



**PENAPISAN METABOLIT SEKUNDER BAKTERI *INDIGENOUS*
UB FOREST PENGHAMBAT *Pectobacterium* sp. PADA
WORTEL**

Oleh

DESTA HABI WANSA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2020**



**PENAPISAN METABOLIT SEKUNDER BAKTERI *INDIGENOUS*
UB FOREST PENGHAMBAT *Pectobacterium* sp. PADA
WORTEL**

Oleh :

**DESTA HABI WANSA
165040201111224**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2020**



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini merupakan hasil penelitian penulis dengan bimbingan dosen pembimbing dan belum pernah diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana di suatu Perguruan Tinggi. Sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis sebelumnya oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 18 Juni 2020

Desta Habi Wansa



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Penapisan Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous UB Forest* Penghambat *Pectobacterium* sp. pada Wortel

Nama Mahasiswa : Desta Habi Wansa

NIM : 16504020111224

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821 198002 1 002

Pembimbing Pendamping

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

Mengetahui

Ketua

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



Engman Nurata Aini, SP., M.Si. PhD
NIP. 1972091 9 998202 1 001



Tanggal Persetujuan : 12 OCT 2020

Dipindai dengan CamScanner

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I



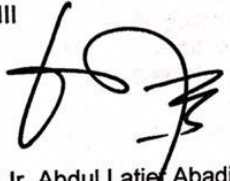
Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji II



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

Penguji III



Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821 198002 1 002

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP.19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 30 JUN 2020

 Dipindai dengan CamScanner

RINGKASAN

Desta Habi Wansa. 165040201111224. Penapisan Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous UB Forest* Penghambat *Pectobacterium sp.* pada Wortel. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. Dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc.

Wortel merupakan salah satu komoditi sayuran yang memberikan kontribusi terhadap produksi hasil hortikultura nasional. Produksi wortel di Bali menunjukkan data yang bersifat fluktuatif dari tahun 2000 sampai 2018. Penurunan hasil wortel disebabkan oleh serangan OPT (Organisme Pengganggu Tanaman), diakibatkan oleh patogen *Pectobacterium sp.* penyebab busuk lunak pada umbi wortel. Upaya untuk mengendalikan penyakit adalah dengan menggunakan metabolit sekunder bakteri antagonis bakteri *indigenous UB Forest*. Penelitian bertujuan mengetahui potensi antagonis bakteri *indigenous UB Forest* terhadap patogen *Pectobacterium sp.* dan potensi kemampuan antagonisme bakteri *indigenous UB Forest* dan metabolit sekundernya dalam menghambat *Pectobacterium sp.* di cawan Petri dan menghambat penyakit busuk lunak pada umbi wortel.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan 1 dan Laboratorium Toksikologi Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, dimulai Bulan Desember 2019 sampai Maret 2020. Tahap pelaksanaan penelitian dilakukan mulai dari peremajaan bakteri *Pectobacterium sp.* dan bakteri *Indigenous UB Forest*, Uji patogenitas *Pectobacterium sp.* pada wortel, uji seleksi antagonis bakteri *Indigenous UB Forest* secara *in Vitro*, pembuatan ekstrak metabolit sekunder bakteri *indigenous UB Forest*, Uji antagonis metabolit sekunder terhadap patogen *Pectobacterium sp.* secara *in Vitro*, uji penghambatan metabolit sekunder bakteri *indigenous UB Forest* pada wortel secara *in Vivo*.

Seleksi antagonis bakteri *indigenous UB Forest* menggunakan 6 isolat bakteri dari penelitian sebelumnya yang selanjutnya terpilih 2 isolat bakteri yaitu *Xanthomonas sp.* (N25) yang memiliki kemampuan lebih tinggi dari kontrol bakterisida *Streptomycin sulfat 20%* dan *Bacillus sp.* (N3) memiliki kemampuan setara dengan kontrol bakterisida *Streptomycin sulfat 20%*, isolat *Xanthomonas sp.* (N25) memiliki suatu senyawa yaitu bakterocin sedangkan isolat *Bacillus sp.* (N3) memiliki senyawa anti mikroba yang dapat menghambat patogen. Pada pengujian antagonis metabolit sekunder menunjukkan bahwa metabolit sekunder isolat *Bacillus sp.* (N3) dan isolat *Xanthomonas sp.* (N25) dapat menghambat pertumbuhan patogen *Pectobacterium sp.* dimana kemampuan metabolit sekunder setara dengan kontrol bakterisida *Streptomycin sulfat 20%* di dalam cawan Petri. Pada isolat *Xanthomonas sp.* (N25) dapat mengeluarkan suatu senyawa metabolit sekunder yang bersifat bakterisidal sedangkan *Bacillus sp.* (N3) mengeluarkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat anti mikroba. Pada pengujian *in Vivo* tidak berpengaruh pada massa busuk lunak wortel. Pengujian bakteri *Bacillus sp.* (N3) dan *Xanthomonas* (N25) dan metabolit sekundernya dapat menghambat pertumbuhan *Pectobacterium sp.* di cawan Petri namun tidak dapat menghambat gejala busuk lunak di umbi wortel.

SUMMARY

Desta Habi Wansa. 165040201111224. Secondary Metabolite Screening of Indigenous UB Forest Bacteria Inhibitors of *Pectobacterium* sp. on Carrot. Supervised by of Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. and Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc.

Carrots are a vegetable commodity that contributes to the production of national horticulture products. Carrot production in Bali shows fluctuating data from 2000 to 2018. The decrease in carrot yield is caused by OPT (Organisme Pengganggu Tumbuhan), caused by the pathogen *Pectobacterium* sp. causes of soft rot in carrot root. The effort to control the disease is by using secondary metabolites of the antagonist bacteria of UB Forest indigenous bacteria. The study aims to determine the potential antagonist of UB Forest's indigenous bacteria against the pathogen *Pectobacterium* sp. and the potential antagonism ability of UB Forest's indigenous bacteria and its secondary metabolites in inhibiting *Pectobacterium* sp. in the Petri dish and inhibit soft rot disease in carrot root.

The research was conducted at the Plant Disease Laboratory 1 and the Toxicology Laboratory, Department of Pests and Plant diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Brawijaya, starting in December 2019 until March 2020. The implementation phase of the research was carried out starting from the rejuvenation of the bacterium *Pectobacterium* sp. and UB Forest Indigenous bacteria, Pathogenicity of *Pectobacterium* sp. in carrots, Indigenous bacterial antagonist selection test in Vitro, making secondary metabolite extracts of UB Forest indigenous bacteria, Test for secondary metabolite antagonists against pathogen *Pectobacterium* sp. in Vitro, the inhibition of secondary metabolites of UB Forest indigenous bacteria in carrots in Vivo.

UB Forest's indigenous bacterial antagonist selection used 6 bacterial isolates from previous studies, which subsequently selected 2 bacterial isolates namely *Xanthomonas* sp. (N25) which has a higher ability than the bactericidal control of Streptomycin sulfate 20% and *Bacillus* sp. (N3) has an equivalent ability to bactericidal control of Streptomycin sulfate 20% , isolate *Bacillus* sp. (N3) has anti-microbial compounds that can inhibit pathogens. The secondary metabolite antagonist showed that the secondary metabolite isolate *Bacillus* sp. (N3) and *Xanthomonas* sp. (N25) can inhibit the growth of pathogenic *Pectobacterium* sp. where the ability of secondary metabolites is equivalent to the bactericidal control of the Streptomycin sulfate 20% in the Petri dish. In *Xanthomonas* sp. (N25) can release a secondary metabolite compound that is bactericidal while *Bacillus* sp. (N3) release secondary metabolites which are anti-microbial. In Vivo testing did not affect the carrot soft rot mass. *Bacillus* sp. (N3) and *Xanthomonas* (N25) and their secondary metabolites can inhibit the growth of *Pectobacterium* sp. in a Petri dish but cannot inhibit the symptoms of soft rot in carrot root.



DAFTAR ISI

Nomor	Teks	Halaman
	RINGKASAN.....	i
	SUMMARY.....	ii
	KATA PENGANTAR.....	iii
	RIWAYAT HIDUP.....	iv
	DAFTAR ISI.....	v
	DAFTAR GAMBAR.....	vii
	DAFTAR TABEL.....	viii
	BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1	Latar Belakang.....	1
1.2	Rumusan Masalah.....	2
1.3	Tujuan Penelitian.....	3
1.4	Hipotesis Penelitian.....	3
1.5	Manfaat Penelitian.....	3
	BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1	Tanaman Wortel.....	4
2.2	<i>Pectobacterium</i> sp.....	5
2.3	Metabolit Sekunder.....	7
	BAB 3. METODE PENELITIAN.....	8
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	8
3.2	Alat dan Bahan.....	8
3.3	Tahapan Penelitian.....	8
3.3.1.	Peremajaan Bakteri <i>Pectobacterium</i> sp. dan Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i>	8
3.3.2.	Uji Patogenitas <i>Pectobacterium</i> sp. pada wortel.....	9
3.3.3.	Uji Seleksi Antagonis Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> secara <i>in Vitro</i>	9



3.3.4. Pembuatan Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> ..	10
3.3.5 Uji Penghambatan Senyawa Metabolit Sekunder Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> terhadap Bakteri <i>Pectobacterium</i> sp. secara <i>in Vitro</i>	11
3.3.6 Uji Penekanan Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Wortel oleh Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> dan Senyawa Metabolit Sekunder	11
3.4 Variabel Pengamatan.....	12
3.4.1. Indeks Penghambatan Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> dan Metabolit Sekunder terhadap Patogen <i>Pectobacterium</i> sp. secara <i>in Vitro</i>	12
3.4.2. Variabel Pengamatan Uji Penghambatan pada Umbi Wortel.....	13
3.5 Analisa Data	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Patogenitas <i>Pectobacterium</i> sp. pada Umbi Wortel	15
4.2 Seleksi Antagonis Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> secara <i>in Vitro</i>	16
4.3 Potensi Antagonis Metabolit Sekunder terhadap <i>Pectobacterium</i> sp. secara <i>in Vitro</i>	19
4.4 Potensi Bakteri <i>Indigenous UB Forest</i> dan Metabolit Sekundernya terhadap Penyakit Busuk pada Wortel (Massa Busuk Lunak dan Susut umbi)	21
4.5 Metabolit Sekunder Bakteri Antagonis	24
V. KESIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 KESIMPULAN	27
5.2 SARAN	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Morfologi Wortel.....	4
2.	Hasil Uji Patogenitas Patogen <i>Pectobacterium</i> sp. pada Umbi Wortel setelah 7 Hari Inkubasi. (A) Perlakuan Kontrol dengan Inokulasi Aquadest Steril; (B) Perlakuan dengan Inokulasi Patogen <i>Pectobacterium</i> sp.....	15
3.	Uji Seleksi Antagonis Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Terpilih pada Cawan Petri terhadap <i>Pectobacterium</i> sp. di Hari Ke dua (A) Isolat <i>Xanthomonas</i> sp. (N25); (B) Isolat <i>Bacillus</i> sp. (N3); (C) <i>Streptomycin Sulfat</i> 20%.....	16
4.	Hasil Uji Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> pada Cawan Petri di Hari Ke dua, (A) Metabolit Sekunder Isolat <i>Bacillus</i> sp. (N3); (B) Metabolit Sekunder Isolat <i>Xanthomonas</i> sp. (N25); (C) <i>Streptomycin Sulfat</i> 20%.....	19
5.	Massa Busuk Lunak Pada Umbi Wortel Di Hari Ke tujuh. (A) Metabolit Sekunder Isolat <i>Bacillus</i> sp. (N3); (B) Bakteri Isolat <i>Xanthomonas</i> sp. (N25); (C) Aquadest; (D) Patogen <i>Pectobacterium</i> sp.....	21

LAMPIRAN

1.	Hasil Uji Hipersensitif Bakteri Patogen <i>Pectobacterium</i> sp. pada Tembakau.....	32
2.	Hasil Uji Patogenitas pada Umbi Wortel.....	32
3.	Hasil Seleksi Antagonis Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> pada Media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	33
4.	Hasil Uji Antagonis Metabolit Sekunder Isolat Bakteri <i>Bacillus</i> sp. (N3) dan <i>Xanthomonas</i> sp. (N25).....	33
5.	Hasil Uji Bakteri dan Metabolit Sekunder Isolat Bakteri <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Xanthomonas</i> sp. (N25) pada Umbi Wortel.....	34



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan Uji Antagonis Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> terhadap <i>Pectobacterium</i> sp. secara <i>In Vitro</i>	10
2.	Perlakuan Uji Metabolit Sekunder.....	11
3.	Perlakuan Uji Penekanan Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Wortel oleh Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> dan Metabolit Sekundernya.....	12
4.	Hasil Uji Penghambatan Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> terhadap <i>Pectobacterium</i> sp.....	17
5.	Hasil Uji Penghambatan Metabolit Sekunder Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Antagonis terhadap <i>Pectobacterium</i> sp.	20
6.	Hasil Uji Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Antagonis dan Metabolit Sekundernya Terhadap Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Wortel Setelah 7 HSI.....	22
7.	Metabolit Sekunder Bakteri yang diidentifikasi Menggunakan GC-MS (<i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>).....	24
8.	Antagonisme Bakteri <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Xanthomonas</i> sp.....	25

LAMPIRAN

1.	Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Hari Ke-1	35
2.	Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Hari Ke-2	35
3.	Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Hari Ke-1	35
4.	Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri <i>Indigenous</i> UB <i>Forest</i> Hari Ke-2	35
5.	Analisis Ragam Busuk Lunak Umbi Wortel.....	36
6.	Analisis Ragam Penurunan Berat Umbi Wortel.....	36

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Wortel merupakan salah satu komoditi sayuran yang memberikan kontribusi terhadap produksi hasil hortikultura nasional (Santosa *et al.*, 2018). Wortel cukup banyak diminati karena termasuk komoditas yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia karena memiliki beberapa nutrisi yang dibutuhkan tubuh manusia (Bidlack *et al.*, 2000). Berdasarkan BPS, 2019 produksi wortel di Bali menunjukkan data yang bersifat fluktuatif dari tahun 2000 sampai 2018. Dari data BPS, 2019 didapatkan data pada wilayah Bali produktifitas wortel dari tahun 2000 sebanyak 4.249 ton dan pada tahun 2018 hasil produksi sebanyak 3.625 ton/ha, hasil produksi wortel tertinggi pada tahun 2007 sebanyak 12. 624 ton/ha. Produksi wortel di wilayah Brebes pada tahun 2017 sebanyak 19.190 ton/ha dan mengalami penurunan pada tahun 2018 sebanyak 18.160 ton/ha. Pengembangan budidaya wortel memiliki prospek yang baik dalam mendukung upaya peningkatan pendapatan petani, selain itu dapat meningkatkan prospek agribisnis dan meningkatkan pendapatan negara melalui pengurangan impor dan memacu ekspor. Penurunan hasil wortel dapat disebabkan oleh serangan OPT (Organisme Pengganggu Tanaman) (Bhat *et al.*, 2010) sehingga perlu dilakukan upaya untuk peningkatan produksi wortel. Salah satu OPT penyebab berkurangnya hasil produksi wortel, adalah patogen *Pectobacterium* sp. penyebab busuk lunak pada umbi wortel.

Pectobacterium sp. merupakan patogen yang sebelumnya dikenal dengan *Erwinia carotovora*. Penyakit busuk lunak merupakan salah satu penyakit penting dalam budidaya tanaman wortel yang disebabkan oleh bakteri patogen yaitu *Pectobacterium* sp. (Agrios, 2005) yang dapat menyerang pada saat di lapang maupun setelah panen (pasca panen). Bakteri patogen *Pectobacterium* sp. dapat menyerang seluruh bagian tanaman dan meluas dengan cepat bahkan menyebabkan kematian pada tanaman wortel. Penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan terutama pada saat di pembibitan hingga 80 – 100% *Pectobacterium* sp. bersifat anaerob

fakultatif dan mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat sehingga menyebabkan busuk lunak pada tanaman. Bakteri ini menyerang jaringan tanaman pada umumnya melalui pelukaan dan melalui lubang alami (Joko *et al.*, 2011). Penyakit ini menimbulkan kerugian hasil produksi wortel yang cukup besar dan penyebarannya luas dan cepat, kondisi lingkungan yang hangat dan basah sangat mendukung infeksi patogen ke tanaman inang. Bakteri menginfeksi tanaman inang dengan memasuki jaringan tanaman terutama melalui luka (Arsenijević, 1997). Bakteri ini termasuk patogen terbawa tanah yang sulit dikendalikan secara kimiawi dan penyebarannya sangat cepat (Javandira *et al.*, 2013).

UB *Forest* merupakan kawasan hutan pendidikan yang dimiliki oleh Universitas Brawijaya sehingga memiliki kekayaan mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan salah satunya yaitu bakteri antagonis yang berpotensi untuk mengendalikan bakteri patogen. Isolat bakteri *indigenous* UB *Forest* yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dan bersifat antagonis yaitu *Bacillus* sp., *Pantoea* sp. (Novia, 2019). Senyawa metabolit sekunder bakteri ialah senyawa kimia yang mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama dan penyakit (Lenny, 2006). Cara untuk mengendalikan penyakit adalah dengan menggunakan metabolit sekunder bakteri antagonis. Isolat bakteri antagonis diperoleh dari koleksi penelitian sebelumnya (Novia, 2019) yang berasal dari UB *Forest* memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *Pectobacterium* sp. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan hasil pengembangan bakteri *indigenous* UB *Forest* penghasil metabolit sekunder yang berpotensi mengendalikan patogen *Pectobacterium* sp. yang menyerang umbi wortel.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana potensi antagonis bakteri *indigenous* UB *Forest* dan metabolit sekundernya dalam menghambat *Pectobacterium* sp. di cawan Petri dan menghambat gejala busuk lunak pada umbi wortel?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi antagonis bakteri *indigenus* UB Forest terhadap patogen *Pectobacterium* sp.
2. Menguji dan menganalisis kemampuan antagonisme bakteri *indigenus* UB Forest dan metabolit sekundernya dalam menghambat *Pectobacterium* sp. di cawan Petri dan menghambat penyakit busuk lunak pada umbi wortel.

1.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat bakteri *indigenus* UB Forest dan metabolit sekundernya yang dapat menghambat patogen *Pectobacterium* sp. dan gejala busuk lunak pada wortel.

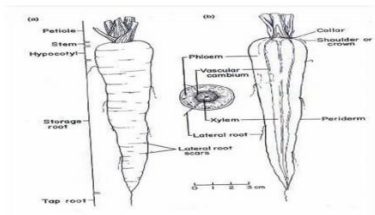
1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada petani mengenai teknologi hayati bakteri *indigenus* UB Forest dan metabolit sekundernya sebagai alternatif baru dalam mengendalikan dan menekan pertumbuhan bakteri patogen *Pectobacterium* sp..
2. Memberikan informasi kepada akademisi dan peneliti mengenai bakteri *indigenus* UB Forest dan metabolit sekundernya sebagai teknologi hayati untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen *Pectobacterium* sp.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Wortel

Wortel (*Daucus carota* L.) adalah jenis sayuran yang berwarna kuning kemerahan yang memiliki tekstur yang renyah (Malasari, 2005). Tanaman wortel menyimpan cadangan makanan dalam bentuk umbi di dalam tanah. Batangnya pendek dan berakar tunggang yang fungsinya berubah menjadi umbi bulat dan memanjang. Bagian umbi yang memanjang berwarna kemerahan-merahan inilah yang dikonsumsi. Akar tunggangnya dapat berubah bentuk dan fungsinya sebagai penyimpanan cadangan makanan atau disebut umbi. Secara alami tanaman wortel dapat berbunga dan menghasilkan biji. Bunga wortel berbentuk payung ganda sedangkan biji-bijinya berbentuk kecil dan berbulu. Biji-biji ini dapat digunakan sebagai alat-alat bahan perbanyakan wortel secara generative. Bagian yang dapat dimakan dari wortel yaitu bagian umbi atau akarnya. Wortel memiliki batang yang pendek, akar tunggang yang bentuk dan fungsinya berubah menjadi umbi bulat dan memanjang. Batangnya pendek dan berakar tunggang yang fungsinya berubah menjadi bulat dan memanjang. Kulit umbi wortel tipis dan dimakan mentah terasa renyah dan manis (Makmun, 2007).



Gambar 1. Morfologi Wortel

Sumber : Fatonah, 2002

Wortel ditanam di dataran tinggi dengan ketinggian 1.200-1.500 mdpl untuk pertumbuhan yang optimal. Suhu yang optimal untuk tanaman ini sekitar 22-24°C dengan kelembaban dan sinar matahari yang cukup. Persyaratan tanah yang sesuai untuk tanaman ini yaitu subur, gembur dan banyak mengandung humus. Wortel dapat tumbuh baik pada pH antara 5,5-6,5 dan untuk hasil optimal diperlukan pH 6,0-6,8.

Keunggulan tanaman ini adalah tanaman ini dapat ditanam sepanjang tahun, pada musim kemarau maupun musim hujan. Varietas-varietas wortel terbagi menjadi 3 kelompok yang berdasarkan pada bentuk umbi, yaitu tipe Emperor, Chantenay, dan Nantes.

Wortel memiliki peranan penting bagi tubuh, karena wortel memiliki kandungan α dan β -karoten. Kedua jenis karoten ini penting dalam gizi manusia sebagai provitamin A. Senyawa β -karoten dalam tubuh diubah menjadi vitamin A yang berperan dalam menjaga pertahanan dan kekebalan tubuh, menjaga kesehatan kulit, paru-paru, dan membantu pertumbuhan sel-sel baru. Wortel merupakan sumber makanan detoksifikasi yang mempunyai kemampuan untuk mengatur ketidakseimbangan dalam tubuh. Menurut Malasari, 2005 wortel memiliki senyawa bioaktif seperti karotenoid dan serat yang cukup untuk meningkatkan kesehatan secara signifikan. Wortel segar mengandung air, protein, karbohidrat, lemak, serat, abu, nutrisi anti kanker, pektin, mineral (kalsium, fosfor, besi, dan natrium), vitamin (β etakaroten, B1 dan C) serta asparagin. Vitamin C, vitamin B, dan mineral terutama kalsium, dan fosfor yang terkandung 7 dalam wortel merupakan sumber gizi yang baik untuk pertumbuhan.

2.2 *Pectobacterium* sp.

Penyakit busuk lunak ialah salah satu penyakit penting dalam budidaya tanaman wortel yang disebabkan oleh bakteri patogen, yaitu *Pectobacterium* sp. (Agrios, 2005). Penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Pectobacterium* sp. *Pectobacterium* sp. memiliki klasifikasi yaitu Kingdom; Monera, Filum; Proteobacteria, Kelas; Gammaproteobacteria; Famili; Enterobacteriaceae; Genus; *Pectobacterium*; Spesies; *Pectobacterium* sp. *Pectobacterium* sp. adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang dan berflagela serta dapat hidup pada kondisi aerob dan anaerob. Ciri khas bakteri tersebut terlihat dari sel bakteri yang berbentuk batang dengan ukuran (1,5-2,0) x (0,6-0,9) micron, umumnya membentuk rangkaian sel seperti rantai, tidak mempunyai kapsul dan tidak berspora. Bakteri bergerak

menggunakan flagella yang terdapat di sekeliling sel bakteri (*flagella peritrichous*).

Bakteri bersifat gram negatif. Suhu optimal untuk perkembangan bakteri adalah 17⁰ C pada kondisi kelembaban rendah dan suhu yang rendah maka perkembangan bakteri akan terhambat.

Penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan terutama pada saat di pembibitan hingga 80–100%. Bakteri tersebut dapat menyerang seluruh bagian tanaman dan meluas dengan cepat bahkan menyebabkan kematian pada tanaman. *Pectobacterium* sp. bersifat anaerob fakultatif dan mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat sehingga menyebabkan busuk lunak pada tanaman. Bakteri ini menyerang jaringan tanaman pada umumnya melalui pelukaan dan juga dapat melalui lubang alami (Joko *et al.*, 2011). Bakteri *Pectobacterium* sp. mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat dan menyebabkan busuk lunak pada tanaman famili *solanaceae*. Bakteri ini menyerang jaringan tanaman pada umumnya melalui pelukaan dan juga dapat melalui lubang alami (Hardyanto, 2010). Kemampuan bakteri *Pectobacterium* sp. merusak pektin adalah tipikal spesies *carotovora*. Patogen ini dapat memperbanyak diri pada ruang intraseluler serta menghasilkan sekresi berupa enzim pektolitik dalam jumlah besar. Suhu merupakan faktor utama yang menentukan patogenitas bakteri busuk lunak *Pectobacterium* sp. yaitu di daerah iklim hangat (Hardiyanto, 2010).

Gejala Serangan penyakit busuk lunak tergolong penyakit yang serius. Gejala serangan ditandai dengan munculnya bintik-bintik kecil berwarna kecoklatan di permukaan daun (Iswanto, 2001). Bercak-bercak kecil berair tersebut kemudian berkembang menjadi kecoklatan dan mengeluarkan bau busuk (Hakim, 2010). Gejala serangan *Pectobacterium* sp. banyak di tempat penyimpanan atau pada waktu pengangkutan (pasca panen) daripada dilapangan baik ketika masih di lapangan maupun di gudang penyimpanan (Addy, 2007). Gejala awal pada daun segar terjadi bercak-bercak berair yang kemudian membesar dan berwarna coklat. Pada serangan

lanjut, daun yang terinfeksi melunak, berlendir dan mengeluarkan bau yang khas (Sagala, 1998).

2.3 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan suatu senyawa kimia yang berada didalam suatu organisme, biasanya senyawa ini tidak terlibat secara langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan atau reproduksi organisme (Mohammed *et al.*, 2014).

Metabolit sekunder terbentuk dari sintesis tanaman, mikroba, dan hewan melalui proses biosintesis (Saifudin, 2014). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri dari golongan *Pseudomonas* sp. seperti phenazine, oomycin, hydrogen sianida dan pyoverdin dilaporkan bersifat anti jamur terhadap berbagai jenis patogen penting pada tanaman (China-Woeng *et al.*, 2003).

Menurut Gonzales, 2003 metabolit sekunder merupakan senyawa dengan struktur kimia bervariasi dan rumit yang diproduksi oleh beberapa spesies mikroba dan beberapa tumbuhan. Karakteristik metabolit sekunder diproduksi pada fase stasioner saat populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuhan sama dengan jumlah sel yang mati. Metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri antagonis bersifat kimiawi, berbagai bakteri antagonis seperti *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Streptomyces* yang menghasilkan berbagai antimikroba metabolit sekunder telah digunakan sebagai kontrol biologis agen di bidang pertanian (Widiantini *et al.*, 2018). Senyawa metabolit sekunder pada dasarnya diklasifikasikan menjadi 3 kelompok utama, yaitu Terpenoid (sebagian besar senyawa terpenoid mengandung karbon dan hidrogen serta disintesis melalui jalur metabolisme asam mevalonat).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan 1 dan Laboratorium Toksikologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dimulai bulan Desember 2019 sampai Maret 2020.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan diantaranya adalah timbangan analitik, autoklaf, kompor listrik, gelas ukur, panci, pisau, cawan Petri, jarum Ose, Bunsen, *beaker glass*, tabung reaksi, pinset, pipet, kertas saring, botol media, mikropipet, gunting, gelas objek, plastik *wrapping*, *aluminium oil*, tissue, alat tulis, karet, kertas label, tatakan tabung reaksi, botol fial film, botol sentrifuges.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah 6 isolat bakteri *indigenous* UB *Forest* (Ariani, 2018), isolat bakteri patogen *Pectobacterium* sp. (Novia, 2019), aquadest steril, media Nutrient Agar (NA), media Nutrient Broth (NB), spiritus, tissue steril, etil asetat, Alkohol 70%, alkohol 96%, chloroform, bakterisida berbahan aktif Streptomisyn sulfat 20%, blue tip, tube, kertas *Wattman* No. 1, umbi wortel.

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1. Peremajaan Bakteri *Pectobacterium* sp. dan Bakteri *Indigenous* UB *Forest*

Isolat bakteri *Pectobacterium* sp. yang berpotensi sebagai patogen didapatkan dari penelitian sebelumnya (Novia, 2019). Sedangkan bakteri *indigenous* UB *Forest* berasal dari hasil eksplorasi rizosfer yang berpotensi sebagai anatgonis yaitu bakteri *Pantoea* (N23), *Bacillus* sp. (N3), *Erwinia* sp. (N5), *Clostridium* (N10), *Pseudomonas* sp. (N15) (Ariani, 2018). Isolat bakteri *Pectobacterium* sp. dan bakteri *indigenous* UB *Forest* harus dilakukan peremajaan untuk mendapatkan bakteri yang aktif dan baru, sehingga dapat berkembangbiak dengan baik. Peremajaan dilakukan dengan cara mengambil satu ose dari bakteri hasil purifikasi. Kemudian, di streak secara tunggal dan penuh pada media NA. Hasil streak tersebut diinkubasi selama 24

sampai 48 jam untuk digunakan pada uji selanjutnya (Dualay, *et al.* 2015) yang dimodifikasi.

3.3.2. Uji Patogenitas *Pectobacterium* sp. pada Wortel

Isolat bakteri *Pectobacterium* sp. diuji patogenitas untuk mengetahui kemampuannya dalam menyebabkan penyakit busuk lunak pada wortel. Pengujian patogenitas dilakukan dengan cara permukaan wortel disterilisasi dengan melakukan perendaman dalam sodium hipoklorit 1% selama 10 menit, lalu alkohol 70%, kemudian cuci dengan aquades steril sebanyak tiga kali dan dikering anginkan.

Wortel dilubangi sebanyak dua lubang menggunakan ujung tip mikropipet, lalu diinokulasikan suspensi bakteri patogen *Pectobacterium* sp. pada konsentrasi 10^8 cfu/ml sebanyak 1 ml. Sementara itu, sebagai perlakuan kontrol wortel diberikan dua lubang untuk inokulasi dan diberikan aquadest sebanyak 1 ml. Selanjutnya, umbi wortel diinkubasi dalam wadah lembab pada suhu ruang selama 7 hari (Schaad *et al.*, 2001). Dilanjutkan uji hipersensitif pada tanaman tembakau dengan menyuntikkan suspensi bakteri *Pectobacterium* sp. yang muncul hasil uji patogenitas kedalam jaringan daun tembakau. Perkembangan gejala klorosis diamati hingga 4 hari (Fahy *et al.*, 1982). Hal ini dilakukan untuk membuktikan isolat bakteri patogen yang digunakan merupakan bakteri patogen.

3.3.3. Uji Seleksi Antagonis Bakteri *Indigenous* UB Forest secara *in Vitro*

Pengujian antagonis bakteri non-patogen dilakukan dengan metode pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Isolat bakteri *indigenous* UB Forest dibiakkan selama 24 jam dan diambil dengan jarum Ose sebanyak 1 Ose dibuat suspensi dalam 1 ml aquadest steril. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi bakteri antagonis \pm 1 menit dan ditiriskan selama 2 menit. Selanjutnya kertas saring yang sudah kering ditanam ditengah-tengah media NA pada cawan Petri dan diinkubasi 24 jam. Kemudian bakteri antagonis dimatikan dengan pemberian uap kloroform yang ditambahkan pada tutup biakan cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 menit. Setelah itu, biakan dikabutkan dengan suspensi bakteri *Pectobacterium* sp. yang telah diremajakan dan diinkubasi selama 24

jam pada konsentrasi 10^9 cfu/ml. Semua perlakuan tersebut diinkubasi selama 24, 48 jam kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter daerah hambat berupa zona bening yang dihasilkan oleh bakteri antagonis. Dua bakteri yang memiliki daya penghambat yang tinggi terhadap bakteri patogen *Pectobacterium* sp. dipilih untuk pengujian selanjutnya. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 4 ulangan.

Tabel 1. Perlakuan Uji Antagonis Bakteri *Indigenous* UB *Forest* terhadap *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro*

Kode	Perlakuan
P0	Kontrol aquadest
P1	Bakteri <i>Bacillus</i> sp. (N3)
P2	Bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. (N15)
P3	Bakteri <i>Pantoea</i> sp. (N23)
P4	Bakteri <i>Pantoea</i> sp. (N26)
P5	Bakteri <i>Clostridium</i> sp. (N10)
P6	Bakteri <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)
P7	<i>Streptomycin sulfat</i> 20%

3.3.4. Pembuatan Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous* UB *Forest*

Pembuatan ekstrak metabolit sekunder dilakukan berdasarkan metode Ahmed (2012) dengan menggosokkan dua isolat bakteri terpilih yang memiliki antagonisme yang tertinggi. Isolat tersebut diinkubasi pada media NB dan diinkubasi dalam *rotary shaking incubator* pada suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm selama 48 jam. Isolat bakteri yang tumbuh pada media NB dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit, setelah mendapatkan *supernatant* dipindahkan kedalam corong pemisah dan ditambahkan pelarut etil asetat (Muhsinin *et.al*, 2016) yang dimodifikasi. Larutan dikocok selama 15 menit, dan diamkan selama 20 menit (Kuntari *et.al*, 2017). Sehingga supernatant dapat dipisahkan dari *pellet* dengan menggunakan kertas saring *Wattman* No. 1 dan dipindahkan pada tabung baru yang steril. Ekstrak yang telah didapatkan kemudian di evaporasi menggunakan *rotary evaporator* sampai menghasilkan ekstrak kental. Hasil ekstrak kental dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya

3.3.5 Uji Penghambatan Senyawa Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous UB Forest* terhadap Bakteri *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro*

Pengujian penghambatan metabolit sekunder bakteri *indigenous UB Forest* menggunakan metode pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam ekstraksi metabolit sekunder bakteri antagonis \pm 1 menit dan ditiriskan selama 2 menit. Selanjutnya kertas saring yang sudah kering ditanam ditengah-tengah media NA pada cawan Petri dan diinkubasi 24 jam. Kemudian, pemberian uap kloroform yang ditambahkan pada tutup biakan cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 menit. Setelah itu, biakan dikabutkan dengan suspensi bakteri *Pectobacterium* sp. yang telah diremajakan dan diinkubasi selama 24 jam pada konsentrasi 10^9 cfu/ml. Semua perlakuan tersebut diinkubasi selama 24 dan 48 jam kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter daerah hambat berupa zona bening yang dihasilkan oleh senyawa metabolit sekunder bakteri *indigenous UB Forest* terhadap *Pectobacterium* sp.

Tabel 2. Perlakuan Uji Metabolit Sekunder

Kode	Perlakuan
P0	Kontrol aquadest
P1	Metabolit Sekunder <i>Bacillus</i> sp. (N3)
P2	Metabolit Sekunder <i>Xanthomonas</i> sp.(N25)
P3	<i>Streptomycin sulfat</i> 20%

Perlakuan dilakukan sebanyak 4 perlakuan dan diulang sebanyak 4 kali. Rancangan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.3.6 Uji Penekanan Penyakit Busuk Lunak Pada Umbi Wortel Oleh Bakteri *Indigenous UB Forest* Dan Senyawa Metabolit Sekunder

Bakteri *Indigenous UB Forest* dan metabolit sekundernya digunakan dalam menghambat *Pectobacterium* sp. pada umbi wortel merupakan hasil antagonisme bakteri *Indigenous UB Forest* dan metabolit sekunder terhadap *Pectobacterium* sp. secara *in vitro* yang menunjukkan hasil tertinggi. Uji penghambatan oleh bakteri *Indigenous UB Forest* dan metabolit sekunder bakteri *Indigenous UB Forest* terhadap *Pectobacterium* sp. mengacu penelitian (Haque *et al.*, 2009). Permukaan wortel

disterilisasi dengan melakukan perendaman dalam *sodium hipoklorit* 1% selama 10 menit, lalu alkohol 70%, kemudian cuci dengan aquades steril sebanyak tiga kali dan dikering anginkan. Wortel dilubangi sebanyak dua lubang menggunakan ujung tip mikropipet, lalu diinokulasikan suspensi bakteri *Indigenous UB Forest* dan supernatant metabolit sekunder masing-masing pada konsentrasi 50 µm pada umbi wortel yang berbeda kemudian dibiarkan selama 1-2 jam hingga kering. Selanjutnya, pada lubang yang sama diinokulasikan suspensi bakteri *Pectobacterium* sp. sebanyak 50 µm. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan.

Tabel 3. Perlakuan Uji Penekanan Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Wortel oleh Bakteri *Indigenous UB Forest* dan Metabolit Sekundernya.

Kode	Perlakuan
P0	Kontrol Aquadest
P1	Patogen <i>Pectobacterium</i> sp.
P2	Bakteri <i>Bacillus</i> sp. (N3)
P3	Bakteri <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)
P4	Metabolit Sekunder Bakteri <i>Bacillus</i> sp. (N3)
P5	Metabolit Sekunder Bakteri <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)
P6	<i>Streptomycin sulfat</i> 20%

3.4 Variabel Pengamatan

3.4.1. Indeks penghambatan Bakteri *Indigenous UB Forest* dan Metabolit Sekunder terhadap patogen *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro*

a. Pengamatan Zona Bening

Pengamatan berupa zona bening yang terbentuk akibat adanya hambatan dari bakteri dan senyawa metabolit sekunder dari bakteri *indigenous UB Forest* terhadap patogen *Pectobacterium* sp.: Diameter zona hambat adalah berupa daerah bening. Perhitungan indeks daya hambat (zona bening) yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder bakteri *indigenous UB Forest* dalam menghambat pertumbuhan

bakteri patogen *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro* dengan menggunakan rumus

(Rumopa, 2016):

$$I = \frac{B+A}{2}$$

Keretangan I = Indeks Zona Hambat

A = Diameter Horizontal, B = Diameter Vertikal

b Dokumentasi Luas Hambatan Bakteri *Indigenous* UB *Forest* dan Senyawa Metabolit Sekunder terhadap Patogen *Pectobacterium* sp.

Dokumentasi merupakan variabel kualitatif yang menjadi bukti kemampuan hambatan senyawa metabolit sekunder bakteri *indigenous* UB *Forest* terhadap patogen. Dokumentasi dilakukan pada 24 jam, 48 jam.

3.4.2. Variabel Pengamatan Uji Penghambatan pada Umbi Wortel

a. Massa Busuk Lunak pada Jaringan Umbi Wortel

Pengamatan penghambatan pada umbi wortel oleh isolat bakteri *indigenous* UB *Forest* dan senyawa metabolit sekundernya terhadap bakteri patogen *Pectobacterium* sp. dilakukan dengan menghitung massa busuk lunak pada jaringan umbi wortel. Umbi wortel diiris menjadi 2 bagian kemudian jaringan busuk yang dihasilkan oleh setiap perlakuan dikoret keluar dan ditimbang dengan timbangan analitik.

b. Penyusutan Berat Umbi Wortel

Penyusutan umbi wortel = $\frac{\text{Berat awal umbi (gram)} - \text{Berat akhir umbi (gram)}}{\text{Berat awal umbi (gram)}} \times 100\%$

c. Dokumentasi Busuk Lunak Akibat Aktivitas Bakteri Patogen *Pectobacterium* sp. pada Umbi Wortel

Dokumentasi merupakan variabel kualitatif yang menjadi bukti kemampuan hambatan senyawa metabolit sekunder bakteri *indigenous* UB *Forest* terhadap patogen. Dokumentasi dilakukan pada 7 hari setelah inokulasi.

3.5 Analisa Data

Data kuantitatif hasil pengujian dianalisis dengan sidik ragam (ANNOVA) tingkat signifikasi 5%. Apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dianalisis lanjut dengan uji DUNCAN tingkat signifikasi 5% dan dianalisis dengan *software Microsoft office excel* dan program SPSS ver. 20.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Patogenitas *Pectobacterium* sp. pada Umbi Wortel

Patogenitas pada umbi wortel dilakukan untuk membuktikan isolat bakteri patogen *Pectobacterium* sp. yang digunakan merupakan bakteri patogen penyebab penyakit busuk lunak dan menimbulkan gejala yang sama pada umbi wortel yang terinfeksi. Isolat bakteri tersebut diperoleh dari penelitian sebelumnya (Novia, 2019).

Hasil pengujian patogenitas menunjukkan bahwa isolat bakteri patogen yang diinokulasikan pada umbi wortel dapat menimbulkan gejala busuk lunak pada umbi wortel yang sehat (Gambar 2). Gejala yang ditimbulkan pada luka di permukaan umbi berupa perubahan warna menjadi kecoklatan disekitarnya, bertekstur lunak dan berair.

Didaerah permukaan terdapat bagian berwarna putih keruh yang disebabkan jaringan rusak. Luka yang muncul menimbulkan bau yang tidak sedap.



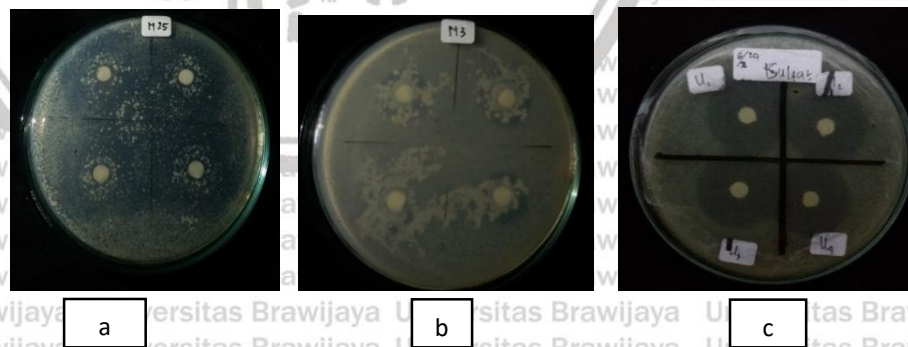
Gambar 2. Hasil Uji Patogenitas Patogen *Pectobacterium* sp. pada Umbi Wortel setelah 7 Hari Inokulasi. (a) Perlakuan Kontrol dengan Inokulasi Aquadest Steril; (b) Perlakuan dengan Inokulasi Patogen *Pectobacterium* sp.

Gejala busuk lunak yang terjadi pada umbi wortel adalah berubahnya warna umbi menjadi lebih gelap yaitu kecoklatan. Umbi selanjutnya mengalami perubahan struktur menjadi lebih lembek serta ditandai dengan keluarnya cairan dari umbi yang berwarna putih keruh dan berbau tidak sedap. Menurut Masao (1999), bagian tanaman yang terinfeksi atau luka akibat penyakit busuk lunak akan menjadi basah dan berair. Jaringan yang luka selanjutnya akan berwarna lebih gelap dibandingkan jaringan yang sehat. Infeksi selanjutnya akan menyebar sehingga tanaman busuk

secara keseluruhan. Kucharek *et al.*, 2000 menyatakan, perubahan struktur jaringan tersebut disebabkan karena adanya aktivitas enzim pektolitik bakteri yang dapat menghancurkan material pengikat diantara sel. Jaringan yang rusak selanjutnya akan mengeluarkan cairan berwarna putih keruh. Gejala serangan ditandai dengan munculnya bercak-bercak kecil berair tersebut kemudian berkembang menjadi kecoklatan dan mengeluarkan bau busuk (Hakim, 2010).

4.2 Seleksi Antagonis Bakteri *Indigenous UB Forest* secara *in Vitro*

Seleksi bakteri *indigenous UB Forest* yang didapatkan dari penelitian sebelumnya (Ariani, 2018) dilakukan dengan pengujian antagonis pada media *Nutrient Agar* (NA) di cawan Petri dengan menggunakan metode pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008) (Gambar 3). Sebanyak enam isolat bakteri dari hasil uji antagonis, diketahui mampu menghasilkan zona bening pada media NA ketika diujikan dengan bakteri patogen *Pectobacterium* sp. Berdasarkan hasil analisis ragam dapat diketahui bahwa semua perlakuan isolat bakteri *indigenous UB Forest* menunjukkan indeks penghambatan yang berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Pectobacterium* sp. (Lampiran tabel 1 dan 2). Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT pada taraf 5% (Tabel 4) keenam isolat bakteri *indigenous UB Forest* menghasilkan indeks penghambatan yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol aquadest maupun kontrol bakterisida berbahan aktif *Streptomycin sulfat* 20%.



Gambar 3. Uji Seleksi Antagonis Bakteri *Indigenous UB Forest* Terpilih pada Cawan Petri terhadap *Pectobacterium* sp. di Hari Ke-Dua (a) Isolat *Xanthomonas* sp. (N25); (b) Isolat *Bacillus* sp. (N3); (c) *Streptomycin Sulfat* 20%.

Tabel 4. Hasil Uji Penghambatan Bakteri *Indigenous* UB *Forest* terhadap *Pectobacterium* sp.

Perlakuan	Indeks Penghambatan Hari ke- (mm)	
	1	2
Isolat <i>Pseudomonassp.</i> (N15)	0,26b	0,25b
Isolat <i>Clostridium</i> sp. (N10)	0,25b	0,25b
Isolat <i>Pantoea</i> sp. (N26)	0,33c	0,33c
Isolat <i>Pantoea</i> sp. (N23)	0,43d	0,37d
Isolat <i>Bacillus</i> sp. (N3)	0,44d	0,50e*
Isolat <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)	0,62f	0,63f*
Kontrol <i>Streptomycin sulfat</i> 20%	0,53e	0,53e

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%, Notasi huruf merupakan hasil transformasi. Tanda (*) menunjukkan bakteri yang digunakan untuk pengujian selanjutnya. (N25) merupakan kode isolat bakteri.

Hal tersebut menunjukkan bahwa semua isolat bakteri *indigenous* UB *Forest* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro* dibandingkan dengan perlakuan kontrol menggunakan aquadest maupun bakterisida berbahan aktif *Streptomycin sulfat* 20%, namun hasil indeks penghambatan setiap isolat bakteri *indigenous* UB *Forest* berbeda-beda. Perbedaan indeks penghambatan setiap perlakuan isolat dapat disebabkan karena setiap isolat memiliki kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Dari beberapa genus yang memiliki indeks penghambatan terhadap patogen *Pectobacterium* sp. pada cawan Petri dipilih dua isolat bakteri antagonis yang berpotensi lebih tinggi dari isolat bakteri antagonis lain untuk menghambat patogen tersebut karena memiliki kandungan senyawa antibiotik yang mampu menghambat patogen yaitu bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25).

Isolat bakteri *Xanthomonas* sp. (N25) dapat mengeluarkan suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *Pectobacterium* sp., pada perlakuan isolat bakteri *Xanthomonas* sp. (N25) memiliki kemampuan penghambatan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol bakterisida berbahan aktif *Streptomycin sulfat*

20%, hal ini dikarenakan *Xanthomonas* sp. (N25) memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan patogen, pernyataan ini didukung oleh pernyataan Bononi, 2007 menyatakan bahwa bakteri *Xanthomonas* sp. menghasilkan suatu senyawa yang disebut bakteriocin. Bakteriocin merupakan zat yang diproduksi oleh bakteri yang mampu untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Menurut Vauterin, 1996 yang menyatakan bahwa terdapat bakteri *Xanthomonas* sp. yang bersifat non-patogen hal ini berdasarkan hasil uji asam lemak dan protein yang terkandung pada *Xanthomonas* non-patogen. Tudor, 1999 menyatakan bahwa *Xanthomonas perforan* dapat menghambat *Xanthomonas euvesicatoria* dikarenakan pada *X. perforan* memiliki senyawa bakteriosin.

Perlakuan *Bacillus* sp. (N3) dapat menghambat bakteri patogen *Pectobacterium* sp. karena memiliki senyawa penghambat, perlakuan isolat *Bacillus* sp. (N3) dalam menghambat patogen memiliki kemampuan yang setara dengan kontrol bakterisida berbahan aktif *Streptomycin sulfat* 20%. *Bacillus* sp. terlibat dalam pengendalian penyakit tanaman melalui berbagai mekanisme aksi, seperti kompetisi, induksi resistensi sistemik dan produksi antibiotik. Mekanisme antibiotik telah terbukti menjadi salah satu yang paling penting. Di antara beberapa antibiotik peptida, *Bacillus* sp. menghasilkan lipopeptida, yang memiliki senyawa dan berperan antagonisme.

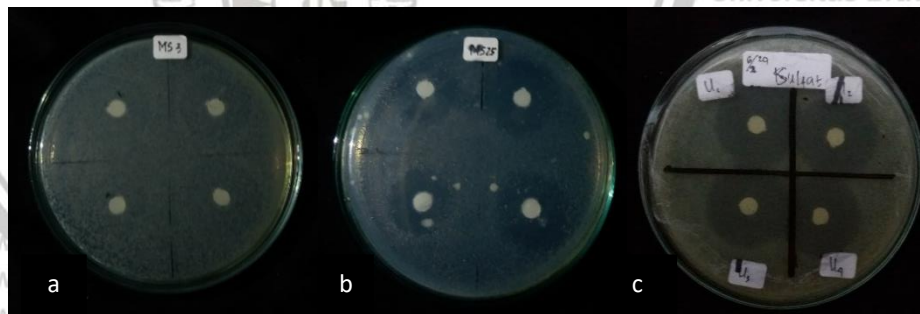
Korelasi yang ditemukan antara aktivitas hemolitik dan penghambatan pertumbuhan bakteri fitopatogenik menunjukkan bahwa lipopeptida terlibat dalam antagonisme (Monteiro, 2005). Selain itu didukung oleh pernyataan Stein (2005) menyatakan beberapa senyawa antimikroba juga dihasilkan oleh *Bacillus* sp. diantaranya senyawa basitrasin, basilin, basilomisin, difisidin, oksidifisidin, lesitinase, subtilisin.

Kemampuan mikroba dalam menghambat dan menghasilkan senyawa antimikroba dipengaruhi oleh suhu, pH, dan lama inkubasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kiranmayi et, al., 2011 menyatakan bahwa kemampuan suatu mikroba untuk menghasilkan senyawa bioaktif sangat dipengaruhi kandungan nutrisi dalam media dan faktor lingkungan seperti suhu, pH, dan lama inkubasi.

Kemampuan bakteri dalam menghasilkan suatu senyawa yang bersifat antagonis dipengaruhi oleh kemampuan komunikasi dengan bakteri lain yang disebut *Quorum sensing* (Hadiwiyono, 2010).

4.3 Potensi Antagonis Metabolit Sekunder terhadap *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro*

Penghambatan patogen *Pectobacterium* sp. oleh metabolit sekunder terpilih yaitu perlakuan isolat bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) pada media *Nutrien Agar* (NA) di cawan Petri dengan menggunakan metode pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008), dapat diketahui dari nilai indeks zona hambat yang dihasilkan masing-masing perlakuan. Kedua perlakuan isolat bakteri tersebut diperbanyak dan diekstrak metabolit sekundernya untuk mengetahui potensi senyawa metabolit sekunder dari isolat bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) dalam menghambat bakteri patogen *Pectobacterium* sp. secara *in Vitro*. Kedua metabolit sekunder bakteri tersebut mampu menghasilkan zona hambat pada media NA ketika diujikan dengan bakteri patogen *Pectobacterium* sp. Besar daya hambat senyawa metabolit sekunder bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) dapat dilihat dari indeks penghambatan terhadap patogen *Pectobacterium* sp.



Gambar 4. Hasil Uji Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous* UB Forest pada cawan Petri di Hari Ke Dua, (a) Metabolit Sekunder Isolat *Bacillus* sp. (N3); (b) Metabolit Sekunder Isolat *Xanthomonas* sp. (N25); (c) *Streptomycin Sulfat* 20%.

Tabel 5. Hasil Uji Penghambatan Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous UB Forest* Antagonis terhadap *Pectobacterium* sp.

Perlakuan	Indeks Penghambatan Hari ke- (mm)	
	1	2
Kontrol Aquadest	0,00a	0,00a
MS <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)	0,42b	0,53b
MS <i>Bacillus</i> sp. (N3)	0,52c	0,55b
Kontrol <i>Streptomycin sulfat</i> 20%	0,53c	0,53b

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. Notasi huruf merupakan hasil transformasi data. MS: Metabolit Sekunder. (N25) merupakan kode isolat bakteri.

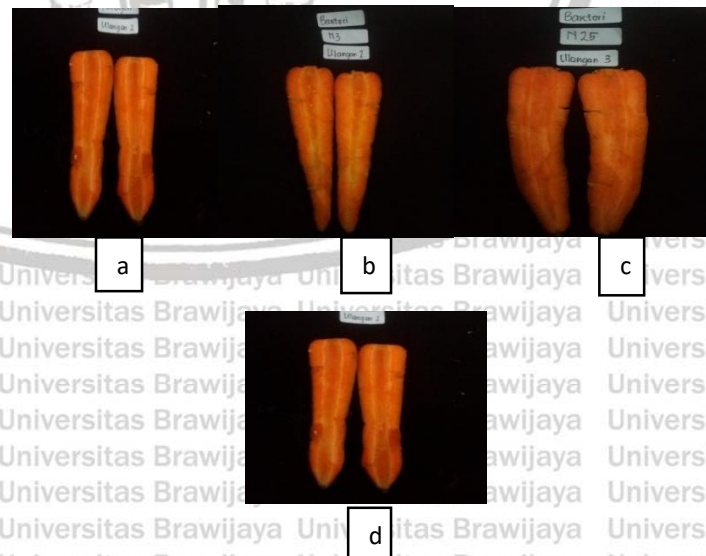
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa hasil penghambatan metabolit sekunder bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) berpengaruh nyata terhadap patogen *Pectobacterium* sp. (Lampiran tabel 3 dan 4). Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT pada taraf 5% (Tabel 5) pada hari ke-1 menunjukkan bahwa seluruh perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan aquadest, namun pada perlakuan metabolit sekunder isolat *Bacillus* sp. tidak berbeda nyata dengan kontrol *Streptomycin sulfat* 20%. Pada hari ke-2 seluruh perlakuan berbeda nyata dengan kontrol aquadest, namun seluruh perlakuan metabolit sekunder isolat bakteri tidak berbeda nyata dengan kontrol *Streptomycin sulfat* 20%. Perlakuan metabolit sekunder *Bacillus* sp. (N3) memiliki senyawa yang kemampuannya menyamai dengan kontrol *Streptomycin sulfat* 20%, dalam menghambat bakteri patogen *Pectobacterium* sp., berarti perlakuan isolate bakteri *Bacillus* sp. memiliki kemampuan yang sama besarnya dengan kontrol *Streptomycin sulfat* 20%. Menurut Stein (2005) menyatakan beberapa senyawa antimikroba juga dihasilkan oleh *Bacillus* sp. diantaranya senyawa basitrasin, basilin, basilomisin, difisidin, oksidifisidin, lesitinase, subtilisin.

Berdasarkan hal tersebut *Bacillus* sp. memiliki enzim amilase untuk memecah pati menjadi molekul glukosa sehingga dapat diserap oleh sel bakteri dan digunakan untuk proses metabolisme. Hal ini sesuai dengan Sopyan (2009) bahwa hasil hidrolisa pati digunakan sebagai sumber karbon untuk proses metabolismenya. Senyawa

antimikroba dalam konsentrasi yang rendah tidak dapat membunuh patogen akan tetapi dalam konsentrasi yang tinggi dapat membunuh patogen. Hal ini sesuai dengan Waluyo, 2010 menyatakan bahwa bahan anti mikrobal dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, dan dapat bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Ada lima kelas utama metabolit sekunder seperti terpenoid dan steroid, zat yang berasal dari asam lemak dan polyketide, alkaloid, polipeptida nonribosom, dan kofaktor enzim (Andriyukov *et al.*, 2019). Bakteri *Bacillus* sp. menghasilkan metabolit sekunder *Coagulin*, *Cerin* yang bersifat bakterisidal (Thirumurugan *et al.*, 2018).

4.4 Potensi Bakteri *Indigenous* UB Forest dan Metabolit Sekundernya terhadap Penyakit Busuk pada Wortel (Massa Busuk Lunak dan Susut Umbi)

Isolat bakteri dan metabolit sekundernya diujikan pada umbi wortel untuk mengetahui besarnya penekanan terhadap penyakit busuk lunak. Terdapat dua variabel yang diamati dalam pengujian ini, yaitu penurunan susut umbi dan massa busuk lunak. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa seluruh perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap susut umbi wortel (Lampiran tabel 6). Hasil uji lanjut DMRT pada taraf 5% (Tabel 6) menunjukkan bahwa seluruh perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol aquadest.



Gambar 5. Massa Busuk Lunak pada Umbi Wortel di Hari Ke Tujuh. (a) Metabolit Sekunder Isolat *Bacillus* sp. (N3); (b) Bakteri Isolat *Xanthomonas* sp. (N25); (c) Aquadest; (d) Patogen *Pectobacterium* sp.

Tabel 6. Hasil Uji Bakteri Indigenous UB Forest Antagonis dan Metabolit Sekundernya terhadap Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Wortel Setelah 7 HSI

Perlakuan	Massa Busuk Lunak (gram)	Susut Umbi Wortel (gram)
Patogen <i>Pectobacterium</i> sp.	0,36b	0,45a
Isolat <i>Bacillus</i> sp. (N3)	0,03a	0,70a
Isolat <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)	0,04a	0,60a
MS <i>Bacillus</i> sp. (N3)	0,02a	0,75a
MS <i>Xanthomonas</i> sp. (N25)	0,03a	0,71a
Kontrol <i>Streptomycin sulfat</i> 20%	0,01a	0,68a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%, Notasi huruf merupakan hasil transformasi data. MS: Metabolit Sekunder. (N25) merupakan kode isolat bakteri.

Hal ini menandakan bahwa keempat perlakuan tersebut mengalami penurunan umbi yang sama seperti perlakuan patogen *Pectobacterium* sp. Terdapat kecenderungan semakin lama pengondisian, maka semakin besar penurunan bobot umbi wortel. Hal ini disebabkan oleh kadar gula reduksi yang terakumulasi selama penyimpanan di suhu dingin dirombak menjadi pati dan terjadi peningkatan proses respirasi dan transpirasi sehingga umbi wortel melepaskan air dan karbon dioksida ke udara dalam ruangan. Hal ini juga menyebabkan berat umbi wortel menjadi semakin berkurang dan sesuai dengan hasil percobaan Apriantini, 2009 bahwa semakin lama umbi disimpan, maka semakin besar susut bobotnya. Berdasarkan hasil analisis ragam pada variabel massa busuk lunak, menunjukkan seluruh perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap pembusukan umbi wortel (massa busuk lunak) (Lampiran tabel 5).

Berdasarkan uji lanjut DMRT pada taraf 5% (Tabel 6) seluruh perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan patogen *Pectobacterium* sp., namun seluruh perlakuan isolat bakteri dan metabolit sekundernya tidak berbeda nyata sehingga perlakuan tersebut tidak berpengaruh terhadap massa busuk lunak umbi wortel. Walaupun secara statistik tidak berbeda nyata, namun ada kecenderungan bahwa

isolat bakteri menunjukkan penghambatan penyakit busuk basah pada ubi wortel yang relatif lebih baik dibandingkan dengan isolat yang lain. Hal ini dikarenakan bahwa isolat bakteri dan metabolit sekundernya memiliki senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *Pectobacterium* sp. selain itu konsentrasi yang digunakan dalam pengaplikasian di umbi wortel perlu diperhatikan, menurut Rastina *et al.*, 2015 menyatakan bahwa kemampuan antimikroba dalam menghambat tergantung pada konsentrasi dan jenis bahan antimikroba yang dihasilkan oleh organisme. Tidak adanya perbedaan antar perlakuan pada hasil busuk lunak dapat dipengaruhi oleh metode yang tidak cocok untuk diaplikasikan pada umbi wortel. Sedangkan busuk lunak pada umbi wortel dikarenakan adanya bakteri patogen *Pectobacterium* sp. yang memiliki senyawa berupa enzim pendegradasi. Menurut Kucharek *et al.*, 2000 menyatakan, perubahan struktur jaringan tersebut disebabkan karena adanya aktivitas enzim pektolitik bakteri yang dapat menghancurkan material pengikat diantara sel. Jaringan yang rusak selanjutnya akan mengeluarkan cairan berwarna putih keruh.

4.5 Metabolit Sekunder Bakteri Antagonis

Tabel dibawah ini merupakan kandungan senyawa metabolit sekunder bakteri antagonis yang telah diidentifikasi dan tabel antagonis bakteri terhadap patogen.

Tabel 7. Mtabolit Sekunder Bakteri yang Diidentifikasi Menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*)

Nama Isolat	Metabolit Sekunder/Jenis Antibiotic	Pustaka
<i>Bacillus</i> sp.	<p><i>Tropone, p-xylene, ethylbenzene, carbazic acid and, isocarboxazide formic acid, butyl ester, paraldehyde and dimethylfulvene, 2, 2-dimethylhexane-3-one and formic acid 2-methylpropyl, Ester, umaronitrile, phenylethylalcohol, benzyl, 2-chloroethyl sulfone, N-hydroxymethylmethyl-2-phenylacetamide,tropeolin,benzenebutyl,n-propylbenzene, phthalan, carbobenzoxyhydrazide and 1, 2-dimethyl benzene (1)</i></p> <p><i>Benzothiazole dan 4-ditert-butylthiophenol</i> adalah senyawa penghambat utama yang diproduksi oleh <i>B.subtilis</i> (2)</p> <p><i>3-metil-2-pentanon, 2-heptanon, 2-oktanon, 2-dekanon, 5-metil-2-heksanon, 2-nonanon, 2-dodecanone, 2-undecanone dan 5-methyl-2-heptanone dan 2-pentanon (3).</i></p> <p><i>2,3 butanedione, acetoin, 5-methyl-heptanone, 2-meth - ylpyridine, 2-pentanone, 2-heptanone dan 3-methylbutanol (4)</i></p>	<p>(1) Ajilogba, 2019</p> <p>(2) Gao et al., 2019</p> <p>(3) Li X-Y et., al. 2015</p> <p>(4) Asari et al. 2016</p>
<i>Xanthomonas</i> sp.	<i>Bakteriocin</i>	1. Bononi, 2007

Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas* sp. menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*) dapat berguna untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dan sifat yang dimiliki. Berdasarkan hasil identifikasi pada Tabel 7. menunjukkan bahwa

senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan kedua bakteri tersebut bersifat bakteriostatik yang berarti dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Dengan mengetahui senyawa yang terkandung didalam senyawa metabolit sekunder maka dapat diketahui manfaat yang terkandung, sehingga dapat digunakan dalam pengendalian hayati alternatif. Penggunaan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di bakteri antagonis memiliki kelebihan yaitu memiliki sifat non fitotoksik dan mudah terdegradasi (Syakir, 2011).

Tabel 8. Antagonisme Bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas* sp.

Nama Bakteri	Spesies	Antagonis terhadap			Pustaka
		Nama patogen	Nama penyakit	Inang	
<i>Bacillus</i> sp.	<i>B. subtilis</i> (1)	<i>Erwinia carotovora</i> , <i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Rhizoctonia</i>	Busuk Lunak Layu Bakteri Busuk	Wortel, Kentang, (<i>Solanacearum</i>)	(1) Istifadah <i>et al.</i> , 2016
	<i>B. cereus</i> (2)	<i>solani</i>	kerah Hawar Daun Bakteri Penyakit Layu	Bawang Merah Cabai Rawit	(2) Resti, 2013
	<i>B. megaterium</i> (2)	<i>Xanthomonas axonopodis</i> <i>Fusarium oxysporum</i>			
<i>Xanthomonas</i> sp.	<i>Xanthomonas perforan</i>	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	<i>Bacterial spot</i>	Tomat dan Cabai	Jones, 2004

Berdasarkan Tabel 8. menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas* sp. memiliki sifat antagonisme terhadap bakteri patogen. Pada bakteri *Bacillus* sp. memiliki beberapa spesies yang dapat menghambat patogen yaitu *B. subtilis* menghambat beberapa bakteri antarlain *E. carotovorum*, *R. solani*, dan *R. solanacearum*. *B. cearus* dapat menghambat pertumbuhan *X. axonopodis* penyebab hawar daun bakteri pada bawang merah. *B. megaterium* dapat menghambat pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman cabai rawit. Dan *X. perforan* dapat menghambat *X. euvesicatoria* penyebab *bacterial spot* pada tomat dan cabai (Jones, 2004). Dari beberapa bakteri antagonis selain dapat

menghambat pertumbuhan bakteri patogen, dapat menghambat pertumbuhan cendawan patogen. Sifat antagonisme kedua bakteri ini dapat dimanfaatkan untuk pengendalian hayati pada patogen seperti bakteri dan cendawan pada tanaman.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan yaitu:

1. Berdasarkan uji antagonis dari enam isolat bakteri *Indigenous UB Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Pectobacterium* sp. Terdapat dua isolat bakteri terpilih yaitu isolat bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25).
2. Penggunaan isolat bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) serta metabolit sekundernya mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Pectobacterium* sp. dalam cawan Petri. Namun penggunaan isolat bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) dan metabolit sekundernya tidak mampu menekan gejala penyakit busuk lunak pada umbi wortel.

5.2 SARAN

Penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai identifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam bakteri antagonis. Serta dapat dilakukan untuk menentukan metode yang tepat untuk pengaplikasian bakteri dan metabolit sekundernya di umbi wortel (*in Vivo*).

DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H. S. 2007. Pengaruh Sumber Mineral Terhadap Penekanan *Erwinia carotovora* oleh *Pseudomonas* pendar-fluor Secara In Vitro. Jurnal HPT Tropika. Volume 7. No. 2.
- Ahmed, N. 2012. Isolation and Identification of Secondary Metabolites Producing Organism from Marine Sponge. *Discovery*. 1, (1) : 14-17.
- Agrios, G.N., 2005, *Plant Pathology*, Fifth edition, Academic press.
- Arsenjevic & Simic, Jelena. 1997. Connection Between Organization Culture And Development Of Achievement Motive Of Student Of The Faculty Of Management. *Educational reseach and review*. vol 6 pp 481-488.
- Ariani, N. 2018. Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Polikultur Kopi dan Pinus dengan Penggunaan Herbisidada Tanpa Herbisida di Hutan Pendidikan UB *Forest*. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Apriantini, A. 2009. Kandungan β Karoten, Sifat Fisik dan Kimia Serta Mutu Organoleptik Pada Wortel (*Daucus carota* L.) Organik dan Non-Organik Selama Penyimpanan Suhu Dingin. [Skripsi]. Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor. Hlm 2-16.
- Asari S, Matzén. S, Petersen. MA, Bejai. S, Meijer J.2016. Multiple effects of *Bacillus amyloliquefaciens* volatile compounds: plant growth promotion and growth inhibition of phytopathogens. *FEMS Microbiol Ecol* 92:fiw070
- BPS. 2019. Produksi, luas panen, dan produktivitas wortel di Bali. <http://www.bappenas.go.id/index.php?module=ContentExpress&funcdisplay&ceid=2019&meid=> diakses tanggal 29 Oktober 2019.
- Bhat, K.A., S.D. Masood., N.A. Bhat., M.A. Bhat. and S.M. Razvi. 2010. Current status of post harvest soft rot in vegetables: A *Review*. *Asian Journal of Plant Sciences* : 1-9.
- Bidlack, W.R. and Wang. W, 2000, Designing Functional Foods to Enhance Health, in W.R. Bidlack, S.T. Omaye, M.S. Meskin & D.K.W. Topham (Eds.). *Phytochemicals as Bioactive Agents* (pp. 241-270), Lancaster: Teclmomic Publishing Company.
- Bonini. M., Maringoni. C.A., Neto.R. J. 2007. Characterization of *Xanthomonas* sp. strain by bacteriocins. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.1, p.24-29, 2007.
- Andryukov. B.G, V.V. Mikhailov., N.N. Basednova. 2019. The Biotechnological Potential of Secondary Metabolites From Marine Bacteria. Institute of Bioorganic Chemistry. Russia.
- Chin-a-Woeng, Bloemberg.GV. Lugtenberg. BJJ. 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist* 157, 503-23.

Daulay, D.M., Aini. L. Q. Akhid. S.M. 2015. Potensi Bakteri Bermanfaat dari Lumpur Sidoarjo untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak *Erwinia* sp.pada Umbi Kentang. Jurnal HPT Vol 3 No. 2 ISSN:2338-4336.

Fatonah, W. 2002. Optimasi Selai dengan Bahan Baku Wortel. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Gao, F., Zhao, X.X., Yan, H., Lei, Z.H., Wang, M.L., Qin, X.M., 2019. Screening and identification of antagonistic *Bacillus* against *Astragalus membranaceus* root rot and its effect on microorganism community in root zone soil. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 44(18), 3942-3947.

Gonzalez, J.E & Marketon, M.M. 2003. Quorum sensing in Nitrogen-Fixing Rhizobia. *Microbiol Mol Biol.Rev* 67: 574- 592.

Haque, M.M., Kabir., M.S. Aini., Q. L. H. Hirata, dan S. Tsuyumu. 2009. SlyA, a MarR Family Transcriptional Regulator, is Essential for Virulence in *Dickeya dadantii* 3937. *Jurnal Bacteriol*. 191(17):5409-5418.

Hadiwiyono. 2010. Penyakit darah pada tanaman pisang: Infeksi dan keanekaragaman genetica pathogen. [Disertasi]. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.

Hardiyanto. 2010. Pengujian Ketahanan Anggrek *Phalaenopsis* Terhadap Penyakit Busuk Lunak Yang Disebabkan Oleh *Erwinia Carotovora* secara *In Vitro*. *Skripsi*. IPB. Bogor

Iswanto. H. 2001. Anggrek *Phalaenopsis*. Jakarta. Agro Media Pustaka

Istifadah. N. Sudrajat. Djaya., L. Umar., M., S. 2016. Kemampuan Bakteri Endofit Akar dan Ubi Kentang untuk Menekan Penyakit Busuk Lunak (*Erwinia carotovora* pv. *carotovora*) pada Ubi Kentang. *Jurnal Agrikultura* 2016, 27 (3): 167-172

Javandira. C., Aini. Q. L., Abadi. L. A. 2013. Pengendalian Penyakit Lunak Umbi Kentang (*Erwinia carotovora*) Dengan Memanfaatkan Agens Hayati *Bacillus subtilis* dan *Pseudomas fluorescens*. *Jurnal HPT* Volume 1 No. 1. Universitas Brawijaya. Malang.

Joko, T., D. Kiswanti, S. Subandiyah. Hanudin. 2011. Occurence of Bacterial Soft Rot of *Phalaenopsis* Orchids in Yogyakarta and West Java, Indonesia, p. 255– 265. In Y. Koentjoro (ed.), *Proceeding of Internasional Seminar on “Natural Resources, Climate Change, and Food Security in Developing Countries”*. 27–28 June 2011. Surabaya, Indonesia.

Jones, J. B., Lacy.G. H. Bouzar H., R. E. Stall, and Schaad. N. W. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Syst. Appl. Microbiol*. 27:755-762.

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

Kiranmayi, MU, Sudhakar, P., Sreenivasulu, K., Vijayalakshmi, K. 2011. Optimization of culturing conditions for improved production of bioactive metabolites by *Pseudonocardia* sp. VUK-10. *Mycobiology* 39, 174-81

Kucharek, T. and J. Bartz. 2000. Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops. Plant Pathology Fact Sheet. [Cited: 4.2.2014]. Available from: <http://plantpath.ifas.ufl.edu/extension/factsheets/pdfs/pp0012.pdf>

Kuntari, Z., Sumpono., Nurhamidah. 2017. Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Akar Tanaman *Moringa oleifera* L. (Kelor). *ALOTROP Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 1(2):80-84.

Lenny, S. 2006. Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida. *Skripsi*. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara, Medan.

Li X-Y, Mao Z-C, Wu Y-X, Ho H-H, He Y-Q .2015. Comprehensive volatile organic compounds profiling of *Bacillus* species with biocontrol properties by head space solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Biocontrol Sci Technol* 25:132–143

Malasari. 2005. Sifat Fisik dan Organoleptik nugget ayam dengan penambahan wortel (*Daucus carota* L.). *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Masao, G. 1999. Fundamental of Bacterial Plant Pathology. California: Academic Press.

Makmun, C. 2007. Wortel Komoditas Ekspor yang Gampang Dibudidayakan. *Hortikultura*: hal. 32

Muhsinin, et al. 2016. "Isolation of Endophytic Bacteria from Plant Basil (*Ocimum sanctum* L.) as Antibacterials Against *Staphylococcus aureus*". *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS)*, 3, (4) : 92-96

Monteiro, L. 2005. Antagonism of *Bacillus* spp. Against *Xanthomonas campestris* pv. *Campetris*. *Braz.arch.biol. technol*.vol.48.no. 1 Curitiba.

Mohammed, B. 2014. Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Annona muricata* L. leaf extract. *American Journal Biology Chemistry Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 1-7.

Novia, A. 2019. Potensi Bakteri Rhizosfer UB *Forest* dan Metabolit Sekundernya Untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak (*Erwinia* sp.) pada Umbi Wortel. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

- Rastina, S. M. dan Wientarsih, I. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metano I Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol9(2):185-188.
- Rumopa, P.M.E., H. Awaloei, C. Mambo. 2016. Uji Daya Hambat Biji Pala (*Myristicae fragrans*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal e-Biomedik(eBm)*; 4(2).
- Santoso. B., B. Nikmatullah. A., Zawani., K. 2018. Pengenalan Budidaya Tanaman Wortel (*Daucus carota* L.) Dataran Medium di Desa Santong Kabupaten Lombok Utara. Program Studi Agroekoteknologi. Fakultas Pertanian. Universitas Mataram
- Sagala US. 1998. Uji potensi antagonisme *Pseudomonas fluoescens* (isolat UKa dan UKd) terhadap *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman kubis (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) [Skripsi]. Bogor: Faklutas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Saifudin. A. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Yogyakarta. Deepublish.
- Syagir, M. 2015. Status penelitian pestisida nabati Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan. Seminar Nasional Pestisida Nabati IV, Jakarta, Oktober 2011
- Schaad, N., J. Jones dan W. Chun. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd Edition. APS Press. Amerika. Hal 1-71.
- Stein., T.2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Mol Microbiol* 56:845–857
- Sopyan, A. S. 2009. Karakterisasi Fisiologi dan Identifikasi Molekular Isolat *Bacillus* spp. Penghasil Bakteriosin Asal Hutan Wana Wisata Cangkuang. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Thirumurugan.D., Cholarajan, A. Vijayakumar., R. Raja. S.S. S. 2018. An Introductory Chapter: Scendary Metabolites. DOI:10.5772/intechopen.79766
- Tudor, S. M. 1999. Molecular characterization of bacteriocin-like activity in tomato racethree strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. PhD Dissertation. University of Florida, Gainesville, FL.
- Vauterin, I., Haste, B., Kersters, K., Swings, J.: 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 472-489
- Waluyo, L. 2009. Mikrobiologi Lingkungan. UMM Press
- Widiantini. F., Yulia. E., Nasahi. C., 2018. Potensi Antagonisme Senyawa Metabolit Sekunder Asal Bakteri Endofit dengan Pelarut Metanol terhadap Jamur *G. boninense* Pat.

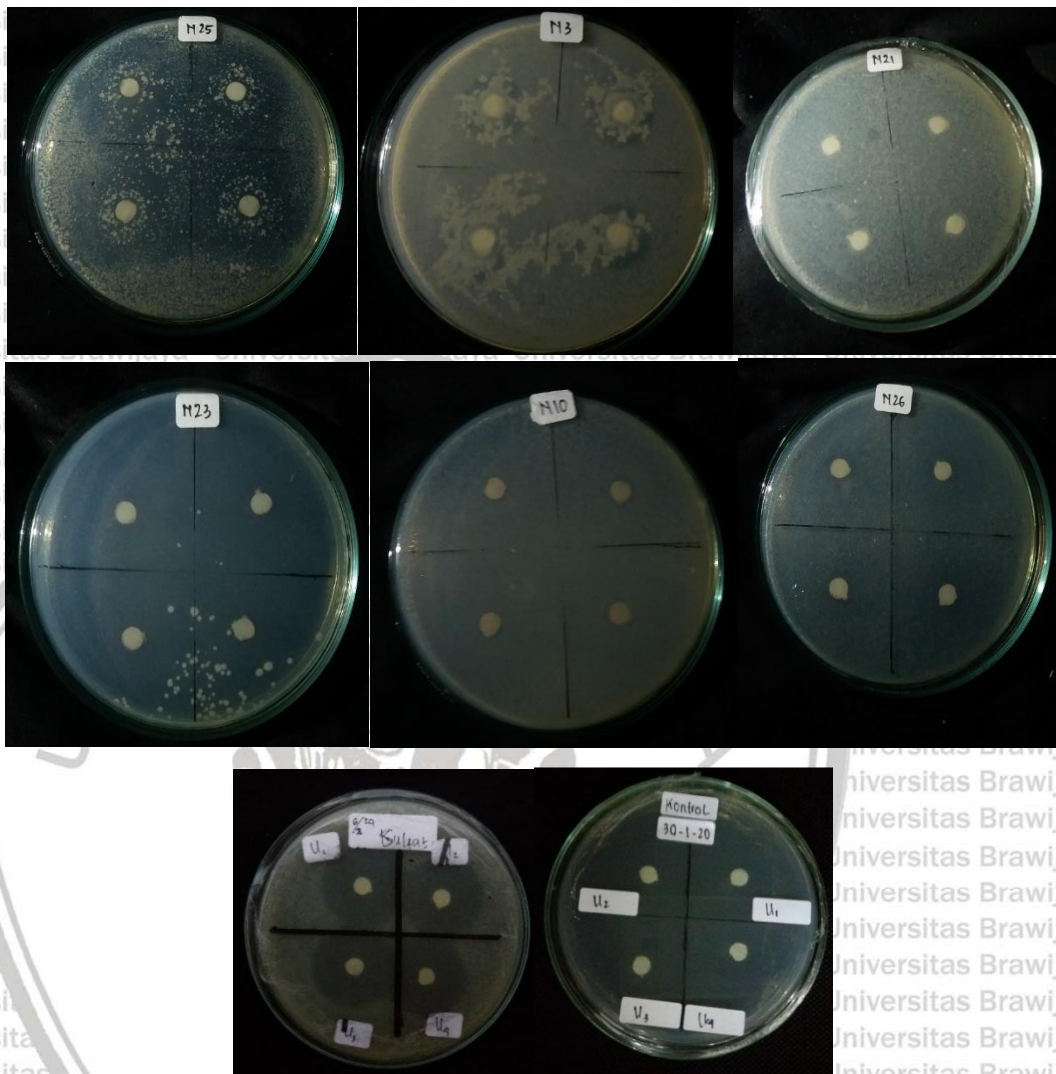
LAMPIRAN



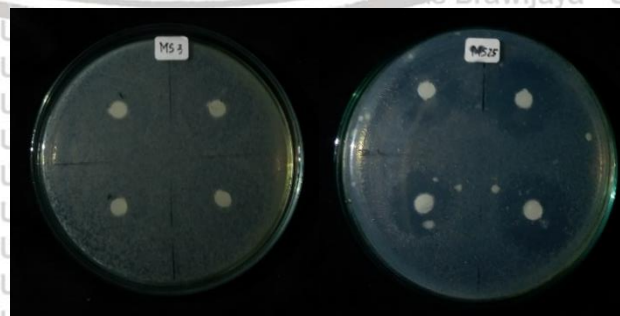
Gambar Lampiran 1. Hasil Uji Hipersensitif Bakteri Patogen *Pectobacterium* sp. pada Tembakau (7 Hari Setelah Inokulasi)



Gambar Lampiran 2. Hasil Uji Patogenitas *Pectobacterium* sp. pada Umbi Wortel (7 Hari Setelah Inokulasi)



Gambar Lampiran 3. Hasil Seleksi Antagonis Bakteri *Indigenous* UB Forest pada Media Nutrient Agar (NA) (48 Jam)



Gambar Lampiran 4. Hasil Uji Antagonis Metabolit Sekunder Isolat Bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) (48 Jam)



Gambar Lampiran 5. Hasil Uji Bakteri dan Metabolit Sekunder Isolat Bakteri *Bacillus* sp. (N3) dan *Xanthomonas* sp. (N25) pada Umbi Wortel (7 Hari Setelah Inokulasi)

Tabel Lampiran 1. Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Bakteri *Indigenous UB Forest* Hari Ke-1

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	7	1,045	0,149	210,924	2,42	3,50
Galat	24	0,017	0,001			
Total	31	1,062				

Keterangan: apabila nilai F Hitung > F Table maka berbeda nyata

Tabel Lampiran 2. Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Bakteri *Indigenous UB Forest* Hari Ke-2

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	7	1,117	0,160	182,132	2,42	3,50
Galat	24	0,021	0,001			
Total	31	1,138				

Keterangan: apabila nilai F Hitung > F Table maka berbeda nyata

Tabel Lampiran 3. Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous UB Forest* Hari Ke-1

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	3	0,762	0,254	357,619	3,49	5,95
Galat	12	0,009	0,001			
Total	15	0,770				

Keterangan: apabila nilai F Hitung > F Table maka berbeda nyata

Tabel Lampiran 4. Analisis Ragam Indeks Penghambatan Seleksi Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri *Indigenous UB Forest* Hari Ke-2

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	3	0,887	0,296	317,124	3,49	5,95
Galat	12	0,011	0,001			
Total	15	0,898				

Keterangan: apabila nilai F Hitung > F Table maka berbeda nyata

Tabel Lampiran 5. Analisis Ragam Busuk Lunak Umbi Wortel

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	6	0,409	0,068	13,314	2,57	3,81
Galat	21	0,107	0,005			
Total	27	0,672				

Keterangan: apabila nilai F Hitung > F Table maka berbeda nyata

Tabel Lampiran 6. Analisis Ragam Penurunan Berat Umbi Wortel

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	6	0,235	0,039	0,949	2,57	3,81
Galat	21	0,865	0,041			
Total	27	1,099				

Keterangan: apabila nilai F Hitung > F Table maka berbeda nyata

