertas saring dan kloroform.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari beberapa tahap dengan rincian sebagai berikut:

3.4.1 Isolasi Bakteri Patogen *Ralstonia solanacearum* dan Uji Patogenesitas

Bakteri *R. solanacearum* diisolasi dari jaringan batang tanaman jahe yang memperlihatkan gejala layu bakteri di lapang. Isolasi dilakukan dengan cara batang

tanaman jahe dipotong sepanjang 0,5 cm kemudian disterilkan menggunakan alkohol 70% dengan cara dicelupkan selama 15 detik lalu dilanjutkan dengan membilas akuades steril sebanyak 3 kali. Potongan batang kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 10 ml akuades steril dan dibiarkan beberapa menit sampai massa bakteri keluar dan larut dalam akuades steril. Massa bakteri dalam akuades steril kemudian dikocok selama 5 menit sampai homogen. Suspensi yang mengandung massa bakteri *R. solanacearum* kemudian digoreskan menggunakan jarum ose pada media selektif *Triphenil Tetrazolium Chlorida* (TTC) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (28 ^{0}C) (Sastrahidayat *et al.*, 2012). Isolat murni yang didapatkan pada media TTC kemudian diambil koloni tunggal yang berwarna merah muda bagian tengah dengan tepian berwarna putih dan diperbanyak pada media NA untuk pengujian selanjutnya.

Uji patogenitas dilakukan dengan menginokulasi tanaman jahe yang berumur 2-3 bulan menggunakan biakan murni *R. solanacearum* yang berumur 48 jam. Isolat *R. solanacearum* yang telah murni dipindahkan ke 125 mL media *nutrient broth* sebagai medium perbanyakan dan *dishaker* selama 2 hari. Selanjutnya suspensi diambil 50 mL, kemudian bagian akar tanaman jahe dilukai dan disiram dengan suspensi bakteri *R. solanacearum* (Syahid *et al.*, 2014). Perkembangan penyakit diamati hingga 1 minggu dan dicatat waktu gejala penyakit layu bakteri muncul. Pada uji patogenitas ini gejala yang timbul pada tanaman sehat harus sama dengan gejala awal yang diambil dari lapangan. Setelah tanaman jahe bergejala, diambil batang tanaman jahe tersebut dan dimasukkan kedalam gelas ukur yang beriisi akuades steril untuk melihat massa bakteri.

3.4.2 Eksplorasi dan Isolasi bakteri Rizosfer pada Tanaman Jahe

Bakteri rizosfer diperoleh dari sampel tanah yang diambil dari tanah dekat perakaran tanaman jahe di UB *Forest*. Sampel tanah diambil menggunakan cetok secara acak dengan kedalaman 5 cm-15 cm sebanyak 5 titik yang berbeda, kemudian dikompositkan (Nurrochman, 2015). Sebelum dilakukan isolasi, sampel tanah dimasukkan ke dalam *cool box*.

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat atau *dilution plate* pada sampel tanah rizosfer. Sampel tanah yang telah dihomogenkan diambil dan ditimbang sebanyak 1 gr dan dilarutkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9

mL akuades steril dan dikocok selama 10 menit. Suspensi diambil sebanyak 1 mL untuk dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-7}. Sebanyak 100 μL suspensi diambil dari pengenceran 10^{-3}, 10^{-5} dan 10^{-7} kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media *Nutrient Agar* (NA), serta diratakan dengan menggunakan *stick* L (Madigan dan Martinko, 2006). Biakan bakteri tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Setiap koloni bakteri yang tumbuh dilakukan purifikasi hingga mendapatkan koloni tunggal.

3.4.3 Eksplorasi dan Isolasi Bakteri Endofit pada Akar Tanaman jahe

Bakteri endofit diperoleh dari bagian akar aktif tanaman jahe di UB *Forest*. Metode sterilisasi yang digunakan yaitu metode *surface sterilization*. Sampel akar dicuci dengan air mengalir sampai bersih, dikeringkan dengan tisu dan ditimbang sebanyak 1 g. Sampel direndam dengan NaOCl 3 % selama 3 menit, kemudian sampel direndam dengan alkohol 70 % selama 1 menit, dan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali, sebagai kontrol air akuades steril yang terakhir diambil 100 μL dan ditumbuhkan dimedia NA untuk mengetahui apakah sampel akar endofit sudah steril dari bakteri lain. Sampel akar yang sudah disterilisasi digerus menggunakan mortar steril (Triana *et al*., 2017).

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat atau *dilution plate* pada sampel akar jahe. Sampel akar jahe yang telah digerus, dilarutkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril, dikocok selama 10 menit. Suspensi diambil sebanyak 1 mL untuk dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-5}. Dari setiap pengenceran diambil sebanyak 100 μL suspensi dan ditumbahkan ke dalam cawan petri berisi media *Nutrient Agar* (NA), serta diratakan dengan menggunakan *stick* L (Kartikawati *et al.,* 2018). Biakan bakteri tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Setiap koloni bakteri yang tumbuh dilakukan purifikasi hingga mendapatkan koloni tunggal.

3.4.4 Seleksi Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis Terhadap *R. solanacearum*

Seleksi awal dilakukan dengan menyeleksi bakteri yang ditemukan pada perakaran tanaman jahe dan pada bagian akar jahe dengan bakteri *Ralstonia solanaceraum* pada media NA. Pada pengujian antagonis terlebih dahulu biakan murni bakteri *Ralstonia solanaceraum* yang telah ditemukan hasil isolasi

sebelumnya diremajakan kembali sebelum digunakan, dengan cara mengkulturkannya pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam agar mendapatkan kultur muda dari *Ralstonia solanaceraum*. Selanjutnya pengujian antagonis bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar dilakukan dengan metode *spray* (pengkabutan) (Kawuguchi *et al*., 2008). Bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar yang telah dibiakkan selama 24 jam diambil dengan jarum ose dibuat suspensi dalam 1 mL akuades steril. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi bakteri antagonis ± 1 menit dan ditiriskan selama 2-5 jam. Kemudian kertas saring yang sudah kering ditanam ditengah-tengah media NA pada cawan Petri yang berdiameter 9 cm dan diinkubasi selama 1 hari. Setelah diinkubasi selama 1 hari bakteri antagonis dimatikan dengan pemberian uap kloroform, uap kloroform ditambahkan pada tutup biakan cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Setelah itu biakan dikabutkan (*spray*) dengan suspensi bakteri patogen *R. solanacearum*. Semua perlakuan tersebut dinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter daerah hambat, yaitu daerah zona bening yang dihasilkan oleh bakteri antagonis. Bakteri yang memiliki kemampuan menghambat yang besar dipilih untuk pengujian selanjutnya.

3.4.5 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui bakteri antagonis yang diuji bersifat patogen atau tidak terhadap tanaman. Uji akan dilakukan dengan menginokulasi bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar yang ditemukan pada tanaman tembakau. Pemilihan tanaman tembakau sebagai tanaman percobaan karena memiliki sifat yang rentan dan sensitif terhadap patogen daripada tanaman lain. Cara menginokulasi dengan cara melukai daun tanaman tembakau menggunakan bantuan jarum suntik aseptik kemudian menginfiltrasikan suspensi bakteri ke jaringan daun tanaman tembakau dengan spet tanpa jarum suntik. Suspensi yang digunakan berumur 1x24 jam. Pengamatan reaksi hipersensitif dilakukan 24 sampai 48 jam setelah inokulasi dan menginfiltrasikan akuades steril sebagai kontrol (Wick, 2010), Jika pada bagian yang diinokulasi terjadi gejala nekrosis, maka bakteri tergolong ke dalam jenis bakteri patogen terhadap tumbuhan.

3.4.6 Uji Penghambatan Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar terhadap Bakteri Patogen *Ralstonia solanacearum*.

Bakteri hasil seleksi diambil enam isolat bakteri dengan kemampuan antagonis terbaik terhadap bakteri patogen *Ralstonia solanacearum*, selajutnya dilakukan uji antagonisme menggunakan metode *spray* (pengkabutan) (Kawuguchi *et al*., 2008). Bakteri rizosfer maupun bakteri endofit akar yang telah dibiakkan selama 24 jam diambil dengan jarum ose dibuat suspensi dalam 1 mL akuades steril. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi bakteri antagonis ± 1 menit dan ditiriskan selama 2 – 5 jam. Kemudian kertas saring yang sudah kering ditanam ditengah-tengah media NA pada cawan Petri yang berdiameter 9 cm dan diinkubasi selama 1 hari. Setelah diinkubasi selama 1 hari bakteri antagonis dimatikan dengan pemberian uap kloroform, uap kloroform ditambahkan pada tutup biakan cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Setelah itu biakan dikabutkan (*spray*) dengan suspensi bakteri patogen *R. solanacearum*. Semua perlakuan tersebut dinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter daerah hambat, yaitu daerah zona bening yang dihasilkan oleh bakteri antagonis dengan penggaris.

Pengujian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan. Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam kemudian diukur zona hambat yang terbentuk dan didokumentasikan. Perlakukan yang diberikan yaitu :

1. Isolat bakteri rizosfer tanaman jahe terpilih kode R1.2 dan *R. solanacearum*
2. Isolat bakteri rizosfer tanaman jahe terpilih kode R10 dan *R. solanacearum*
3. Isolat bakteri rizosfer tanaman jahe terpilih kode R28 dan *R. solanacearum*
4. Isolat bakteri rizosfer tanaman jahe terpilih kode R2 dan *R. solanacearum*
5. Isolat bakteri endofit akar tanaman jahe terpilih kode E8 dan *R. solanacearum*
6. Isolat bakteri endofit akar tanaman jahe terpilih kode E2 dan *R. solanacearum*
7. Kontrol positif (Bakterisida dengan bahan aktif streptomisin sulfat dan *R. solanacearum*)

3.4.7 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis

Keseluruhan isolat bakteri hasil eksplorasi di UB *Forest* diidentifikasi lebih lanjut untuk mengetahui morfologi dan biokimianya. Karakterisasi morfologi koloni bakteri diamati dengan mikroskop stereo dan identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan Schaad *et al.,* (2001) (Gambar 3).

1) Uji Gram

a. KOH 3 %

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang didapatkan bersifat Gram negatif atau Gram positif. Satu lup bakteri diletakkan pada kaca preparat steril yang telah ditetesi KOH 3%. Suspensi bakteri pada kaca preparat ditarik-tarik secara cepat dengan jarum Ose dan berulang-ulang. Perlakukan KOH 3 % terhadap massa bakteri Gram negatif akan menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri dan melepas DNA yang merupakan komponen bersifat viscid atau seperti lendir. Bakteri dengan Gram negatif akan terlihat lendir pada saat jarum Ose diangkat, sedangkan bakteri Gram positif akan tetap encer.

b. Perwarnaan Gram

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan menggunakan jarum Ose dan diletakkan pada kaca preparat steril yang sebelumnya telah ditetesi akuades steril 1 tetes, dikeringanginkan diatas bunsen. Isolat ditetsi dengan larutan kristal violet 5 % sebanyak 2- 3 tetes didiamkan selama 1 menit lalu disemprotkan dengan alkohol 70 % diamkan 20 detik, dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Tahap terakhir yakni isolat ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 20 detik, dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya isolat diamati dengan mikroskop. Bakteri dengan Gram negatif akan menunjukkan sel berwarna merah, sedangkan bakteri Gram positif akan berwarna ungu.

2) Perwarnaan endospora

Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri antagonis membentuk spora atau tidak. Satu lup bakteri antagonis yang berumur 72 jam dibuat suspensi dengan akuades steril diatas gelas obyek. Kemudian dikeringanginkan dengan cara difiksasi diatas bunsen. Setelah suspensi bakteri mengering ditetesi dengan *malachite green* dan didiamkan selama 10 menit kemudian dicuci dengan

air mengalir dan dikeringanginkan diatas bunsen. Selanjutnya ditetesi dengan safranin dan dibiarkan selama 15 detik lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan diatas bunsen. Selanjutnya bakteri diamati dibawah mikroskop. Spora bakteri akan tampak berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif bakteri berwarna merah.

3) Uji Katalase

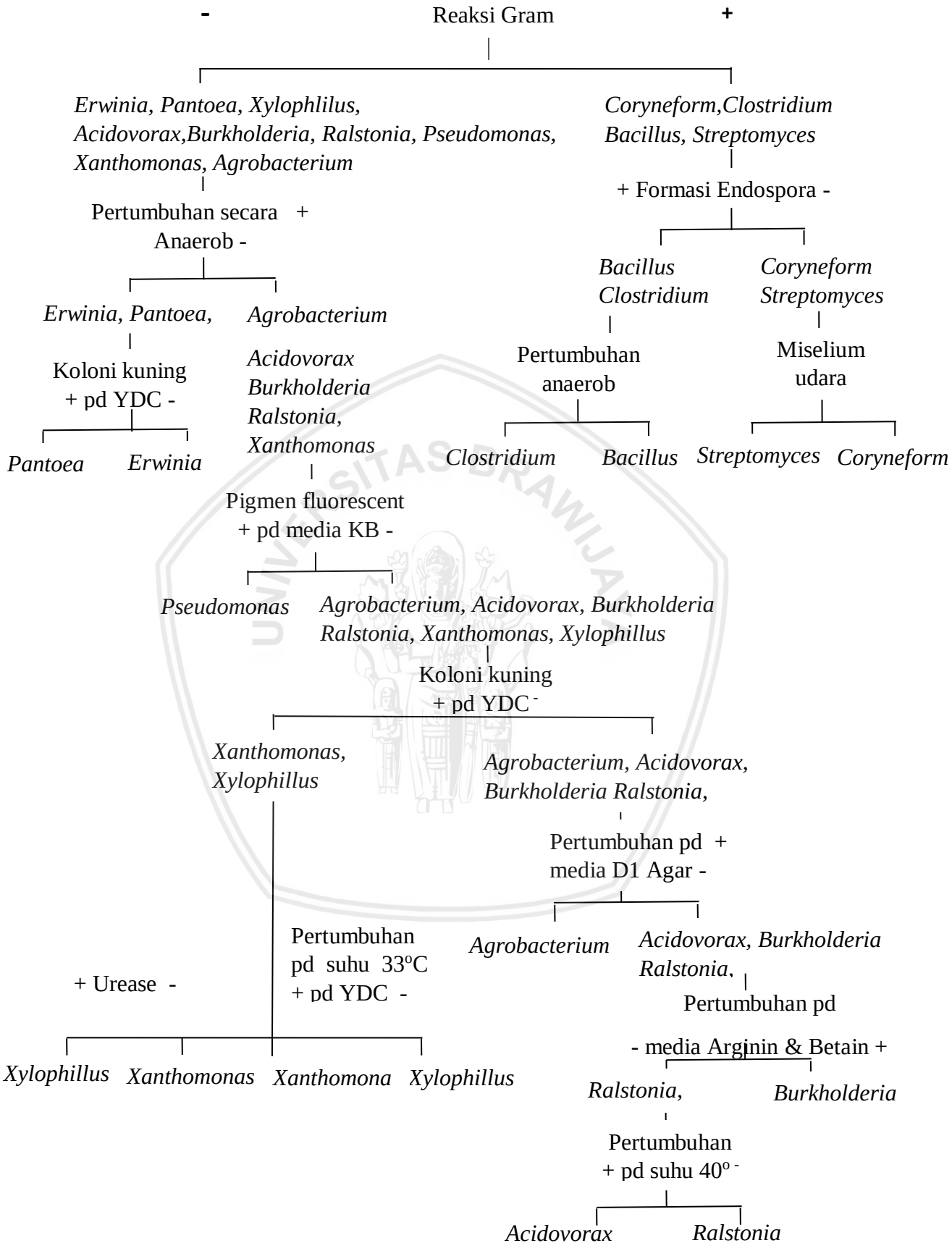
Bakteri yang berumur 24-48 jam dicampur dengan 1 tetes larutan H_2O_2 3% diatas kaca preparat. Hasil uji dapat diketahui dengan terbentuknya gelembung udara sehingga, reaksi tersebut menunjukkan reaksi positif. Pada reaksi negatif menunjukkan hasil yang sebaliknya yakni tidak menunjukkan gelembung.

4) Uji Oksidatif-Fermentatif

Uji ini dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri bersifat aerob atau anaerob. Pengujian ini dilakukan dengan cara menginokulasi bakteri dengan menusukkan pada 2 media dengan jarum Ose, yaitu media OF dengan penutup *water agar* dan pada media OF tanpa ditutupi *water agar*. Diinkubasi pada suhu ruang dan diamati perubahan warna yang terjadi dari biru menjadi kuning. Apabila pada media OF yang ditutupi *water agar* berubah warna maka perubahan tersebut menunjukkan reaksi fermentatif, sedangkan jika yang berubah terdapat pada tabung tanpa *water agar* maka menunjukkan reaksi oksidatif.

5) Pertumbuhan Pada Media YDC

Pengujian dilakukan untuk mengetahui bakteri masuk kedalam genus *Pantoea* dan *Erwinia* atau tidak, dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media selektif YDC. Jika bakteri uji yang ditumbuhkan bereaksi positif (berwarna kuning) setelah diikubasi maka bakteri termasuk pada genus *Pantoea*, sedangkan jika koloni bakteri yang tumbuh berwarna putih termasuk kedalam genus *Erwinia.*



Gambar 3**.** Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus (Schaad *et al.*, 2001)

3.4 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini merupakan data kuantitatif yaitu pengamatan zona hambat yang dihasilkan oleh isolat bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe yang bersifat antagonis, diamati sebanyak 3 kali dimulai dari 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Diameter zona hambat diukur dengan penggaris secara vertikal dan horizontal kemudian dihitung dengan rumus menurut Wuryandari *et al.,* (2008):

$$\text{Ukuran Zona Hambat} = \frac{\text{Dv} + \text{Dh}}{2}$$

Keterangan :

Dv : Dimeter zona bening vertikal

Dh : Diameter zona bening horizontal

3.5 Analisis Data Penelitian

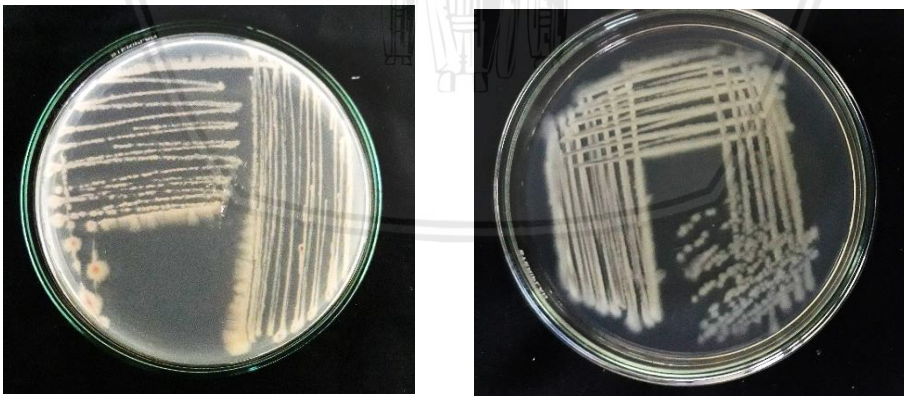
Hasil pengamatan dianalisa secara statistik menggunakan analisis ragam ANOVA dengan software GENSTAT dan apabila hasil menunjukkan hasil yang berbeda nyata akan diuji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kesalahan 5 %.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Morfologi Bakteri *Ralstonia solanacearum* dan Gejala layu Bakteri pada Jahe

4.1.1 Karakteristik Bakteri *R. solanacearum*

Bakteri *R. solanacearum* diperoleh dari tanaman jahe yang menunjukkan gejala layu bakteri yaitu tanaman terlihat daun menguning dari ujung kemudian daun menggulung dan lama kelamaan mati. Hasil isolasi yang diperoleh pada media TTC menunjukkan karakter koloni bakteri *R. solanacearum* berwarna merah pada bagian tengah koloni dengan tepian berwarna putih, bentuk tidak teratur dan berlendir (Gambar 4a). Berdasarkan karakter koloni tersebut dapat dikatahui bahwa isolat bakteri *R. solanacearum* yang didapatkan bersifat virulen. Menurut Kelman (1954) koloni bakteri *R. solanacearum* yang virulen dan yang avirulen pada media TTC mudah dibedakan dari pigmentasi tipe koloni. Koloni bakteri *R. solanacearum* yang virulen berwarna putih dengan warna merah pada bagian tengah koloni, cembung, bentuk tidak teratur dan permukaan berkilat, sedangkan untuk bakteri yang avirulen koloni bakteri berwarna merah tua. Dari hasil isolasi tersebut bakteri *R. solanacearum* yang didapat diperbanyak pada media NA (*Nutrient Agar)* sebagai bahan pengujian lebih lanjut (Gambar 4b).



a b

Gambar 4. Koloni bakteri patogen *R. Solanacearum* berumur 48 jam:
a. Media TZC, b. Media NA

4.1.2 Gejala Layu Bakteri Pada Tanaman Jahe

Tujuan dari uji patogenitas bakteri *R. solanacearum* pada tanaman jahe untuk mengetahui isolat bakteri yang didapatkan menunjukkan gejala layu bakteri pada tanaman jahe yang disebabkan oleh patogen *R. solanacearum*. Berdasarkan

pernyataan Fanani *et al.,* (2015) tujuan dari uji patogenitas adalah untuk membuktikan bahwa isolat yang didapatkan dapat menimbulkan gejala yang sama dengan gejala penyakit yang ditemukan di lapang sebelumnya. Uji patogenitas dilakukan pada tanaman jahe yang berumur 3 bulan di polibag (Gambar 5a) dengan menginokulasikan isolat bakteri *R.solanacearum* hasil isolasi. Gejala penyakit layu bakteri yang disebabkan *R. solanacearum* terlihat mulai hari ke- 6 setelah inokulasi. Gejala awal yang muncul yaitu daun tanaman jahe menguning dan menggulung di mulai dari pinggir (Gambar 5b) kemudian tanaman akan layu keseluruhan, mengering dan mati (Lampiran 9).

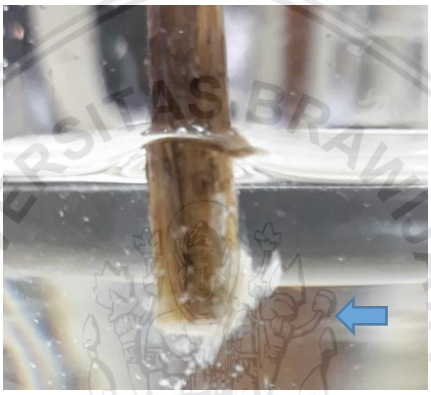
a b

Gambar 5. Gejala layu bakteri oleh R. solanacearum pada tanaman jahe: a. kontrol tanaman sehat, b. tanaman bergejala layu bakteri pada 6 hari setelah inokulasi

Hasil dari uji patogenitas memperlihatkan gejala yang sama dengan gejala penyakit layu bakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Hartati (2012) bahwa gejala khas penyakit layu bakteri pada jahe yang disebabkan oleh bakteri *R.solanacearum* yaitu daun menguning dan menggulung dimulai dari daun tua dan diikuti daun muda. Gejala daun menguning dimulai dari pinggir daun, kemudian menyebar ke seluruh helai daun tanaman akan layu, mengering, dan mati, proses kematian berlangsung sangat cepat. Nasrun *et al.*, (2007) menambahkan, isolat bakteri yang paling virulen ditentukan berdasarkan kecepatannya dalam

menimbulkan gejala penyakit layu, semakin cepat menimbulkan gejala layu maka isolat mempunyai virulensi tinggi

Tanaman jahe hasil uji patogenisitas kemudian dipotong sedikit pada bagian pangkal batang dan dimasukkan ke dalam air. Hasilnya terdapat adanya lendir berwarna putih keruh yang merupakan masa bakteri *R. solanacearum* (Gambar 6). Menurut Champoiseau *et al.,* (2009) gejala layu bakteri *R. solanacearum* dapat dilihat pada batang menunjukkan lendir yang merupakan massa bakteri dan saat dicelupkan ke dalam air, lendir akan mengeluarkan seperti asap yang menunjukkan massa bakteri.



Gambar 6. Lendir putih yang merupakan massa bakteri *R. solanacearum*

4.2 Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe serta Potensinya untuk menghambat R. solanacearum

Eksplorasi dilakukan pada rizosfer dan endofit pada akar tanaman jahe di UB *Forest* sebanyak 4 ulangan. Hasil ekplorasi pada rizosfer dan endofit akar tanaman jahe didapatkan 45 isolat bakteri dengan karakteristik morfologi yang berbeda (lampiran 2), bakteri rizosfer dari tanaman jahe sebanyak 28 isolat dengan kode R dan bakteri endofit akar sebanyak 17 isolat dengan kode E. Keragaman mikroorganisme tanah dipengaruhi oleh adanya interaksi antara tanaman dan lingkungan. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme tanah yang paling dominan dan mungkin meliputi separuh dari biomassa mikroba dalam tanah (Sari, 2018).

Berdasarkan hasil eksplorasi tersebut isolat bakteri rizosfer yang didapatkan lebih banyak dibandingkan isolat bakteri endofit akar. Menurut Rosas *et al.,* (2009) populasi mikroorganisme di rizosfer lebih banyak dan beragam dibandingkan pada tanah bukan rizosfer. Mikroba tanah akan berkumpul di dekat perakaran tanaman

(rizosfer) yang menghasilkan eksudat akar dan serpihan tudung akar sebagai sumber makanan mikroba tanah. Eksudat akar memiliki pengaruh kualitatif dan kuantitatif terhadap mikroflora rizosfer (Lugtenberg *et al.,* 1999). Menurut Jha *et al.* (2013) koloni bakteri endofit perakaran terjadi secara interseluler dan intraseluler, sebagian besar kolonisasi bakteri secara interseluler menyebabkan pengambilan nutrisi terutama karbon oleh bakteri. Sebagian bakteri endofit mampu melakukan penetrasi ke dalam akar sampai pada stele, parenkim dan xylem. Mamota (2012) menyatakan bahwa nikroba endofit sebagian besar berhasil diisolasi dari rizosfer dan filosfer dalam satu jaringan tanaman dan hasilnya bisa ditemukan beberapa jenis mikroba endofit. Hasil eksplorasi bakteri rizosfer dan bakteri endofit yang didapatkan, kemudian diseleksi untuk mengetahui potensi penghambatan terhadap bakteri patogen *R. solanacearum* (Tabel 1).

Tabel 1. Zona bening 45 isolat bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe dengan *R. solanasearum* setelah 24 jam inokulasi

Kode Isolat	Zona Bening (cm)	Kode Isolat	Zona Bening (cm)
E 1	0,00	R 8	1,25
E 2*	2,85	R 9	0,00
E 3	0,00	R 10*	2,50
E 4	0,00	R 11	0,00
E 5	0,00	R 12	0,00
E 6	1,00	R 13	0,00
E 7	0,00	R 14	0,00
E 8*	2,30	R 15	0,00
E 9	0,00	R 16	0,00
E 10	0,00	R 17	0.00
E 11	0,00	R 18	0,00
E 12	0,00	R 19	0,00
E 13	0,00	R 20	1,90
E 14	0,00	R 21	0,00
E 15	0,00	R 22	0,00
E 16	0,00	R 23	0.00
R 1	0,00	R 24	0,00
R 1.2*	2,30	R 25	0,00
R 2*	3,00	R 26	0,00
R 3	0,00	R 27	0,00
R 4	0,00	R 28*	3,40
R 5	0,00		
R 6	0,00		
R 7	1,00		

Keterangan: R: Rizosfer, E: Endofit, (*): Isolat yang digunakan pengujian selanjutnya

Seleksi dilakukan dengan cara uji antagonis bakteri dalam cawan petri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Hasil seleksi 45 isolat bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe diperoleh 10 isolat yang bersifat antagonis (Tabel 1). Sifat Antagonis ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk diantara bakteri rizosfer ataupun bakteri endofit dan bakteri patogen R. solanacearum. Peubah yang diamati adanya zona bening yang terlihat setelah 24 jam, 48 dan 72 jam setelah inokulasi dan dihitung menggunakan rumus menurut Wuryandari et al., (2008). Sepuluh isolat bakteri yang bersifat antagonis kemudian dipilih 6 isolat bakteri tertinggi berdasarkan diameter zona beningnya. Enam isolat bakteri tersebut selanjutnya akan dilakukan pengujian berikutnya. Enam isolat bakteri yaitu R1.2, R10, E2, R28, E8, R2.

4.3 Reaksi Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang digunakan bersifat patogenik atau nonpatogenik terhadap tanaman. Uji hipersentif dilakukan dengan cara menginokulasikan 6 isolat bakteri terpilih pada daun tembakau, pengamatan uji hipersensitif dilakukan selama 24 sampai 48 jam.

Hasil uji hipersensitif dari isolat R1.2, R10, R 28, R2, E8 dan E2 yaitu tidak menimbulkan gejala nekrotik di sekitar area yang sudah diinokulasi bakteri (Lampiran 10), sedangkan sebagai kontrol positif bakteri patogen R. solanacearum menimbulkan gejala nekrotik disekitar area yang sudah diinokulasi bakteri (Gambar 7). Menurut Hidayah et al., (2015) reaksi hipersensitif menunjukan interaksi yang tidak cocok antara patogen dengan tanaman, karena respon pertahanan yang kuat dari tanaman. Tembakau merespon reaksi hipersensitif dengan membentuk nekrotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri ke sel lain yang tidak terinfeksi. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa 6 isolat bakteri tersebut tidak bersifat patogenik terhadap tanaman.

a b c

Gambar 7. Gejala hipersensitif isolat bakteri pada daun tembakau pada pengamatan 48 jam: a. Isolat E8; b. kontrol *R. solanacearum*; c. kontrol akuades

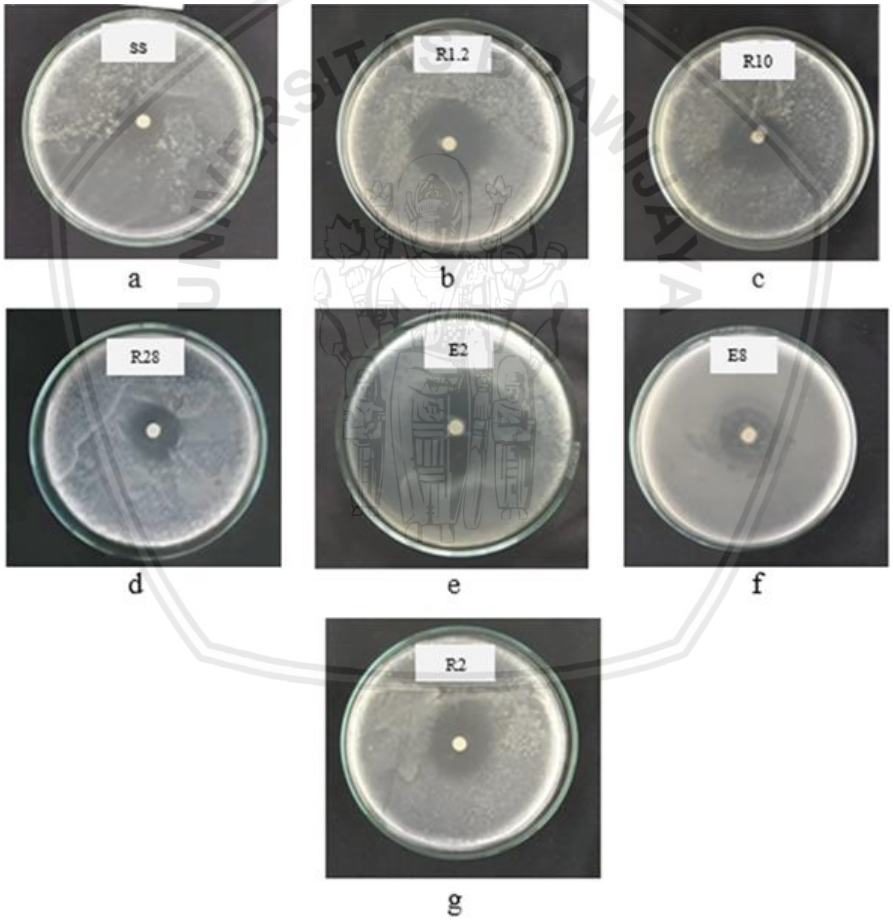
4.4 Zona Hambat Bakteri Rizosfer dan Bakteri Endofit Akar Tanaman Jahe terhadap Bakteri *R. solanacearum*

Enam bakteri antagonis terpilih yaitu isolat R 1.2, R10, R28, R2, E8 dan E2 digunakan sebagai perlakuan uji penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* menggunakan RAL dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan. Penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum* dapat diketahui dari nilai zona hambat yang dihasilkan oleh masing masing bakteri antagonis selama pengamatan. Hasil uji penghambatan 6 isolat bakteri antagonis tersebut mampu menghasilkan zona hambat yang ditunjukkan adanya zona bening disekitar bakteri antagonis dan bakteri *R. solanacearum* (Gambar 8).

Adanya zona bening disekitar kertas saring mengindikasikan terdapat aktifitas penghambatan yang dihasilkan oleh bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe berupa antibiosis terhadap R. solanacearum. Menurut Djatmiko et al., (2007) zona hambatan pada uji antagonisme terhadap R. solanacearum mempunyai mekanisme penekanan secara antibiosis sebagai bakteriostatik.

Zona bening yang dihasilkan pada setiap perlakuan disebabkan oleh zat antibakteri yang dikeluarkan oleh bakteri. Menurut Tasnim et al., (2011) dengan adanya dugaan bakteri antagonis mampu menghasilkan antibakteri maka mekanisme terpenting dari kerja antibakteri terhadap sel bakteri adalah menghambat sintesis protein dan asam nukleat oleh bakteri. Selain mekanisme tersebut aktivitas antibakteri juga meliputi perusakan, perubahan dan penghambatan pembentukan dinding sel, perubahan permeabilitas sel target dan penghambatan kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri. Senyawa

antibiotik yang terdapat pada tanaman jahe pada mekanisme antibiosis dapat berupa metabolit sekunder terdiri dari golongan fenol, flafonoid, terpenoid, minyak atsiri dan diduga merupakan golongan senyawa metabolit sekunder bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan mikroba perusak pangan (Purwati, 2011). Salah satu senyawa metabolit sekunder yaitu flavanoid, flafanoid terdapat pada bagian vegetatif maupun bunga. Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Akhirnya terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Fuadati, 2015).



Gambar 8. Zona hambat yang dihasilkan setiap perlakuan dalam menghambat pertumbuhan patogen *R. solanacearum* setalah 48 jam inokulasi. (a) Streptomisin sulfat; (b) Isolat R1.2; (c) isolat R10; (d) isolat R28; (e) Isolat R2; (f) isolat R2; (g) isolat E2

Berdasarkan hasil analisis ragam diketahui perlakuan 6 isolat bakteri antagonis rizosfer dan endofit akar tanaman jahe menunjukkan zona hambat yang

berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan *R.solanacearum* (Tabel lampiran 1), tetapi tidak terdapat perbedaan yang nyata antar beberapa perlakukan bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*. Perubahan nilai rerata zona bening oleh bakteri antagonis pada 24 JSI, 48 JSI dan 72 JSI tidak menunjukkan perubahan yang signifikan, terdapat juga nilai rerata zona bening yang cenderung tetap (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata zona bening yang dihasilkan setiap perlakuan pada 24-72 JSI

Perlakuan	**Rerata zona bening (cm) pada pengamatan ke-**		
	24 JSI ± SD	**48 JSI ± SD**	**72 JSI ± SD**
Streptomisin sulfat	1,61 ± 0,87a	1,61 ± 0,87a	1,61 ± 0,87a
Isolat E2	2,70 ± 0,37bc	2,70 ± 0,37bc	2,64 ± 0,42bc
Isolat E8	2,64 ± 0,65bc	2,55 ± 0,68abc	2,55 ± 0,68abc
Isolat R1.2	3,00 ± 0,42bc	2,95 ± 0,42bc	2,95 ± 0,42bc
Isolat R2	3,46 ± 0,25c	3,43 ± 0,23c	3,40 ± 0,19c
Isolat R10	2,88 ± 0,48bc	2,85 ± 0,47bc	2,79 ± 0,41bc
Isolat R28	2,41 ± 0,53ab	2,38 ± 0,54ab	2,33 ± 0,56ab

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. SD: Standar Deviasi. JSI: jam setelah inokulasi

Hasil uji lanjut DMRT pada 24 JSI, 48 JSI dan 72 JSI menunjukkan bahwa isolat bakteri E 2, R 2, R 1.2 dan R 10 memiliki nilai rerata zona bening yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol bakterisida streptomisin sulfat, sehingga keempat bakteri antagonis tersebut memiliki kemampuan menghambat *R. solanacearum* lebih baik dari perlakuan bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat. Sedangkan isolat E8 dan R28 memiliki nilai rerata zona bening yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol bakterisida streptomisin sulfat. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat E8 dan R28 memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum.* Bakterisida streptomisin memiliki kemampuan yang cukup baik dalam merusak membran sel dan menghambat sintesis protein sehingga mampu menekan perkembangan patogen *R. solanacearum.* Widiastuti *et al.*, (2011) menambahkan streptomisin sulfat digunakan untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan jamur pada buah-buahan tertentu, sayur sayuran, biji bijian dan tanaman hias. Streptomisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida dan bersifat bakterisidal yang dapat menghambat sintesis protein dengan cara berikatan dengan subunit 30S ribosom (Ocampo *et al.*, 2014). Hal tersebut membuktikan selama

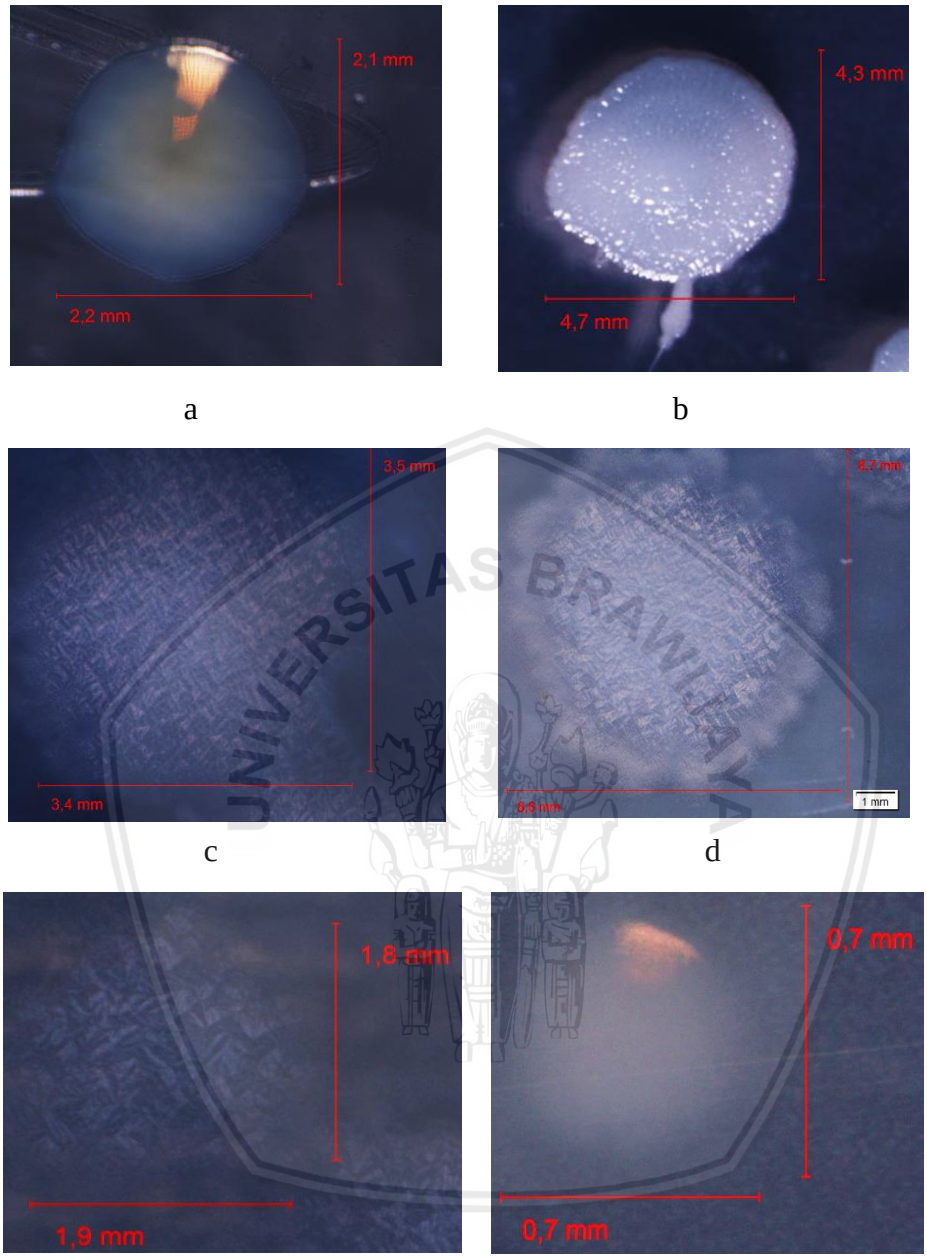
waktu pengamatan 24 JSI, 48 JSI dan 72 JSI isolat yang memiliki nilai rerata zona bening yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* yaitu isolat E2, R1.2, R2, dan R 10 dibandingkan dengan isolat E8 dan R28.

4.5 Karakteristik Morfologi dan Genus Bakteri Antagonis

4.5.1 Karakterisasi Morfologi

Pengamatan karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah lolos seleksi. Karakterisasi morfologi 6 bakteri antagonis dilakukan dengan mengamati koloni tunggal dari masing-masing bakteri dibawah mikroskop stereo. Hasil dari karakterisasi morfologi 6 bakteri antagonis, bentuk yang didapatkan keseluruhan bulat, tetapi dengan elevasi, warna, tepi koloni dan ukuran koloni yang berbeda-beda (Gambar 9). Isolat bakteri R2 memiliki ukuran koloni sebesar 2,1 mm×2,2 mm, isolat bakteri R28 memiliki ukuran koloni sebesar 4,3 mm ×4,7 mm, isolat R1.2 memiliki ukuran koloni 3,4 mm×3,5 mm, isolat bakteri E8 memiliki ukuran koloni sebesar 8,7 mm×8,6 mm, isolat bakteri E2 memiliki ukuran koloni sebesar 1,8 mm×1,7 mm dan isolat bakteri R10 memiliki ukuran koloni sebesar 1,8 mm×1,9 mm.

Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media yang sama dapat menunjukkan penampakan makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya. Perbedaan ini disebut dengan karakteristik kultur, yang digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroorganisme dalam kelompok taksonomik. Isolat bakteri ini diamati morfologi koloni dengan melihat bentuk koloni, warna, tepian dan elevasi (Sabdaningsih, 2013). Morfologi koloni isolat bakteri yang ditemukan pada penelitian ini sesuai dengan pernyataan Cappucino and Sherman (1987) bahwa pada umumnya bentuk koloni bakteri berbentuk *circular, irregular, filamentous, rhizoid*. Elevasi berbentuk *raised, convex, flat, umbonate, crateriform*. Tepian yang berbentuk *entire, undulate, filiform, curled dan lobate.* Hasil karakteristik morfologi dari 6 bakteri antagonis lebih lengkapnya disajikan pada Tabel 3.



a b

c d

e f

Gambar 9. Karakteristik morfologi koloni tunggal bakteri antagonis pada masa inkubasi 48 jam: (a) R2; (b) R28; (c) R1.2; (d) E8; (e) E2; (f) R10

repository.ub.ac.id

Tabel 3. Karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri antagonis

Isolat	Karakteristik morfologi				Karakteristik fisiologi dan biokimia						Genus
	Bentuk	**Elevasi**	**Warna**	**Tepi**	**Bentuk sel**	**Perwarnaan Gram**	**Uji KOH 3%**	**Perwarnaan Spora**	**Uji OF**	**Media YDC**	
R1.2	Bulat	Rata	Putih	Bergerigi	Batang	Merah	Berlendir	TU	Fermentatif	Kuning	*Pantoea* sp.
R28	Bulat	Rata	Putih pekat	Rata	Batang	Ungu	Tidak berlendir	Berspora	Fermentatif	TU	*Clostridium* sp.
R10	Bulat	Cembung	Kuning bening	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	Fermentatif	Kuning	*Pantoea* sp.
R2	Bulat	Cembung	Kuning bening	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	Fermentatif	Kuning	*Pantoea* sp.
E2	Bulat	Rata	Putih	Bergerigi	Batang	Merah	Berlendir	TU	Fermentatif	Kuning	*Pantoea* sp.
E8	Bulat	Rata	Putih	Bergerigi	Batang	Merah	Berlendir		Fermentatif	Kuning	*Pantoea* sp.

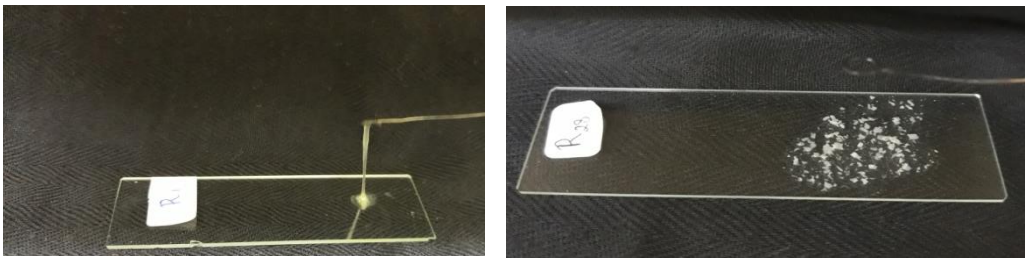
Keterangan: (TU) : Tidak diuji

4.5.2 Karakterisasi Fisiologis dan Biokimia

Karakterisasi fisiologis dan biokimia bertujuan untuk menentukan genus dari enam isolat bakteri antagonis yang digunakan. Tahapan identifikasi dilakukan berdasarkan Schaad *et al.,* (2001). Beberapa tahapan uji yang dilakukan meliputi: uji Gram yang terdiri dari uji KOH 3% dan perwarnaan Gram, Uji produksi endospora, uji katalase, uji oksidatif dan fermentatif dan uji pertumbuhan pada media YDC.

1) Uji KOH

Hasil uji KOH 3% pada 6 isolat bakteri antagonis menunjukkan 5 isolat bakteri bersifat Gram negatif dan 1 isolat bakteri bersifat Gram positif. 5 bakteri Gram negatif yaitu isolat R2, R1.2, R10, E8 dan E2 menununjukkan adanya lendir pada saat jarum ose diangkat (Gambar 10a). 1 bakteri Gram positif yaitu isolat R28 tidak menunjukkan lendir saat jarum ose diangkat (Gambar 10b). Hasil tersebut sesuai dengan Schaad *et al.,* (2001) bahwa dalam uji KOH 3% bakteri Gram negatif tampak berlendir dan lengket pada saat jarum ose diangkat, sedangkan bakteri Gram positif tidak mengeluarkan lendir pada saat jarum ose diangkat. Bakteri Gram negatif memliki dinding sel tipis yang berada di ruang periplasma dan berlemak tebal, KOH merupakan basa kuat yang akan bereaksi dengan lipid pada dinding sel, sehingga dinding sel bakteri pecah, khususnya bakteri Gram negatif. Pecahnya sel bakteri tersebut melepaskan materi genetic (DNA). Molekul DNA bakteri sangat panjang dan bersifat (*Sticky strings)* yang memberikan hasil seperti lendir saat diangkat dengan jarum ose. Sedangkan bakteri Gram positif tidak akan membentuk lendir pada kaca objek setelah dicampur KOH 3% hal ini dikarenakan bakteri memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal (Edwin, 2011).

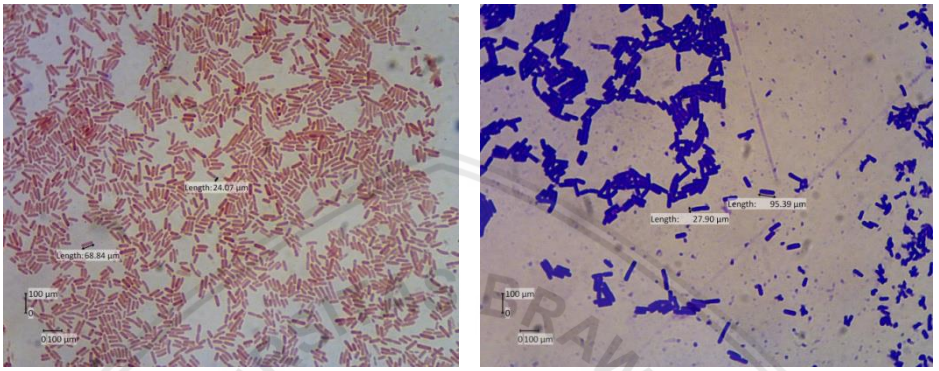


a b

Gambar 10. Reaksi Pengujian KOH 3%: (a)Isolat R10 berlendir; (b)Isolat R28 tidak berlendir

2) Uji Perwarnaan Gram

Perwarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui warna sel dan bentuk sel bakteri. Hasil uji perwarnaan Gram menunjukkan bahwa warna sel 5 isolat bakteri antagonis berwarna merah dengan bentuk sel batang (Gambar 11a). Satu isolat bakteri antagonis menunjukkan warna sel biru dengan bentuk sel batang (Gambar 11b).



a b

Gambar 11. Warna dan bentuk sel bakteri pada uji pewarnan Gram (a) Isolat E8; (b) Isolat R28

Bakteri Gram negatif berwarna merah karena zat warna kristal violet larut pada saat pemberian alkohol dan pada akhirnya berubah menjadi warna merah setelah pemberian parafin, sedangkan bakteri Gram positif berwarna ungu karena warna Kristal violet tetap dipertahankan meskipun telah diberi larutan pemucat (alkohol). Perbedaan hasil dalam perwarnaan tersebut disebabkan oleh perbedaan struktur kedua kelompok bakteri. Menurut Hidayat *et al.*, (2012) adanya perbedan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif menyebabkan reaksi dalam penyerapan zat warna. Sebagian besar dinding sel bakteri bakteri positif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang tinggi dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif. Lipid dapat larut dalam alkohol sehingga pori-pori dinding sel membesar dan meningkatkan daya larut zat warna ungu pada dinding sel bakteri Gram negatif ketika pemberian Kristal violet. Penambahan safranin pada tahap akhir inilah yang menyebabkan sel bakteri Gram negatif berwarna merah, karena zat warna Kristal violet terlarut oleh pemberian alkohol yang kemudian dinding sel mengikat zat warna kedua. Pada bakteri Gram positif, penambahan safranin tidak menyebabkan perubahan warna karena zat warna kristal violet tetap terikat pada dinding sel.

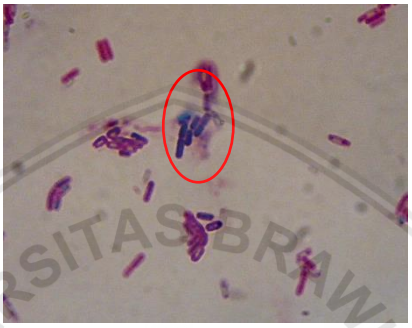
3) Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri yang diuji. Berdasarkan hasil yang telah dilakukan, 6 isolat bakteri antagonis menunjukkan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung setelah ditetesi H_2O_2 (Gambar 12). Hal tersebut menunjukkan bahwa 6 isolat bakteri antagonis menghasilkan enzim katalase. Katalase merupakan salah satu enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Menurut Fariani *et al.*, (2010) Bakteri katalase negatif tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H_2O_2, sedangkan bakteri katalase positif mengahasilkan enzim katalase yang dapat menguraikan H_2O_2. Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2. Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkan sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktifitas katalase tersebut adanya gelembung-gelembung oksigen.

Gambar 12. Gelembung isolat bakteri R2 pada reaksi positif uji katalase

4) Uji Perwarnaan Endospora

Isolat bakteri R28 merupakan bakteri Gram positif setelah dilakukan uji Gram, sesuai pedoman Schaad *et al.*, (2001) dilanjutkan uji perwarnaan endospora. Uji perwarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri R28 menghasilkan spora atau tidak. Berdasarkan hasil yang telah dilakukan, isolat R28 menunjukkan warna hijau yang mengindikasikan bahwa bakteri tersebut memiliki endospora (Gambar 13).

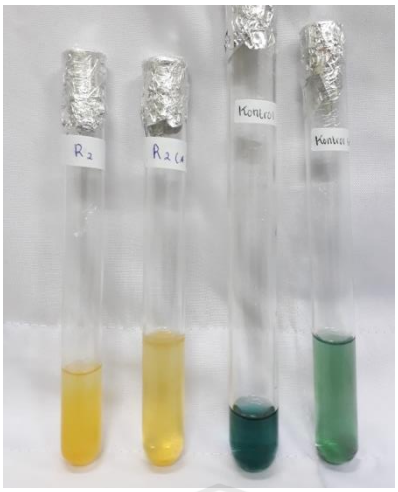


Gambar 13. Endospora isolat bakteri R28

Bakteri yang mampu menghasilkan spora mampu mengikat kuat senyawa perwarna yang diberikan dan ketika pemberian safranin sel yang terdapat pada spora tidak mampu berikatan dengan baik dengan reagen yang lainnya. Sel yang semakin tua menyebabkan sel vegetatif akan pecah sehingga endospora akan terlepas dari sel dan membentuk spora bebas. Zat warna yang paling sering digunakan untuk mewarnai spora yaitu *malachite green* yang akan tetap diikat oleh spora bakteri setelah pencucian dengan air dan penetesan dengan safranin. Endospora yang masih terdapat di dalam sel vegetatif maupun spora bebas akan berwarna hijau-biru, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah sampai merah muda (Muharni *et al.*, 2011).

5) Uji Oksidatif-Fermentatif

Uji oksidatif fermentatif bertujuan untuk menentukan 6 isolat bakteri antagonis termasuk kedalam kategori bakteri aerob atau bakteri anaerob. Menurut Schaad *et al.,* (2001) apabila perubahan warna media menjadi kuning pada tabung yang tidak diberi *water agar* tetapi tidak berubah pada tabung yang diberi *water agar*, menunjukan metabolisme oksidatif dari glukosa. Perubahan warna media menjadi kuning terjadi pada kedua tabung, menunjukan metabolisme fermentatif.



a b c d

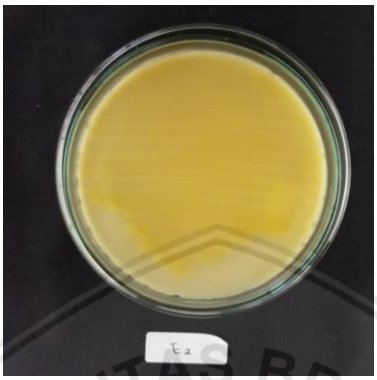
Gambar 14. Metabolisme fermentatif isolat bakteri R2 pada media OF (a) isolat R2 tanpa ditutup parafin; (b) isolat R2 ditutup parafin; (c) kontrol media OF tanpa ditutup parafin; (d) kontrol media OF ditutup parafin

Hasil uji okidatif fermentatif pada isolat bakteri R2, R1.2, R10, R28, E2 dan E8 menunjukkan bakteri termasuk bakteri yang bersifat fermentatif (Gambar 14). Pada media OF yang telah dimasukkan bakteri antagonis terjadi perubahan warna biru menjadi kuning pada media OF yang tanpa *water agar* (kondisi aerob) atau pada media OF yang diberi *water agar* (kondisi anaerob). Sedangkan pada media OF perlakuan kontrol tidak terjadi perubahan warna, tetap berwarna biru. Menurut Petczar *et al.*, (2010) Bakteri aerob membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan dan metabolisme dan tidak bisa tumbuh pada keadaan anaerob (misalnya : ditutupnya dengan *water agar*) Bakteri aerob yang terdapat pada media OF tanpa ditutupin parafin memiliki kemampuan memecah karbohidrat (glukosa) dalam suasana aerob sehingga media OF berubah menjadi kuning, sedangkan bakteri aerob yang terdapat pada media OF yang ditutupi *water agar* tidak mampu memecah karbohidrat (glukosa) dalam suasana anaerob sehingga media OF tetap berwarna biru

6) Pertumbuhan Pada Media Yeast Dextrose Carbonate (YDC)

Media YDC merupakan media yang digunakan untuk membedakan genus *Pantoea* sp. dengan *Erwinia* sp. Berdasarkan Schaad *et al.*, (2001) pegujian pada media YDC dikatakan positif apabila bakteri yang ditumbuhkan pada media YDC koloni bakteri berwarna kuning dan termasuk kedalam genus *Pantoea* sp. sedangkan jika koloni bakteri yang ditumbuhkan berwarna putih dikatakan reaksinya negatif dan termasuk ke dalam genus *Erwinia* sp. Berdasarkan hasil

pengujian isolat R2, R1.2, R10, E2 dan E8 menunjukkan reaksi positif yaitu pertumbuhan koloni berwarna kuning pada media YDC sehingga dapat diketahui bahwa 5 isolat bakteri antagonis tersebut termasuk ke dalam genus *Pantoea* sp. (Gambar 15).



Gambar 15. Warna kuning koloni isolat bakteri E2 pada media YDC

4.5.3 Identifikasi Bakteri Antagonis Hasil Seleksi

Enam isolat bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* selanjutnya diidentifikasi dengan tahapan menurut Schaad *et al*., (2001) sebagai berikut:

a. Genus *Pantoea* sp.

Lima isolat bakteri antagonis yaitu isolat E2, E8, R 1.2, R 2 dan R 10 termasuk kedalam genus yang sama *Pantoea* sp. Kelima isolat tersebut memiliki karakteristik yang berbeda-beda sebagai berikut: isolat bakteri E 2 memiliki bentuk koloni bulat dengan elevasi rata, warna putih dan tepi koloni bergerigi, isolat bakteri E 8 memiliki bentuk koloni bulat dengan elevasi rata, warna putih dan tepi koloni bergerigi, isolat bakteri R 1.2 memiliki bentuk koloni bulat dengan elevasi rata, warna koloni putih dan tepi koloni bergerigi, isolat R 2 memiliki bentuk koloni bulat dengan elevasi cembung, warna koloni kuning bening dan tepi koloni rata dan isolat bakteri R 10 memiliki bentuk koloni bulat dengan elevasi cembung, warna koloni kuning bening dan tepi koloni rata.

Hasil uji fisiologis dan biokimia diketahui isolat E2, E8, R1.2, R 2dan R10 termasuk kedalam golongan bakteri Gram negatif yang dicirikan bakteri menghasilkan lendir pada saat uji KOH 3% dan sel berwarna merah pada saat pewarnaan Gram. Lima bakteri tersebut memiliki bentuk sel batang, bersifat

fermentatif dan koloni berwarna kuning pada media YDC. Menurut Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Pantoea* sp.

Bakteri genus *Pantoea* sp. memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* pada jahe dengan cara terbentuknya zona bening disekitar kertas saring. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Izza *et al.,* (2018) bahwa bakteri genus *Pantoea* sp. bersifat antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum* dengan ditandai adanya zona bening pada media pertumbuhan NA yang menunjukkan terhambatnya patogen *R. solanacearum* akibat senyawa antibiotik yang dikeluarkan oleh bakteri. Senyawa tersebut dapat berupa siderofor, enzim litik, enzim detoksifikasi maupun senyawa kimia (alelokimia) yang dapat merusak virulensi patogen. Bakteri *Pantoea* sp. tidak hanya bersifat antagonis terhadap patogen, tetapi juga dapat berperan sebagai PGPR. Menurut Raka *et al.*, (2012) bakteri *Pantoea agglomerans* berperan sebagai PGPR yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman jagung dengan mekanisme diantaranya dapat meningkatkan penyerapan air, unsur hara tanaman, fiksasi nitrogen dan melarutkan fosfat. Bakteri *Pantoea agglomerans* juga menghasilkan enzim *Aminocyclopropane carboxylate deaminase* (ACC-deaminase) yang berfungsi untuk mengurangi sintesis hormon etilen yang berlebihan pada masa perrtumbuhan vegetatif tanaman (Cahyati, 2017) dan bakteri *Pantoea agglomerans* juga mengasilkan antibiotik yang dapat digunakan untuk menekan pertumbuhan patogen tanaman.

b. Genus *Clostridium* sp.

Bakteri dengan kode isolat R28 memiliki karakteristik morfologi dengan bentuk koloni bulat dengan elevasi rata, warna koloni putih pekat dan tepi koloni rata. Hasil uji fisiologis dan biokimia diketahui bakteri R28 termasuk kedalam golongan bakteri Gram positif yang dicirikan bakteri tidak menghasilkan lendir pada saat uji KOH 3% dan sel berwarna ungu pada saat pewarnaan Gram. Bakteri tersebut memiliki bentuk sel batang, menghasilkan spora pada saat perwarnaan spora dan bersifat fermentatif. Menurut Schaad *et al*., (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Clostridium* sp.

Bakteri genus *Clostridium* sp. memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri patogen *R. solanacearum* pada jahe dengan zona bening yang dihasilkan.

Hal ini sesuai dengan penelitian Nurbaya *et al.,* (2011) melaporkan bahwa bakteri genus *Clostridium* sp. mampu menurunkan intensitas serangan *R. solanacearum* ± 50 % pada budidaya tanaman kentang yang diduga terjadi persaingan ruang dan nutrisi yang sangat mempengaruhi laju penghambatan patogen. Terjadinya kompetisi ruang dan nutrisi dapat membentuk struktur dorman yaitu endospora yang bersifat resisten. Kompetisi ruang dan nutrisi dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba lain. Nutrisi yang tidak tersedia dalam jumlah yang cukup dapat menyebabkan *Clostridium* sp. membentuk spora dorman (Soesanto, 2008). Pada skala in vitro bakteri genus *Clostridium* sp. yang ditemukan pada rizosfer tanaman pisang mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit darah *R. solanacearum* phylotipe 4 (Situmorang *et al.*, 2015). Bakteri *Clostridium* sp. tidak hanya mampu menghambat patogen bakteri, tetapi juga mampu menghambat patogen jenis jamur. Seperti pada penelitan Pracahyo *et al.*, (2015) bakteri *Clostridium* sp. yang diisolasi dari lumpur lapindo mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pyricularia oryzae* sebesar 85,07%. Menurut Zhang (2004) melaporkan bahwa kemampuan suatu agens hayati dalam menekan patogen biasanya melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan, diantaranya dengan menghasilkan antibiotik, toksin, kompetisi ruang dan nutrisi dan siderofor. Senyawa antibiotik yang disekresikan mikroorganisme tidak menyebabkan resistensi jika dibandingkan dengan antibiotik sintesis. Adanya senyawa yang dihasilkan oleh agenssia hayati tersebut menyebabkan terjadinya daya hambat pada pertumbuhan *P.oryzae*.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat bakteri hasil eksplorasi rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe di di UB *Forest* sebanyak 45 isolat bakteri yang berbeda dengan rincian 28 bakteri rizosfer dan 17 bakteri endofit akar.
2. Berdasarkan hasil seleksi terdapat 10 isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman jahe. Enam isolat terpilih yang memiliki zona hambat tertinggi yaitu isolat R1.2, R10, R28, R2, E8 dan E2 digunakan untuk pengujian selanjutnya.
3. Hasil pengujian penghambatan terhadap *R. solanacearum* menunjukkan 4 isolat bakteri antagonis dengan kode R1.2, R10, R2 dan E2 yaitu genus *Pantoea* sp. mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* dengan kemampuan lebih baik dari bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat, sedangkan isolat bakteri dengan kode E8 dan R28 yaitu genus *Pantoea* sp. dan *Clostridium* sp. memiliki kemampuan yang sama dengan bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Penelitian ini merupakan penelitian dasar mengenai potensi bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe di UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* agar penelitian ini lebih sempurna sebaiknya dilakukan identifikasi lebih lanjut hingga tingkat spesias terhadap bakteri antagonis yang terpilih.
2. Perlu dilakukan uji lanjutan terhadap enam isolat bakteri antagonis terpilih pada tanaman jahe dalam skala pot sebelum dilakukan penelitian lanjutan pada skala lapang.

DAFTAR PUSTAKA

Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology, fifth edition. Elsivier Academic Press

Badan Pusat Statistika. 2017. Statistika Tanaman Biofarmaka Indonesia. BPS-Statistics Indonesia

Barbara, J. E. S. dan Cristine, J. C. B. 2006. What are Endophytes. In Microbial Root Endophytes (Eds: Thomos N. Sieber). Apringer-Verlag, Berlin.

BUA UB. 2018. Universitas Brawijaya *Forest* (Online). http://bua.ub.ac.id/ubforest/. Diakses 18 November 2018.

Bustaman. 2006. Seleksi Mikroba Rhizosfer Antagonis terhadap Bakteri pada Tanaman Jahe di Lahan Tertindas. Jurnal ilmu- ilmu Pertanian Indonesia. 8: 12-18

Cahyaty, R. A. A. 2017. Pengaruh Bakteri Rhizosfer Toleran Salin Terhadap Tanaman Mentimun (*Cucumis Sativa* L) Pada Tanah Salin. Thesis: Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang

Champoiseau, P. G., Jones, J. B. dan Allen, C. 2009. *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 causes tropical losses and temperate anxieties. Plant health Progress 10: 1-10.

Dinas Komunikasi dan Informatika Kabupaten Malang. 2016. Wilayah Desa Tawangargo (Online). http://desa-tawangargo.malangkab.go.id/news. (Diakses 8 November 2018)

Direktorat Perlindungan Holtikultura. 2018. Penyakit Rimpang jahe. http://ditlin.hortikultura.pertanian.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=207&Itemid=271. Diakses pada tanggal 04 Noverber 2018.

Djatmiko, H., Arwiyanto, T., Hadisutrisno, B., dan Sunarminto, B. 2007. Potensi Tiga Genus Bakteri dan Tiga Rizosfer tanaman sebagai agensia pengendali hayati penyakit lincat. Jurnal Ilmu-Ilmu pertanian Indonesia 9: 40-47.

Edwin. 2011. Materi Kuliah Mikrobiologi. Universitas lambung Mangkurat. Banjarbaru.

Fanani, A. K., Abadi, A. L., dan Aini, L. Q. 2015. Eksplorasi Bakteri Patogen pada beberapa Spesies Tanaman kantong Semar (*Nepenthes* sp.). HPT 3 (3):104-110

Fariani, A., Abrar, A., dan Mudrikah. 2010. Isolasi Bakteri Asam Laktat Pendegradasi Sianida Dari Cairan Rumen. Prosiding Seminar Nasional. Universitas Sriwijaya.

Ferniah, R. S., Pujiyanto, S., Purwantisari, S., dan Supriyadi. 2011. Interaksi Kapang Patogen *Fusarium oxysporum* dengan Bakteri Kitinolitik Rizosfer Tanaman Jahe dan Pisang. Jurnal Natur Indonesia 14 (1) : 56-60

Fuadati, C. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.)* yang berpotensi sebagai Senyawa Antibakteri. Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang: 1-130

Gholib. 2008. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. rubrum) dan Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. amarum) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor.

Hartati, S Y. 2012. Deteksi dan Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Tanaman Jahe. Unit penerbitan dan Publikasi Balittro

Hidayah, N., Abadi, A. L., dan Aini, L. Q. 2015. Morphological and Physiological Characterization of *Ralstonia syzygii* From Clove. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science 8 (7): 87-91

Hidayat, Rahmat., Alhadi, F. 2012. Identifikasi *Steptococcus equi* dari kuda yang diduga menderita strangles. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). 17(3): 199-203

Izza, J. F., Aini, L. Q., dan Kusuma, R. R. 2018. Pemanfaatan Rhizobakteri dari Gulma di UB *Forest* Sebagai Agen Antagonis Penyakit Layu Bakteri Pada Kentang. Jurnal Biotropika 6 (2): 1-9

Jasim, B., Joseph, A. A., John, J. C., Mathew, J., dan Randhakrisman, E. K. 2014. Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria from the rhizome of *Zingiber officinale*. Jurnal Biotech 4: 197-204

Jha, P. B., Gupta, G., Jha, P., Mehrotra, R. 2013. Association of Rhizospheric/Endophytic Bacteria with Plants: A Ptential Gateway to Sustainable Agriculture. Greener j. of Agric. Sci. 3 (2): 73-84.

Kartikawati, A dan Gusmini. 2018. Potensi bakteri Endofit yang Diisolasi dari Tanaman jahe Merah untuk Memacu pertumbuhan Benih Lada. Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan obat 29 (1): 37-46.

Kawaguchi, A., Inoue, K., dan Ichinose, Y. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, Tomato by Non pathogenic Agrobacterium vitis Strain VAR03-1. Journal Phytopathology. Vol. 98, No.11.

Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology 44:693-695.

Khaeruni, A., Sutariati, G. A. K., dan Wahyuni, S. 2010. Karakterisasi dan Uji Aktivitas Bakteri Rizosfer Lahan Ultisol Sebagai pemacu Pertumbuhan Tanaman dan Agensia hayati Cendawan patogen Tulat Tanah secara In Vitro. Jurnal HPT Tropika 10 (2): 123-130.

Kusumawati, I. A. K., Prayogo, C. 2019. Dampak Perubahan Penggunaan lahan di UB *Forest* terhadap Karbon Biomassa Mikroba dan Total Populasi Bakteri. Jurnal Tanah dan Sumberdaya lahan 6 (1): 1165-1172.

Kuswinanti, T., Baharuddin, dan Sukmawati, S. 2014. Efektifitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik Terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada tanaman kentang. Jurnal Fitopatologi Indonesia 10 (2): 68-72

Lay, W., Bibiana. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada

Lugtenberg, B. J., Kravchenko, L.V., dan Simons, M. 1999. Tomato Seed and Root Exudate Sugars: Composition, utilization by *Pseudomonas* Biocontrol Strains and Role in Rhizosphere Colonization. Enviromental Microbiology 1(5): 439-446.

Madigan, M. dan Martinko, J. M. 2006. *Biology of Microorganism*. Prentice Hall. New Jersey.

Melliawati, R. D. N., Widyaningrum, Djohan, A. C., dan Sukiman, H. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman. Biodiversitas 7 (3): 221-224

Mingma, R., Pathom, W., Trakulnaleamsai, S., Thamchaipenet, A. A., dan Duangmal, K.. 2014. Isolation of Rhizospheric and Roots Endophytic Actinomycetes from Leguminosae Plant and Their Activities to Inhibit Soybean Pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *glycine.* Jurnal Microbiol Biotechnol 30: 271-280

Momota, P., Singh, B. K., Indira, D. S. 2012. Role of Endophytic Microorganisms in Sustainable Agriculture. NeBio. 3 (2): 69-77

Muharni dan Widjajantimns, H. 2011. Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis Terhadap Pertumbuhan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lignosus)* dari Rizosfer Tanaman Karet. Jurnal Penelitian Sains. 14(1)

Mulya, K., Supriadi, E., Adhi, M., Rahayu, S. dan Karyani, N. 2000. Potensi Bakteri Antagonis dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri jahe. Jurnal LITRI 6 (2) : 37-43

Nasrun, Christanti, Arwiyanto, T. dan Mariska, I. 2007. Karakteristik Fisiologis *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu bakteri Nilam. Jurnal Litri 13(2): 43-48.

Nurbaya, Zulfikar, A., Kuswinanti, T., Baharuddin dan Lologua, B. A., 2011. Kemampuan Mikroba Antagonis dalam Mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada Sistem Budidaya Aeroponik Tanaman Kentang. Jurnal Fitomedika 7 (3): 155-158

Nurrochman, F. 2015. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Barus Kretek, Bantul, Yogyakarta. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Nursanty, R dan Suhartono. 2012. Isolasi, karakterisasi dan Uji Antimikroba Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Johar (*Cassia siamea* Lamk.). Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi Volume 4 (1) : 7-10

Ocampo, S., Diana, M., Betancur, J., Otiz, A., Aristofeles, O. C., dan Rogelio. 2014. Comparative chromatographic study of fatty acids present in *Annona cherimoliodes* and *Annona muricata* L seed. Vector 2: 103-112

Pelczar, M. J dan Chan, E. C. S. 2010. Dasar-dasar Mikroorganisme. Terjemahan dari Elements of Miicrobiology, oleh Hadioetomo, R,S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.

Pracahyo, R., Khalimi, K., Wijana, G. 2015. Kajian Potensi Bakteri Lumpur Lapindo sebagai Agens Hayati terhadap *Pyricularia oryzae* dan Agens

Biostimulan pada Tanaman Padi. E-jurnal Agroekoteknologi Tropika 4 (1): 33-44.

Pramudyaningsih, R., Nursyamsi dan Sari, R. 2015. Mikroorganisme Tanah Bermanfaat pada Rhizosfer Tanaman Umbi di Bawah Tegakan Hutan Rakyat Sulawesi Selatan. Jurnal Prossemnas 1 (4): 954-959

Purnawati, A., Sastrahidayat, I. R., Abadi, A. L., dan Hadiasto, T. 2014 Endophytic. 2014. Bacteria as Biocontrol Agents of Tomato Bacterial Wilt Disease. J. Trop. Life. Science 4(1): 33-36.

Purwati, S., Soetopo, R. S., dan Idiyanti, T. 2011. Aplikasi Protease dan Pengaruh suhu pada asidifikasi digestasi anaerobic dua-tahap-lumpur ipal biologi industry kertas. J. Selulosa 1: 20-30

Rahayuningsih, S. 2011. Pemanfaatan Bakteri Endofit Sebagai Alternatif Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). Tesis: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor: Bogor.

Raka, I. G. N., Khalimi, K., Nyana, I. D. N., dan Siadi, I. K. 2012. Aplikasi Rizobakteri *Pantoea agglomerans* untuk Meningkatklan Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung (*Zea mays,* L.) Varietas Hibrida BISI-2. Jurnal Agrotrop 2 (1): 1-9

Ramamoorthy, V., Vismananthan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., dan Samiyappan, R.. 2001. Induction of systematic resitance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pest and disease. Crop protect 20: 1-11.

Rosas, S. B., Avanzini, G., Carlier, E., Pasluosta, C., Pastor, N. dan Rovera, M. 2009. Root colonization and growth promotion of wheat and maize by *Pseudomonas aurantiaca* SR1. Soil Biology and Biochemistry 41(9):1802-1806.

Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., dan Kusdiyantini, E. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga merah (*Rhodophyta*) dari Perairan Kutuh Bali. Jurnal Biologi 2 (2): 11-17

Sari, W dan Irawan, I. 2018. Kelimpahan dan Keragaman Bakteri Rizosfer Tanaman Pisang Serta Hubungannya dengan Kejadian Penyakit Layu Fusarium. Agroscience 8 (1).

Satrahidayat, I.R. dan Djauhari, S. 2012. Teknik Penelitian Fitopatologi. UB Press. Malang P 164.

Schaad, N. W., Jones, J. B., dan Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identicication of Plant Pathogenic Bacteria. 3th ed. Minnesota (US): APS press

Silitonga, D. M., Priyani, N., Nurwahyuni, I. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Isolat bakteri pelarut fosfat dan bakteri penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid)* Terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glicine max* L.) pada Tanah Kuning. Departemen Biologi, Fakultas MIPA, USU, Medan

Simatupang, D. S. 2008. Berbagai Mikroorganisme Rizosfer pada Tanaman Pepaya (Carica papaya L.) di Pusat Kajian Buah-Buahan Tropika (PKBT) IPB Desa

Ciomas, Kecamatan Pasirkuda, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Situmorang, E., Baharuddin dan Kuswinanti, T. 2015. Keragaman Isolat bakteri Antagonis dari Rizosfer Tanaman Pisang dan Kemampuannya Menghambat Pertumbuhan Bakteri Penyebab Penyakit Darah *Ralstonia solanacearum* phylotipe 4 secara *in vitro*. Skripsi: Fakultas Pertanian, Ilmu Hama dan penyakit Tumbuhan, Universitas Hassanudin.

Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tumbuhan. Jakarta :Raja Grafindo Persada

Suharti, N., Habazar, T., Nasir, N., Dachryanus dan Jamsari. 2011. Indiksi Ketahanan Tanaman Jahe Terhadap Penyakit Layu *Ralstonia solanacearum* Ras 4 Menggunakan Fungsi Mikoriza Arbuskular (FMA) Indigenus. Jurnal HPT Tropika 11 (1): 102-111

Sukmadewi, D. K. T., Suharjono, Antonius, S. 2015. Uji Potensi Bakteri Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid)* dari Tanah Rizosfer Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.). Jurnal Biotropika 3 (2).

Syahid, S. F., Rostiana, O., Supriadi dan Arlianti, T. Observasi Pertumbuhan, Hasil Rimpang dan Tingkat Ketahanan Jahe Putih Besar Terhadap Penyakit Layu Bakteri di Rumah kaca. Bul. Littro 25 (2): 1-14.

Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P., dan Zuberer, D. 2005. *Principles and Applications of Soil Microbiology*. Pearson Education Inc. New Jersey.

Tasnim, S., Retno, K., dan Astiti, N. P. A. 2011. Efektifitas daya hambat bakteri *Streptomyces* sp. Terhadap *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk rebah pada tanaman lidah buaya (*Aloevera Barbadensis* Mill). J. Simbiosis 1: 21-27.

Triana, O., Ria, P., dan Mulyani, N. S. 2017. Isolasi Bakteri Endofit pada Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Linn. Var *Rubrum*) Penghasil Senyawa Antioksidan. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi 20 (1) : 25 – 29

United State Departement of Agriculture (USDA) Natural Resources Consrvation Services. 2018. Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Zingiber officinaleRoscoe*.https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=ZIOF&display=31. Diakses pada 05 November 2018.

Wardana. 2002. Budidaya Secara Organik Tanaman Obat Rimpang. Penebar Swadaya : Jakarta

Wick, R. 2010. Tobacco Hypersensitivity: The first Test to Screen Bacteria for Pathogenecity. Massachusetts: University of Massachusetts

Widiastuti, A., Agustina, W., Wibowo, A., dan Sumardiyono, C. 2011. Uji Efektifitas Pestidida Terhadap Beberapa Patogen Penyebab Penting Pada Buah Naga (*Hylocereus* sp.) Secara *In Vitro*. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia. 17 (2): 73-76

Wuryandari, Y., Purnawati, A., Arwiyanto, T., dan Hadisutrisno, B. 2008. Dose and Dilution of Effectiveness of Fluorescents in Tomato against *Ralstonia solanacearum* In Vitro. J Maperta 10 (2): 72-78

Zhang, Y. 2004. Biocontrol of Sclerotia Stem Rot of Canola by Bacterial Antagonists and Study of Biocontrol Mechanisms Involved. Thesis: University of Manitoba canada

Zinniel, D. K., Lambrecht, P., Harris, N. B., Feng, Z., and Kuczmarski, D. 2002. Isolation and characterization of endophytic and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and praire plants. Appl Environ Microbiol 68 (5): 2198-2208.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis ragam hasil uji penghambatan bakteri rizosfer dan bakteri endofit akar tanaman jahe terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* pada cawan Petri

(24 jam setelah inokulasi)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel 5%	F-tabel 1%
Perlakuan	6	7,86	1,31	4,44	**	2,57	3,81
Galat	21	6,20	0,30				
Total	27	14,06		KK = 20,33%			

(48 jam setelah inokulasi)

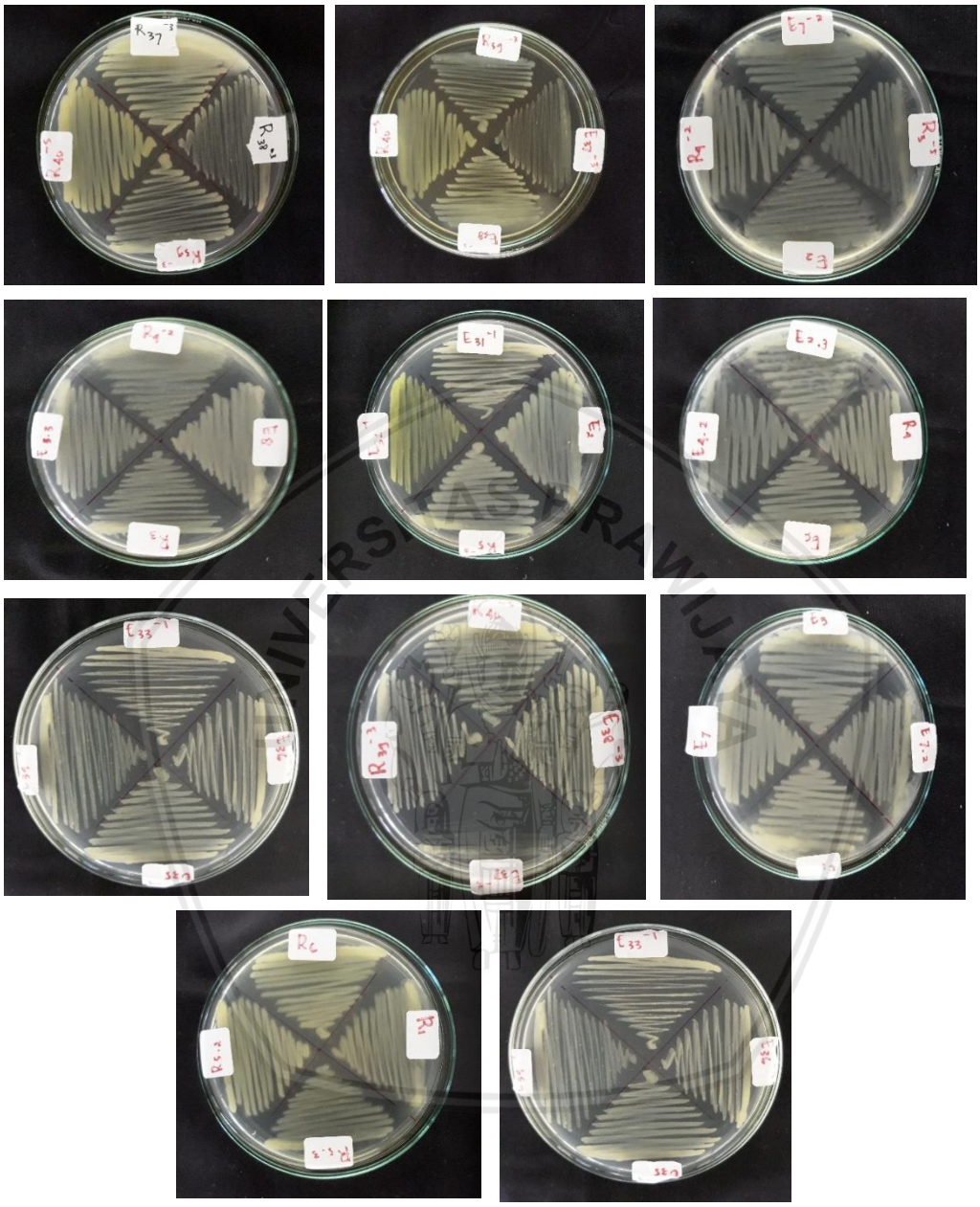
Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel 5%	F-tabel 1%
Perlakuan	6	7,58	1,26	4,19	**	2,57	3,81
Galat	21	6,32	0,30				
Total	27	13,90		KK = 20,80%			

(72 jam setelah inokulasi)

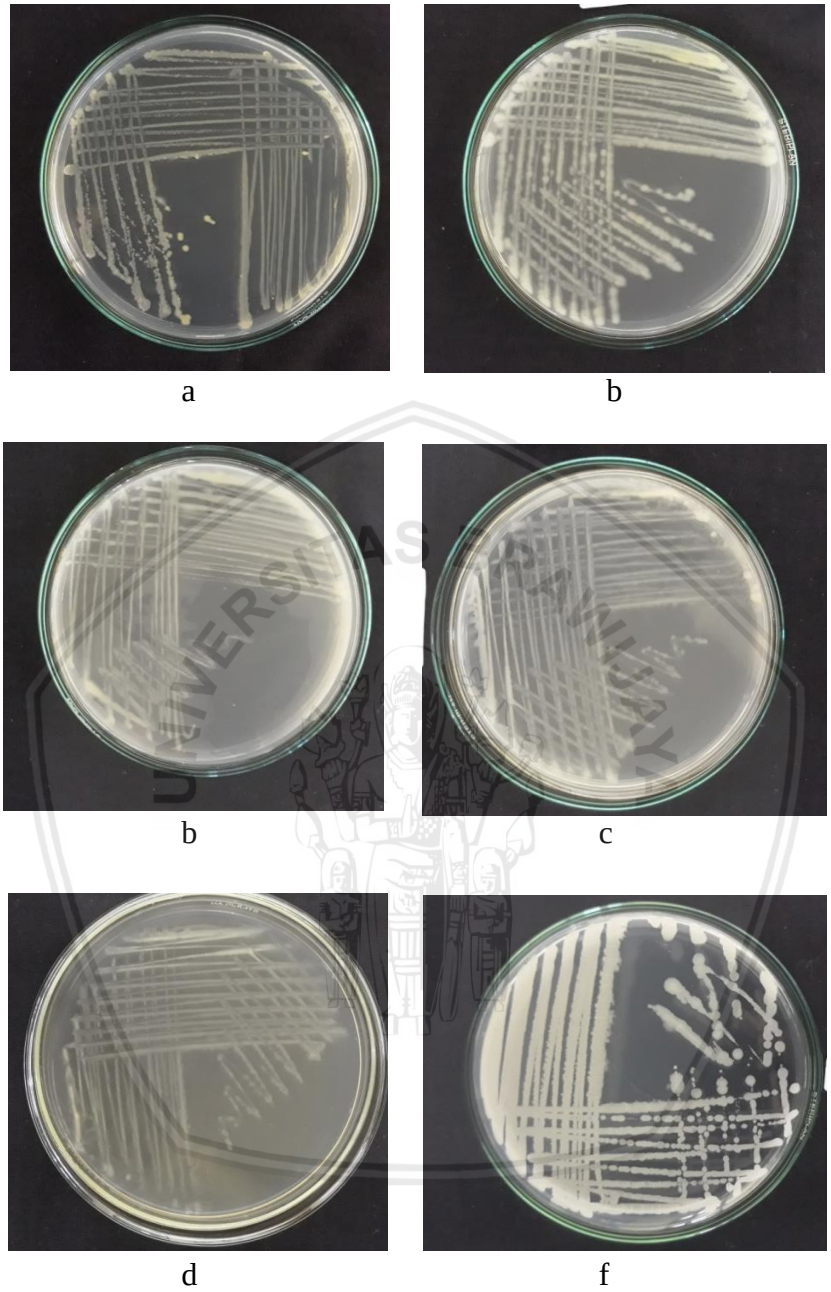
Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel 5%	F-tabel 1%
Perlakuan	6	7,41	1,23	4,12	**	2,57	3,81
Galat	21	6,29	0,30				
Total	27	13,70		KK = 20,98%			

Keterangan: (**): sangat nyata

Lampiran 2. Morfologi 45 isolat bakteri rizosfer dan endofit akar tanaman jahe



Lampiran 3. Morfologi isolat bakteri antagonis pada pengamtan 24 jam



a b

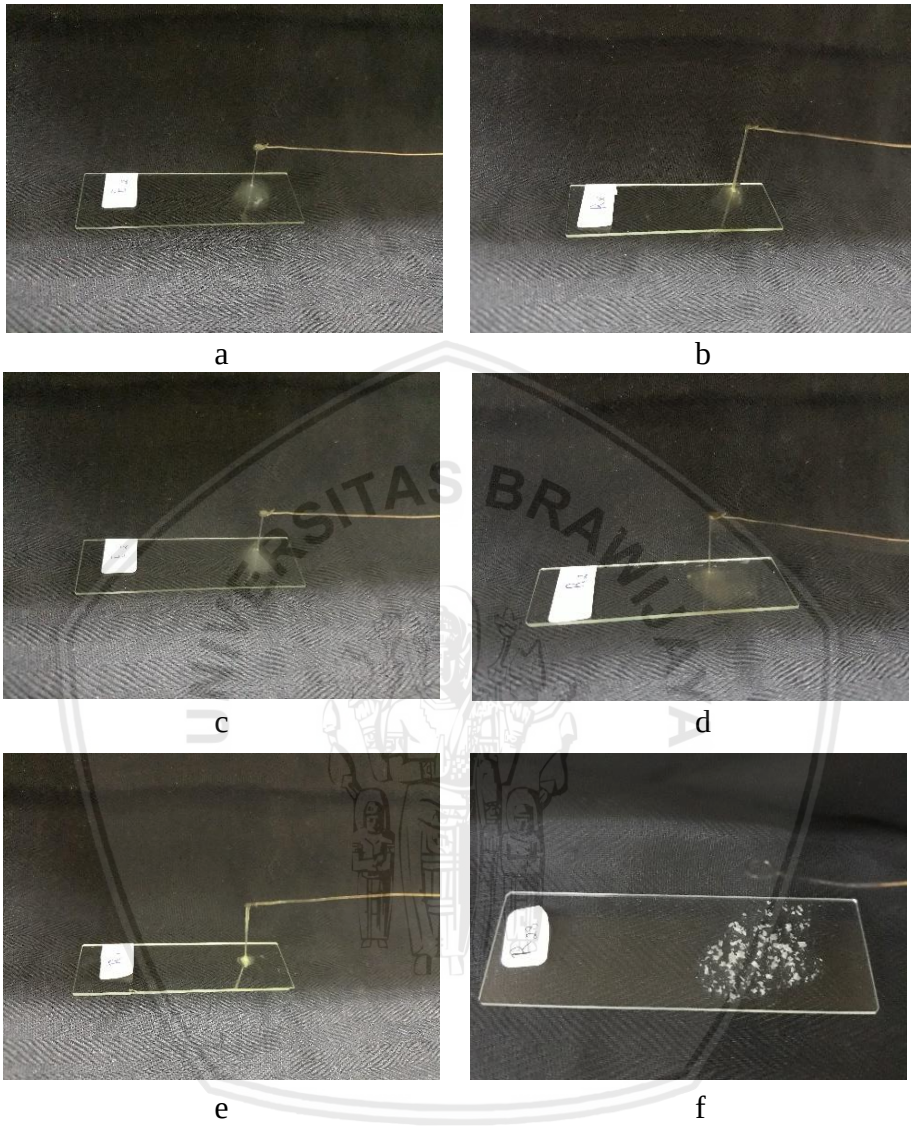
b c

d f

(a) isolat R2; (b) isolat R1.2; (c) isolat E2; (d) isolat R10; (e) isolat E8; (f) isolat R28

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

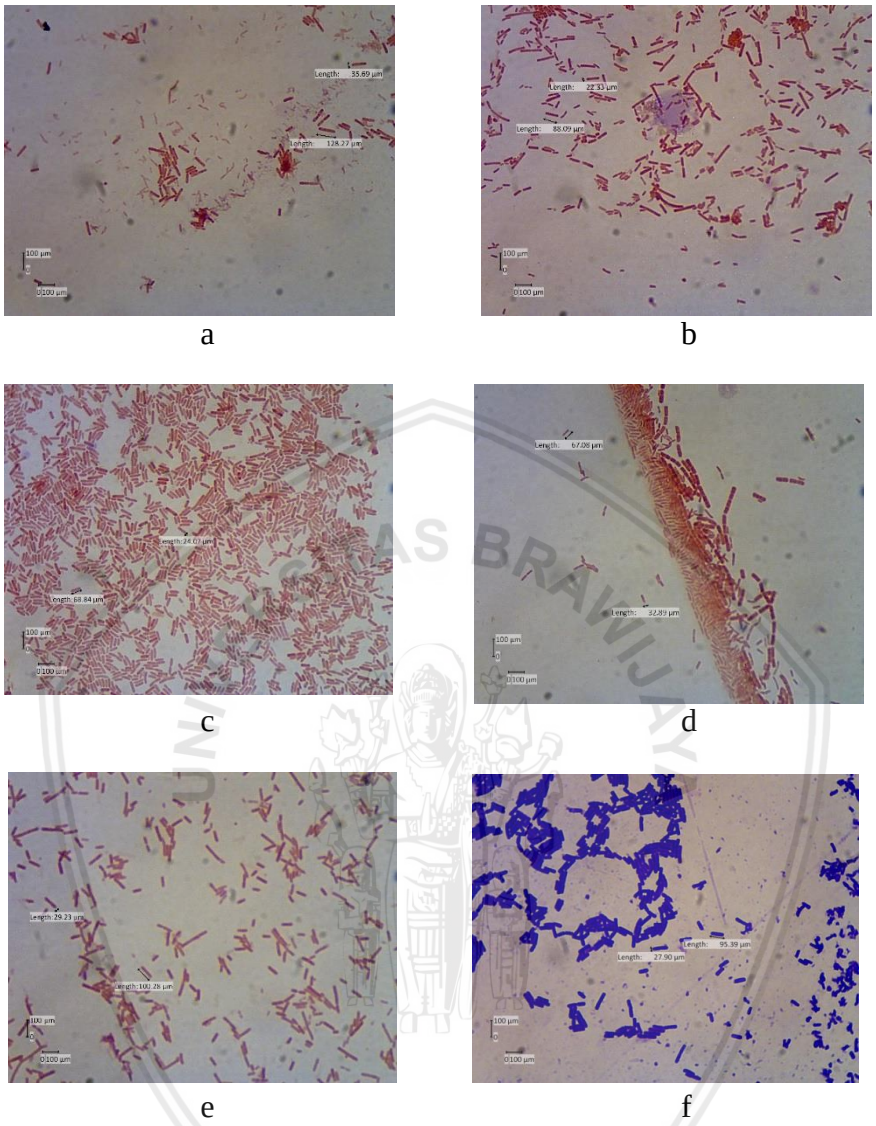
Lampiran 4. Reaksi uji KOH isolat bakteri antagonis



a b c d e f

(a) isolat E 2; (b) isolat R 10; (c) isolat E 8; (d) isolat R 2; (e) isolat R 1.2; (f) isolat R28

Lampiran 5. Warna dan bentuk sel bakteri antagonis pada perwarnaan Gram



a b c d e f

(a) isolat E2; (b) isolat R10; (c) isolat E8; (d) isolat R1.2; (e) isolat R2; (f) isolatR28

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 6. Metabolisme fermentatif bakteri antagonis pada uji OF

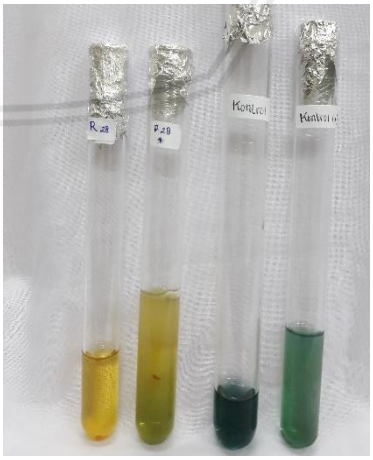
a

b

c

d

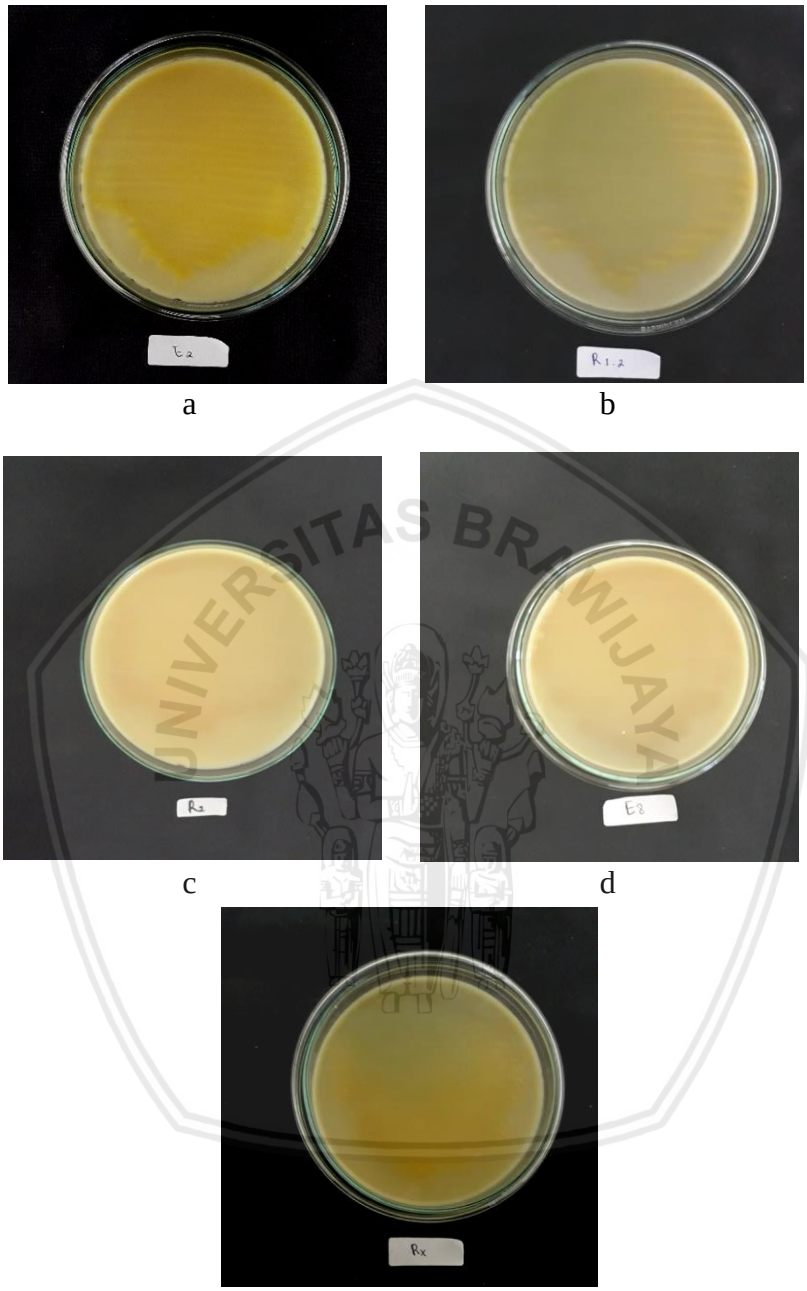
e



f

(a) isolat E2; (b) isolat E8; (c) isolat R1.2; (d) isolat R2; (e) isolat R10; (f) isolat R28

Lampiran 7. Koloni kuning bakteri antagonis pada media YDC

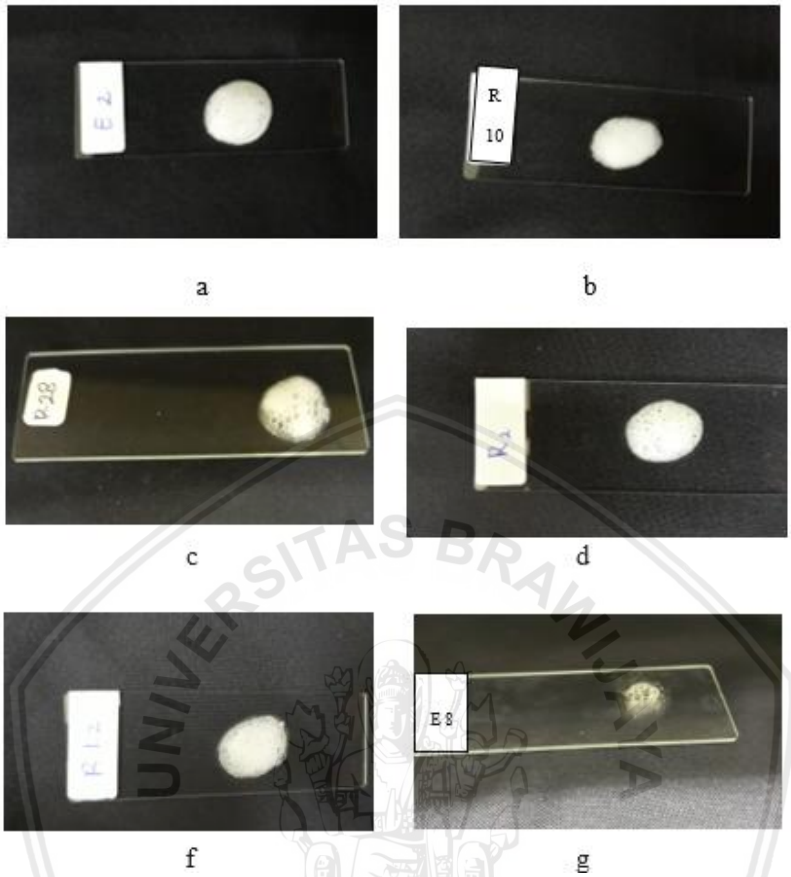


a b c d e

(a) isolat E2; (b) isolat R 1.2; (c) isolat Rx; (d) isolat E8; (e) isolat R10

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

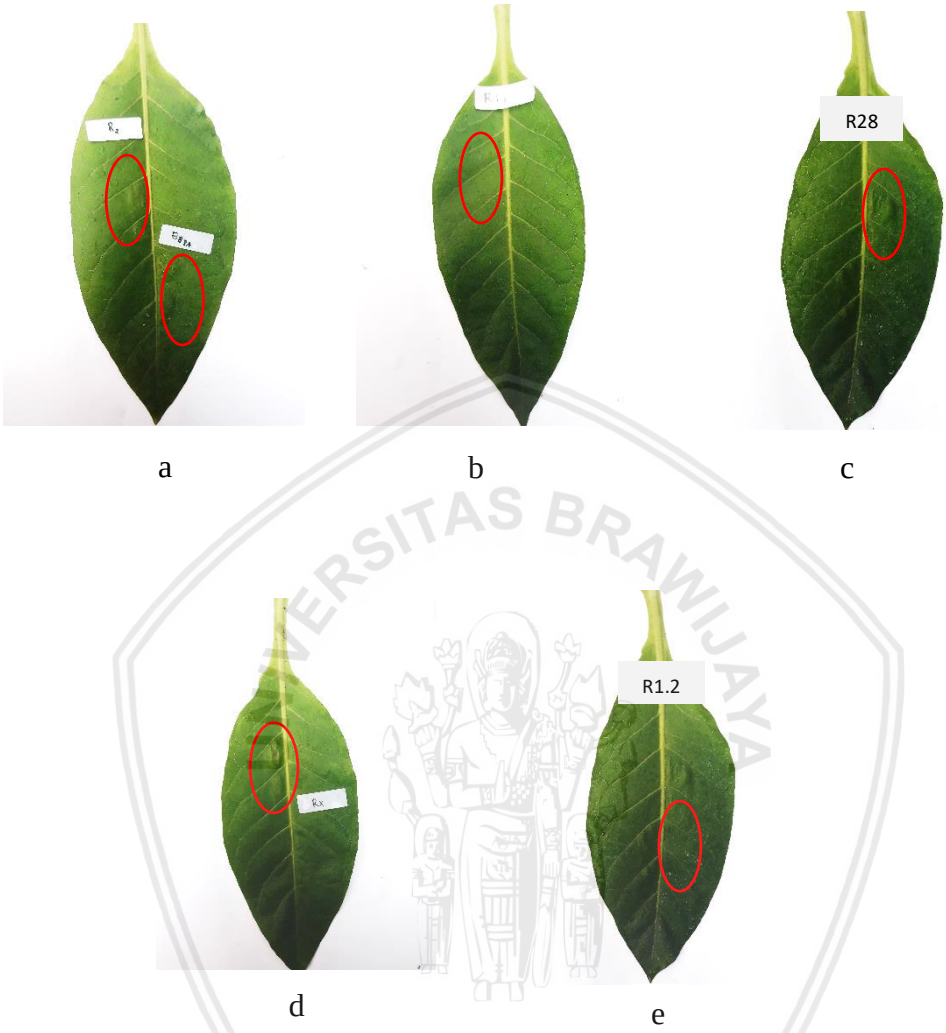
Lampiran 8. Gelembung bakteri antagonis pada reaksi uji katalase



(a) Isolat E2; (b) isolat R 10; (c) isolat R28; (d) isolat R2; (e) isolat R1.2; (f) isolat E8

Lampiran 9. Gejala layu bakteri oleh *R. solanacearum* pada 8 hari setelah inokulasi di tanaman jahe

Lampiran 10. Gejala hipersensitif 6 bakteri antagonis terhadap *R. solanacearum*



a b c

d e

(a) Isolat R2 dan E8; (b) isolat E2; (c) isolat R28; (d) isolat R10; (e) isolat R1.2

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA