POTENSI KONSORSIUM RIZOBAKTERI DARI TUMBUHAN SOLANACEAE DI UB *FOREST* SEBAGAI BIOPROTEKTAN DAN BIOSTIMULAN PADA TANAMAN TOMAT

Oleh:

ASNA AINUL HAYATI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

MALANG

2018

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

POTENSI KONSORSIUM RIZOBAKTERI DARI TUMBUHAN SOLANACEAE DI UB *FOREST* SEBAGAI BIOPROTEKTAN DAN BIOSTIMULAN PADA TANAMAN TOMAT

OLEH

ASNA AINUL HAYATI

145040207111062

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
2018

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, 31 Desember 2018

Asna Ainul Hayati

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian	: Potensi Konsorsium Rizobakteri dari Tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* sebagai Bioprotektan dan Biostimulan pada Tanaman Tomat
Nama Mahasiswa	: Asna Ainul Hayati
NIM	: 145040207111062
Jurusan	: Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	: Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Lugman 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 Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.

NIP. 19551018 198601 2 001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I	Penguji II
Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS. NIP. 19590705 198601 1 003	Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. NIK. 201409 880504 2 001
Penguji III	**Penguji IV**
Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. NIP. 19720919 199802 1 001	Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

Skripsi ini kupersembahkan untuk

Kedua orang tua tercinta, kedua kakak dan adikku tersayang

TERIMAKASIH atas doa dan dukungannya, serta

Teman sekaligus Sahabat terbaik

(NELY & HERNI)

TERIMAKASIH karena telah berjuang bersama

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

Asna Ainul Hayati. 145040207111062. Potensi Konsorsium Rizobakteri dari Tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* sebagai Bioprotektan dan Biostimulan pada Tanaman Tomat. Di bawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc. Sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.

Tomat merupakan salah satu komoditas hortikultura yang banyak diminati dan memiliki nilai ekonomi tinggi. Kendala terhadap produksi tanaman tomat salah satunya diakibatkan oleh serangan patogen *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman tomat. Pengendalian yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan konsep PHT, berupa pemanfaatan agens hayati. Agens hayati dalam penelitian ini diisolasi dari daerah perakaran tumbuhan Solanaceae di UB *forest* yaitu cepoka dan kecubung. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat rizobakteri dalam bentuk tunggal dan konsorsium untuk mengendalikan penyakit layu bakteri dan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat.

Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Oktober 2018 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan di lahan pengamatan yang berada di Desa Dadaprejo, Junrejo, Kota Batu. Hasil eksplorasi dilakukan seleksi sebagai agens antagonis dan PGPR. Karakteristik dari bakteri PGPR ialah bakteri yang mampu melarutkan fosfat dan menambat N. Tiga isolat bakteri terpilih dilakukan uji dalam bentuk isolat tunggal dan formulasi konsorsium, serta perlakuan kontrol negatif menggunakan aquades steril dan kontrol positif dengan bakterisida streptomisin sulfat 20%. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan parameter pengamatan berupa kemampuan penghambatan rizobakteri terhadap *R. solanacearum* dan secara *in vivo* berupa pengamatan persentase kejadian penyakit, efektivitas mikroba serta pertumbuhan tanaman tomat. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan dan 4 ulangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiga isolat bakteri yang telah diidentifikasi yaitu isolat bakteri KC 5 diketahui sebagai *Bacillus* sp., KC 20 merupakan *Pseudomonas* sp., dan CP 20 diketahui berasal dari genus *Pantoea* sp. Dari hasil pengujian secara *in vitro* diketahui konsorsium mikroba antagonis secara nyata mampu menghambat pertumbuhan patogen *R. solanacearum*, akan tetapi tidak memberikan pengaruh dalam menekan kejadian penyakit layu bakteri secara *in vivo*. Sementara itu, hasil penelitian terhadap pertumbuhan tanaman tomat di lapang menunjukkan perlakuan konsorsium antara *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. mampu meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah daun. Sedangkan untuk perlakuan isolat tunggal, hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan *Bacillus* sp. dalam meningkatkan tinggi tanaman dan isolat *Pantoea* sp. dalam meningkatkan jumlah daun tanaman tomat.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

SUMMARY

Asna Ainul Hayati. 145040207111062. Potential of Rizobacterial Consortium from Solanaceae Plant in UB *Forest* as Bioprotectant and Biostimulant on Tomato Plants. Under the guidance of Luqman Qurata Aini, SP. M.Sc. Ph.D. as Main Advisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc. As a Counselor Advisor.

Tomatoes are one of the most popular horticultural commodities and have high economic value. One of the constraints on the production of tomato plants is caused by the attack of the pathogen R. solanacearum which causes bacterial wilt in tomato plants. Control that can be done is by using the concept of IPM, in the form of utilization of biological agents. The biological agent in this study was isolated from the Solanaceae plant roots in UB *forest*, namely cepoka and kecubung. This study aims to obtain rhizobacterial isolates in a single form and consortium to control bacterial wilt disease and to increase the growth of tomato plants.

The study was conducted in March to October 2018 at the Plant Disease Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Brawijaya and on the observation field located in Dadaprejo Village, Junrejo, Batu City. The exploration results were selected as antagonist agents and PGPR. Characteristics of PGPR bacteria are bacteria capable of dissolving phosphate and anchoring N. Three selected bacterial isolates were tested in the form of single isolates and consortium formulations, and negative control treatment using sterile distilled water and positive control with bactericidal streptomycin sulfate 20%. Tests were carried out in vitro with observational parameters in the form of the ability to inhibit rhizobacteria against R. solanacearum and in vivo by observing the percentage of disease incidence, microbial effectiveness and growth of tomato plants. The study used a Randomized Block Design (RBD) with 9 treatments and 4 replications.

The results showed that three bacterial isolates identified were KC 5 bacterial isolates known as *Bacillus* sp., KC 20 were *Pseudomonas* sp., And CP 20 was known to originate from the genus *Pantoea* sp. From the results of in vitro testing it is known that the consortium of microbial antagonists is actually able to inhibit the pathogen growth of R. solanacearum, but it has no effect in suppressing the incidence of bacterial wilt in vivo. Meanwhile, the results of research on the growth of tomato plants in the field show the treatment of the consortium between *Pseudomonas* sp. and *Pantoea* sp. able to increase plant height and number of leaves. As for the treatment of single isolates, the best results were shown by the treatment of *Bacillus* sp. in increasing plant height and isolates of *Pantoea* sp. in increasing the number of leaves of tomato plants.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skipsi dengan judul "Potensi Konsorsium Rizobakteri dari Tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* sebagai Bioprotektan dan Biostimulan pada Tanaman Tomat". Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas segala bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak yang telah membantu penelitian ini, terutama kepada:

1. Kedua orang tua, keluarga, dan semua saudara yang telah memberikan doa serta dukungan untuk kesuksesan penulis sampai saat ini.
2. Bapak Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. dan ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. atas segala kesabaran, nasehat, arahan, dan bimbingannya dalam penyelesaian skripsi.
3. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
4. Seluruh dosen Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas ilmu dan arahan yang diberikan.
5. Staff karyawan jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas fasilitas, bimbingan dan bantuan yang diberikan.
6. Seluruh keluarga Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan 2014 terutama keluarga Laboratorium Penyakit Tumbuhan I yang telah banyak mendukung penulis selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak serta bisa memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, 31 Desember 2018

Penulis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Nganjuk, 16 Juli 1996 dari pasangan bapak Rasimin dan ibu Darwati. Penulis menempuh pendidikan di TK Khadijah pada tahun 2001 sampai 2002, pendidikan sekolah dasar di SDN Sidoharjo VI pada tahun 2002 sampai 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMPN 1 Tanjunganom pada tahun 2011, dan pendidikan sekolah menengah atas diselesaikan di SMAN 1 Tanjunganom pada tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur melalui jalur Seleksi Program Minat dan Kemampuan (SPMK).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi Asisten praktikum mata kuliah Bioteknologi Pertanian pada tahun 2017. Penulis aktif dalam organisasi fakultas yaitu CADS (*Center for Agriculture Development Studies*) sebagai Anggota Muda periode 2016-2017. Penulis pernah aktif sebagai panitia tingkat fakultas meliputi kegiatan Program Orientasi Studi Terpadu (POSTER) FP UB sebagai divisi kesehatan tahun 2015, *Teaching Farm* CADS sebagai divisi HUMDAN (Hubungan masyarakat dan Dana Usaha) tahun 2016, Pengabdian Masyarakat CADS sebagai divisi Konsumsi tahun 2016, Studi lapangan CADS sebagai Sekretaris Pelaksana tahun 2016. Penulis juga pernah aktif dalam kepanitiaan yang diselenggarakan oleh HIMAPTA (Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman) FP UB meliputi kegiatan EKSPEDISI (Eksplorasi, Potensi dan Kreativitas) sebagai Sekretaris Pelaksana 1 tahun 2017, acara PPO (*Plant Protection Olympiad*) sebagai divisi konsumsi tahun 2017 dan kegiatan PROTEKSI (Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian) sebagai Sekretaris Pelaksana 2 pada tahun 2017.

Penulis pernah mendapatkan beasiswa PPA (Program Prestasi Akademik) Universitas Brawijaya periode 2016-2017 dan 2017-2018. Pada tahun 2017 penulis pernah melaksanakan kegiatan magang kerja di Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya sebagai Asisten Laboratorium Biomolekuler.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN i
SUMMARY ii
KATA PENGANTAR iii
RIWAYAT HIDUP iv
DAFTAR ISI v
DAFTAR TABEL vii
DAFTAR GAMBAR ix
I. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Hipotesis Penelitian 3
1.5 Manfaat Penelitian 4
II. TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Tanaman Tomat 5
2.2 Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat 6
2.3 Kondisi Wilayah UB *Forest* 10
2.4 Tumbuhan Famili Solanaceae 11
2.5 Rizobakteri 14
2.6 Konsorsium Mikroba Antagonis 17
III. METODE PENELITIAN 19
3.1 Kerangka Operasional Penelitian 19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian 20
3.3 Alat dan Bahan Penelitian 20
3.4 Rancangan Penelitian 20
3.5 Persiapan Penelitian 21
3.6 Variabel Pengamatan 31
3.7 Analisis Data 33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 34
4.1 Eksplorasi dan Isolasi Rizobakteri pada Tumbuhan Famili Solanaceae di UB *Forest* 34
4.2 Seleksi Rizobakteri sebagai PGPR dan Agens Antagonis 34
4.3 Isolasi Bakteri Patogen *R. solanacearum* dan Uji Patogenisitas 38
4.4 Uji Hipersensitif 40
4.5 Identifikasi Bakteri 42
4.6 Uji Antagonis Konsorsium Rizobakteri tumbuhan Solanaceae terhadap Pertumbuhan *R. solanacearum* pada Cawan Petri 50

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4.7 Uji Penekanan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat di Lahan Pengamatan 53
4.8 Variabel Pengamatan terhadap Pertumbuhan Tanaman Tomat 56
V. KESIMPULAN DAN SARAN 61
5.1 Kesimpulan 61
5.2 Saran 61
DAFTAR PUSTAKA 62
LAMPIRAN 72

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Nomor Halaman

Teks

1. Perlakuan uji antagonisme konsorsium rizobakteri tumbuhan famili Solanaceae terhadap *R. solanacearum*.....21
2. Hasil seleksi bakteri yang mampu melarutkan fosfat pada media Pikovskaya 35
3. Hasil seleksi bakteri yang mampu menambat nitrogen pada media Burk 37
4. Hasil seleksi rizobakteri dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* setelah 24 jam inokulasi 38
5. Hasil karakterisasi rizobakteri tumbuhan Solanaceae..... 42
6. Hasil uji antagonisme konsorsium bakteri antagonis terhadap pertumbuhan *R. solanacearum* pada cawan Petri 50
7. Persentase rerata kejadian penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* pada tanaman tomat..... 54
8. Persentase efektivitas mikroba antagonis terhadap penyakit layu bakteri pada tanaman tomat 55
9. Hasil rerata tinggi tanaman tomat setelah inokulasi pathogen *R. solanacearum* 57
10. Hasil rerata jumlah daun tanaman tomat setelah inokulasi patogen *R. solanacearum*..... 59

Lampiran

1. Analisis ragam hasil uji antagonisme konsorsium mikroba antagonis terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* pada cawan Petri (24 jam setelah inokulasi)..... 73
2. Analisis ragam hasil uji antagonisme konsorsium mikroba antagonis terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* pada cawan Petri (48 jam setelah inokulasi)..... 73
3. Analisis ragam persentase kejadian penyakit layu bakteri pada tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan kedua..... 73
4. Analisis ragam persentase kejadian penyakit layu bakteri pada tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan ketiga 73
5. Analisis ragam persentase kejadian penyakit layu bakteri pada tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan keempat..... 73
6. Analisis ragam persentase kejadian penyakit layu bakteri pada tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan kelima 74

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

7. Analisis ragam tinggi tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan pertama 74
8. Analisis ragam tinggi tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan kedua 74
9. Analisis ragam tinggi tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan ketiga 74
10. Analisis ragam tinggi tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan keempat 74
11. Analisis ragam tinggi tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan kelima 74
12. Analisis ragam jumlah daun tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan pertama 75
13. Analisis ragam jumlah daun tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan kedua 75
14. Analisis ragam jumlah daun tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan ketiga 75
15. Analisis ragam jumlah daun tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan keempat 75
16. Analisis ragam jumlah daun tanaman tomat di lahan pengamatan pada pengamatan kelima 75
17. Karakteristik morfologi dan diameter zona hambat rizobakteri dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* setelah 24 jam inokulasi 76
18. Deskripsi tanaman tomat varietas Permata 77

repository.ub.ac.id

DAFTAR GAMBAR

Nomor Halaman

Teks

1. Buah Tanaman Tomat 6
2. Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh patogen *Ralstonia solanacearum* 7
3. Koloni *Ralstonia solanacearum* pada media TTC setelah diinkubasi selama 48 jam pada temperatur 30 ºC 9
4. Tumbuhan Cepoka 12
5. Tumbuhan Kecubung 14
6. Kerangka Operasional Penelitian 19
7. Identifikasi bakteri hingga tingkat genus menurut Bergey's Manual Determinative Bacteriology 28
8. Uji antagonisme menggunakan metode spray pada media NA 29
9. Denah rancangan percobaan di lahan pengamatan 31
10. Hasil Seleksi isolat bakteri pelarut fosfat pada media Pikovskaya dengan masa inkubasi 48 jam 36
11. Hasil seleksi bakteri penambat N pada media Burk dengan masa inkubasi 48 jam 37
12. Koloni bakteri patogen *R. solanacearum* pada pengamatan 48 jam 39
13. Hasil uji patogenisitas *R. solanacearum* pada tanaman tomat usia 3 Minggu Setelah Tanam (MST) 40
14. Hasil uji hipersensitif isolat bakteri antagonis pada daun tembakau pada pengamatan 72 jam 41
15. Karakteristik morfologi koloni tunggal bakteri antagonis pada masa inkubasi 48 jam 43
16. Hasil pengujian KOH 3% pada beberapa isolat bakteri antagonis 44
17. Hasil uji katalase pada isolat bakteri KC 20 44
18. Hasil pengujian Gram pada isolat antagonis 45
19. Pewarnaan endospora isolat KC 5 46
20. Hasil pengujian oksidatif-fermentatif isolat bakteri KC 5 yang bersifat antagonis 47
21. Uji pigmen fluorescens 48
22. Pertumbuhan koloni isolat bakteri CP 20 pada media YDC 48
23. Zona bening yang dihasilkan oleh setiap perlakuan setelah 24 jam inkubasi. 51

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran

1. Hasil perbanyakan 48 isolat rizobakteri tumbuhan Solanaceae 78
2. Hasil pengenceran rizobakteri tumbuhan Solanaceae pada pengamatan 24 jam 78
3. Morfologi isolat bakteri antagonis pada pengamatan 24 jam 79
4. Hasil uji KOH bakteri antagonis 79
5. Hasil pewarnaan gram bakteri antagonis 80
6. Hasil uji katalase bakteri antagonis 80
7. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif 81
8. Hasil seleksi isolat bakteri pelarut fosfat pada media Pikovskaya dengan masa inkubasi 48 jam 81
9. Hasil seleksi bakteri penambat N pada media Burk dengan masa inkubasi 48 jam 82
10. Pertumbuhan tanaman tomat 82
11. Tanaman tomat terserang penyakit layu bakteri pada 5 MST 83
12. Aplikasi bakteri antagonis pada tanaman tomat 83

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
NIP. 19590705 198601 1 003

Penguji II

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

Penguji III

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

Penguji IV

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

Tanggal Lulus : 19 DEC 2018

Scanned by CamScanner

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian	: Potensi Konsorsium Rizobakteri dari Tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* sebagai Bioprotektan dan Biostimulan pada Tanaman Tomat
Nama Mahasiswa	: Asna Ainul Hayati
NIM	: 145040207111062
Jurusan	: Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	: Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

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

Pembimbing Pendamping,

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

Diketahui,
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Scanned by CamScanner

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang banyak diminati dan memiliki nilai ekonomi tinggi. Hal ini dapat dilihat dari permintaan konsumen yang meningkat setiap tahunnya. Akan tetapi, hal itu tidak sebanding dengan angka produksi tomat dalam negeri. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura (2017) produksi tomat berturut-turut adalah 893.463 ton pada tahun 2012, 992.780 ton pada tahun 2013, 915.987 ton pada tahun 2014, dan mengalami penurunan produksi pada tahun 2015 menjadi 877.792, kemudian pada tahun 2016 produksi tomat di Indonesia sebesar 872.875 ton. Penurunan angka produksi tanaman tomat tersebut salah satunya diakibatkan oleh serangan patogen *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri (Semangun, 2006).

Sampai saat ini penyakit layu bakteri merupakan penyakit penting dan sangat merugikan karena tingkat kehilangan hasil pada tanaman tomat mencapai ± 75% (Gunawan, 1997). Di daerah tropika penyakit layu bakteri dapat menyebabkan kerugian yang cukup besar, bahkan dapat menggagalkan panen (Alvarez *et al*., 2010).

Pendekatan yang dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit layu bakteri ialah dengan menggunakan konsep Pengendalian Hama Terpadu (PHT). Sistem PHT yang baik akan mempengaruhi lingkungan tetap dalam kondisi sehat dan pertanian yang berkelanjutan. Komponen utama dalam PHT yaitu pengendalian hayati (Wagiman, 2006). Pengendalian hayati dilakukan dengan memanfaatkan musuh alami dan agens hayati. Salah satu agens hayati yang berperan dalam mengendalikan penyakit tanaman ialah rizobakteri.

Rizobakteri merupakan mikroba dari golongan bakteri yang berkolonisasi di daerah rizosfer dan secara intensif memberikan manfaat terhadap tanaman. Rizobakteri seringkali disebut sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang mampu menghasilkan hormon tumbuhan, sebagai pelarut fosfat dan fiksasi nitrogen sehingga berperan penting dalam memacu pertumbuhan tanaman (Vessey, 2003) serta perlindungan terhadap patogen tertentu (Van Loon, 2007).

Selain itu, menurut Podile dan Kishore (2006), keberadaan populasi mikroorganisme di rizosfer mampu mempengaruhi ketahanan tanaman terhadap penyakit sehingga bersifat antagonis dan dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati.

Pemanfaatan rizobakteri dalam bentuk isolat tunggal telah menunjukkan potensi yang baik untuk dijadikan agens hayati pengendali beberapa patogen tanaman. Upaya lebih lanjut untuk memanfaatkan rizobakteri sebagai agens hayati perlu dilakukan, salah satunya dalam bentuk konsorsium. Konsorsium mikroba antagonis yang merupakan kombinasi dari *Bacillus* sp. dan *P. fluorescens* dalam pengujian skala laboratorium, rumah kaca dan lapangan telah terbukti mampu mengendalikan penyakit layu bakteri oleh *R. solanacearum* pada tanaman tomat (Hanudin dan Marwoto, 2003). Penggunaan rizobakteri dalam bentuk konsorsium diharapkan mampu menjadi alternatif dari pengendalian penyakit secara fisik maupun kimia.

Hutan memiliki keanekaragaman hayati (biodiversitas) yang tinggi. Salah satu hutan yang memiliki peranan penting dalam bidang pendidikan ialah UB *Forest*. UB *Forest* merupakan laboratorium hidup yang dapat dimanfaatkan untuk penelitian maupun praktek pembelajaran secara nyata di alam. UB *Forest* terletak di lereng Gunung Arjuno tepatnya di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo dan Karangploso, Kecamatan Karangploso Kabupaten Malang (BUA UB, 2017). UB *Forest* memiliki beragam flora di dalamnya sehingga memiliki potensi cukup besar dalam menyediakan biodiversitas tumbuhan. Keragaman tumbuhan yang tinggi berpengaruh terhadap komunitas mikroba didalam tanah, terutama pada bagian rizosfer (Carney dan Matson, 2005). Keragaman tumbuhan, khususnya famili Solanaceae yaitu cepoka dan kecubung tumbuh melimpah di kawasan UB *Forest*.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan eksplorasi keragaman rizobakteri tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* dan mendapatkan isolat konsorsium untuk mengetahui potensinya sebagai agens antagonis terhadap *R. solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri dan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tomat.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana kemampuan konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri oleh *R. solanacearum*?
2. Bagaimana konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat?
3. Bagaimana karakteristik rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* yang mampu berperan sebagai bioprotektan dan biostimulan pada tanaman tomat?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Mengkaji kemampuan konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri oleh *R. solanacearum.*
2. Mengkaji kemampuan konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat.
3. Mengkaji karakteristik rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* yang mampu berperan sebagai bioprotektan dan biostimulan pada tanaman tomat.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* mampu menekan perkembangan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh patogen *R. solanacearum.*
2. Konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat.
3. Rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* yang berperan sebagai bioprotektan dan biostimulan pada tanaman tomat memiliki karakteristik yang beragam.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi tentang konsorsium rizobakteri dari tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* yang berpotensi sebagai agens pengendali hayati dan dapat dikembangkan sebagai salah satu biokontrol penyakit layu bakteri yang ramah lingkungan serta dapat menjadi biostimulan terhadap pertumbuhan tanaman tomat.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tomat

Tanaman tomat sudah dibudidayakan sejak ratusan tahun silam, namun belum diketahui pasti kapan penyebarannya. Tanaman tomat berasal dari Amerika, yaitu daerah Andean yang merupakan bagian dari negara Bolivia, Cili, Kolombia, Ekuador, dan Peru. Pada mulanya tanaman tomat dikenal sebagai gulma, namun seiring perkembangan waktu tanaman tomat mulai ditanam sebagai tanaman yang dibudidayakan atau tanaman yang dikonsumsi (Purwati dan Khairunisa, 2007). Taksonomi tanaman tomat diklasifikasikan kedalam Kingdom *Plantae*, Divisi *Spermatophyta*, Kelas *Dicotyledonae*, Ordo *Solanales*, Famili *Solanaceae*, Genus *Lycopersicum*, Spesies *Lycopersicum esculentum* Mill (Tugiyono, 2005).

Tomat memiliki akar tunggang yang tumbuh menembus ke dalam tanah dan akar serabut yang tumbuh menyebar ke samping tetapi dangkal. Berdasarkan sifat perakarannya ini, tomat akan tumbuh baik di lahan yang gembur dan porous. Batang tomat berbentuk segi empat hingga bulat, lunak tapi cukup kuat, berbulu atau berambut halus dan di antara bulu-bulu itu terdapat rambut kelenjar. Batangnya berwarna hijau, pada ruas-ruas batang mengalami penebalan dan pada ruas bagian bawah tumbuh akar-akar pendek. Daun tomat berbentuk oval, berwarna hijau dan merupakan daun majemuk ganjil yang berjumlah 5 sampai 7. Daun majemuk tumbuh berselang-seling atau tersusun spiral mengelilingi batang tanaman. Bunga tanaman tomat berukuran kecil dan berwarna kuning cerah. Bunga tomat merupakan bunga sempurna dan tumbuh dari cabang yang masih muda. Buah tomat memiliki bentuk dan ukuran yang bervariasi tergantung pada jenisnya. Buah tomat yang masih muda berwarna hijau, bila sudah matang akan berwarna merah (Gambar 1). Tomat dapat tumbuh pada tempat dengan ketinggian 0 sampai 1250 m di atas permukaan laut, suhu optimal pada siang hari 23^{o}C dan pada malam hari 17 ^{o}C, menyukai tanah dengan derajat keasaman netral terutama yang mengandung humus, gembur, sarang dan berdrainase baik (Jones, 2008).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Gambar 1. Buah Tanaman Tomat (Jones, 2008)

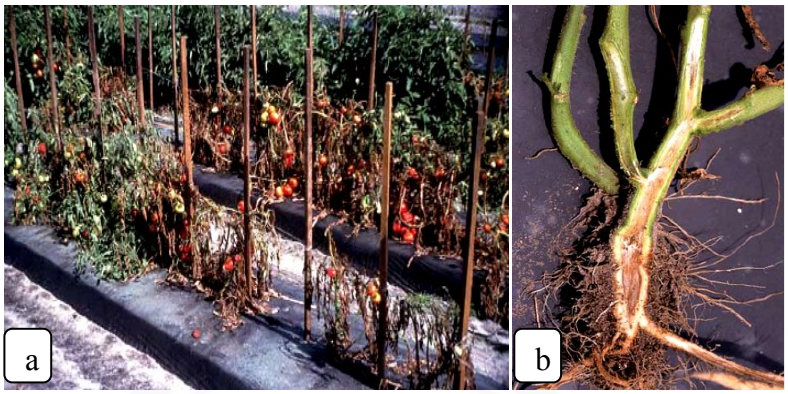
2.2 Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat

2.2.1 Gejala Penyakit Layu Bakteri

Layu bakteri adalah penyakit yang paling merusak pada tanaman tomat. Penyakit ini tersebar luas di daerah tropis. Gejala khas yang ditimbulkan oleh bakteri ini adalah terjadinya kelayuan, tanaman menjadi kerdil dan penguningan daun. Semakin muda umur tanaman yang terserang maka gejala yang ditimbulkan semakin parah (Brown *et al.*, 1980). Sedangkan untuk gejala awal yang terlihat pada tanaman tomat menurut Semangun (2007) yaitu berupa layu pada beberapa daun muda, daun-daun tua menguning, dan batang tanaman sakit cenderung lebih banyak membentuk akar adventif sampai setinggi bunga. Tanaman tomat yang terinfeksi akan membentuk akar adventif di sekitar pangkal batang. Akar adventif akan lebih banyak muncul apabila penyakit berkembang pada lingkungan yang kurang mendukung, yaitu suhu rendah, virulensi rendah, resistensi tanaman yang kurang. Jaringan pembuluh batang dan akar akan mengalami pembusukan, berwarna coklat tua sampai hitam. Akar juga akan berwarna coklat bila tanaman sudah mengalami layu permanen (McCarter, 2006).

Menurut Semangun (1994), pada tanaman dewasa, gejala awal berupa daun menguning kemudian sebagian tanaman menjadi layu, tanaman menjadi kerdil, akhirnya tanaman layu total dan mati (Gambar 2a). Pada tanaman tomat, gejala diawali dengan menguningnya tangkai daun pada waktu cuaca sangat panas selama beberapa hari. Pada tanaman yang layu seringkali terbentuk celah-celah kebasahan berwarna coklat. Untuk mengimbangi penyumbatan pada jaringan pembuluh, tanaman yang terserang seringkali membentuk akar-akar samping pada

batang bagian bawah. Tanaman menjadi kerdil dan mengalami klorosis (Hartman dan Elphinstone, 1994).



Gambar 2. Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh patogen *Ralstonia solanacearum:* a. gejala layu dan kematian pada tanaman tomat yang terinfeksi; b. perubahan warna coklat pada batang xilem yang terinfeksi (Agrios, 2005)

Gejala pada bagian dalam tanaman umumnya sama. Apabila dibuat potongan memanjang maka jaringan pembuluh terlihat berwarna coklat (Gambar 2b). Jika batang dipotong melintang akan terlihat adanya *ooze* berwarna putih kotor hingga kecoklatan dan apabila dimasukkan ke dalam air maka akan terlihat aliran *ooze* seperti benang berwarna putih (Brown *et al.*, 1980). Layu bakteri biasanya muncul pada saat tanaman dalam fase paling rentan yaitu menjelang pembungaan (Nawangsih, 2006).

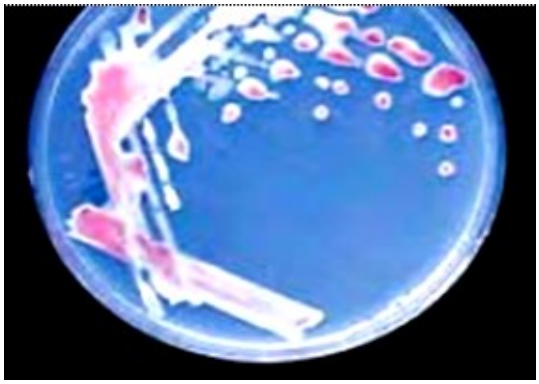
2.2.2 Patogen *R. solanacearum*

Patogen penyebab penyakit layu adalah bakteri *Ralstonia solanacearum* Smith Yabuuchi. Nama tersebut mengalami beberapa kali perubahan, sebagai hasil kajian molekuler yang didasarkan pada analis DNA bakteri. Semula bakteri tersebut dinamakan *Bacillus solanacearum*, kemudian menjadi *Burkholderia solanacearum*, berubah menjadi *Pseudomonas solanacearum* dan nama mutakhir menurut Yabuuchi *et al*., (1995) adalah *Ralstonia solanacearum*. Secara taksonomi bakteri *R. solanacearum* termasuk Kingdom Prokariotik, Divisi Gracilicutes, Kelas Schizomycetes, Ordo Eubacteriale, Famili Pseudomonadaceae, Genus Ralstonia, Spesies *Ralstonia solanacearum* (Tahat dan Sijam, 2010).

R. solanacearum termasuk kelompok bakteri Gram negatif, morfologi sel berbentuk batang pendek, sel tunggal berukuran 0,5-0,7 x 1,5-2,0 μm, tidak membentuk spora, dan tidak berkapsul. Bakteri dapat bergerak dengan menggunakan bulu getar (flagela) tunggal atau lebih yang terletak pada salah satu ujung sel polar. Flagela berfungsi untuk bergerak cepat ke arah rangsangan inang, dan kecepatan tersebut sangat menentukan virulensi atau keganasan bakteri pada tahap awal infeksi dan kolonisasinya pada inang (Tans-Kersten *et al.*, 2001). Menurut Anitha *et al*., (2003) bahwa isolat virulen pada umumnya tidak memiliki flagel dan tidak mampu bergerak (non-mobil). Pada isolat avirulen atau tidak ganas, bakteri mampu bergerak dengan menggunakan 1-4 buah flagel polar.

Bakteri *R. solanacearum* tidak akan berpendar jika ditumbuhkan pada media King's B, dapat tumbuh pada NaCl 0-2%, pH 4-8,5 dengan suhu 13-37 ^{o}C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 41 ^{o}C. Apabila ditumbuhkan pada media semi selektif (*tetrazolium chloride*) akan membentuk koloni yang berlendir berwarna putih dengan warna merah muda di tengah (virulen) (Gambar 3), sedangkan avirulen koloninya berwarna merah tua (James *et al.*, 2003). Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian dari Chandrashekara *et al*., (2012), bahwa koloni berwarna putih kusam dengan warna merah muda di tengah dan tepi koloni bakteri ini bentuknya tidak teratur. Bakteri ini termasuk gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora. Uji KOH yang dilakukan oleh Chaudhry dan Rashid (2011) menghasilkan adanya lendir pada loop, yang menunjukkan bakteri tersebut termasuk gram negatif (dinding sel yang tipis), tidak memproduksi levan, bersifat aerob, tidak memproduksi ammonia dari arginin.

Bakteri *R. solanacearum* seringkali tidak menunjukkan gejala layu secara jelas (*symptomless*), namun bakteri secara laten hidup dalam batang. Infeksi laten sangat merugikan karena berpeluang menyebarkan penyakit (Kelman *et al*., 1994). Kondisi lingkungan ekstrim tidak kondusif untuk perkembangan bakteri *R. solanacearum* seperti kadar air rendah, pH tinggi dan suhu rendah (Hidayah dan Djajadi, 2009).



Gambar 3. Koloni *Ralstonia solanacearum* pada media TTC setelah diinkubasi selama 48 jam pada temperatur 30 ^{o}C (Srinivasan, 2010)

2.2.3 Penyebaran Penyakit Layu Bakteri

Pada tanaman inang yang rentan, bakteri ini berkembang biak dengan cepat di jaringan korteks untuk selanjutnya menyerang bagian xilem. Dalam beberapa jam, terjadi kolonisasi *R. solanacearum* secara agresif di tabung xilem, lalu melalui sistem jaringan pembuluh menyebar ke bagian tajuk dan batang mengikuti aliran transpirasi dan akhirnya menyebabkan kelayuan yang mematikan. Gejala penyakit layu bakteri meliputi kekuningan dan layu, diikuti dengan nekrosis dan kematian tanaman (Vasse *et al*., 1995). Dalam proses infeksinya, bakteri *R. solanacearum* mengeluarkan beberapa jenis senyawa ekstraseluler dengan berat molekul tinggi seperti poligakturonase, endoglukanase, dan senyawa toksin. Deposit senyawa eksopolisakarida yang berlebihan di dalam pembuluh xilem akan menyumbat aliran air dari tanah ke seluruh tanaman sehingga timbul gejala layu. Senyawa ekstraseluler tersebut adalah faktor penentu virulensi atau keganasan *R. solanacearum* (Saile *et al*., 1997).

Menurut Champoiseau dan Jones (2009), bakteri *R. solanacearum* menginfeksi tanaman terutama dari bagian akar yang terluka, baik dikarenakan adanya pertumbuhan akar lateral atau karena luka oleh organisme lain. Selain itu juga dapat masuk ke tanaman melalui batang yang luka karena serangga atau luka mekanis. Setelah menginfeksi akar dan batang, kemudian mengolonisasi jaringan vaskular melalui xilem. Hal ini didukung oleh pernyataan Zhu *et al*., (2010), bahwa setelah menginfeksi tanaman melalui luka, bakteri ini kemudian mengkolonisasi pembuluh xilem dan menyebar dengan cepat hingga batang tanaman sehingga menyebabkan layu.

2.2.4 Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit

Faktor utama yang mempengaruhi perkembangan penyakit layu bakteri adalah kelembaban tanah. Kelembaban tanah ini sangat berpengaruh terhadap tingkat reproduksi dan ketahanan patogen di dalam tanah. Patogen akan berkembang dengan baik pada kelembaban tanah yang tinggi. Di lapangan, kelembaban tanah ini selalu dihubungkan dengan periode musim hujan yang terjadi pada musim tanam. Periode musim hujan yang tinggi akan menyebabkan kelembaban tanah yang tinggi pula. Selain itu, penyakit akan menjadi lebih parah pada suhu 24-35 ^{o}C (EPPO, 2011).

Menurut Champoiseau dan Jones (2009), faktor lingkungan seperti temperatur, kelembapan serta adanya mikroorganisme antagonis akan mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri *R. solanacearum*. Suhu 30-35 ^{o}C dan kelembaban tanah yang tinggi merupakan kondisi terbaik *R. solanacearum* untuk berkembang. Jumlah bakteri ini akan meningkat, laju infeksi patogen meningkat, perkembangan penyakit meningkat, sehingga jumlah bakteri yang keluar dari tanaman inang ke tanah meningkat. Hal ini akan mempercepat penyebaran penyakit (EPPO, 2004). Patogen dapat menyebar melalui air irigasi, tanah yang terinfestasi, dan sisa tanaman yang telah terinfeksi (McCarter, 2006). Patogen ini telah banyak dilaporkan mempunyai inang yang banyak. Salah satunya dilaporkan oleh Nasrun *et al*., (2007) bahwa selain menyerang tanaman tomat, *R. solanacearum* juga menyerang tanaman pisang, jahe, kacang tanah, nilam dan tumbuhan Solanaceae lainnya, seperti tembakau, terong dan cabai.

2.3 Kondisi Wilayah UB *Forest*

UB *Forest* terletak di lereng Gunung Arjuno tepatnya di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo dan Karangploso, Kecamatan Karangploso Kabupaten Malang, dengan ketinggian 1.200 meter di atas permukaan laut dan berada di lereng Gunung Arjuno yang memiliki ketinggian 3.339 meter (BUA UB, 2017). Berdasarkan fakta alamnya, kawasan hutan Indonesia termasuk ke dalam hutan tropis yang dapat ditemui di wilayah sekitar khatulistiwa, termasuk kawasan UB *Forest*. Menurut Haeruman (1980), hutan alam tropis yang masih utuh mempunyai jumlah jenis tumbuhan yang sangat banyak. Hutan tropis menyimpan

banyak keanekaragaman hayati baik kelompok hewan maupun tumbuhan serta mikroba, sehingga dikenal dengan istilah *megabiodiversity* dunia (Sevegnani *et al*., 2016). Di kawasan UB *Forest* terdapat berbagai jenis tumbuhan yang hidup, namun untuk kawasan hutan produksi lebih didominasi oleh tumbuhan pinus. Tanaman bawah tegakan yang diusahakan oleh masyarakat setempat antara lain: kopi, jahe, wortel, sawi dan jenis sayuran lainnya (Sumarlan, 2017). Selain tanaman budidaya, di kawasan UB *Forest* juga terdapat berbagai tumbuhan dan pepohonan yang tumbuh subur. Menurut Ewusie (1990), komponen dasar hutan itu adalah pohon tinggi dengan tinggi rata-rata sekitar 30 m. Pepohonan itu tergabung dengan tumbuhan terna, merambat, epifit, pencekik, saprofit dan parasit. Sehingga dapat diketahui bahwa keragaman tumbuhan yang ada pada kawasan UB *Forest* tergolong tinggi.

Carney dan Matson (2005) menyatakan bahwa terdapat interaksi yang erat antara keragaman tanaman dengan keragaman mikroorganisme tanah, diduga tanaman menjadi mediator perubahan komunitas mikroorganisme tanah yang berdampak terhadap fungsi ekosistem. Tumbuhan yang berbeda akan menghasilkan jenis dan komposisi eksudat yang berbeda. Perbedaan jenis dan komposisi eksudat yang diproduksi oleh akar akan menentukan komposisi keragaman komunitas mikroorganisme, terutama pada bagian rizosfer. Oleh karena itu kawasan UB *Forest* memiliki keragaman mikroba yang cukup tinggi dan sangat berperan terhadap proses dekomposisi bahan organik tanah sehingga dapat mendukung keberlanjutan ekosistem hutan.

2.4 Tumbuhan Famili Solanaceae

2.4.1 Tumbuhan Cepoka (*Solanum torvum* Swartz)

Cepoka merupakan tumbuhan perdu yang memiliki nama daerah terong cepoka, terong pipit (Indonesia), takokak (sunda), terong cepoka, cemongkak, poka, terongan, cepoka, cong belut (jawa) (Heyne, 1987). Cepoka diklasifikasikan sebagai berikut: Kingdom: Plantae, Divisi: Embryophyta Siphonogama, Subdivisi: Angiospermae, Kelas: Dicotyledoneae, Ordo: Solanales, Famili: Solanaceae, Genus: Solanum, Spesies: *Solanum torvum* Swartz (Lawrence, 1964).

Tumbuhan cepoka memiliki tinggi sekitar 3 m. Bentuk batang bulat, berkayu, bercabang, berduri jarang dan percabangannya simpodial dengan warna putih kotor. Daun cepoka tunggal, berwarna hijau, tersebar, berbentuk bulat telur, tepi rata, ujung meruncing dan panjangnya sekitar 27-30 cm dan lebar 20-24 cm, dengan bentuk pertulangan daunnya menyirip dan ibu tulang berduri (Kusuma dan Andarwulan, 2012).

Menurut Sirait (2009), ciri-ciri bunga cepoka, yaitu majemuk, bentuk bintang, kelopak berbulu, bertajuk lima, runcing, panjang bunga kira-kira 5 mm, benang sari lima, tangkai panjang kira-kira 1 mm dan kepala sari panjangnya kira-kira 6 mm berbentuk jarum, berwarna kuning, tangkai putik kira-kira 1 cm yang berwarna putih, dan kepala putik kehijauan. Buah cepoka berbentuk buni, bulat, licin, dan bergaris tengah 12-15 mm, ketika masih muda buah berwarna hijau dan setelah tua warnanya menjadi jingga (Gambar 4).

Buah cepoka memiliki khasiat sebagai obat tekanan darah tinggi dan penambah nafsu makan. Sedangkan daun tanaman memiliki khasiat sebagai obat jantung dan sakit kepala (Zuhud *et al.*, 2003). Hasil penelitian Bari *et al*., (2010) mengungkapkan bahwa kloroform dan ekstrak metanol akar *S. torvum* sangat aktif terhadap *Streptococcus-β-haemolyticus*, dan *Vasin factum*. Hasil analisis konsentrasi hambat minimum (KHM) menunjukkan bahwa ekstrak metanol pada akar dapat menghambat pertumbuhan bakteri bahkan pada konsentrasi rendah (64-128 μg mL^{-1}).

Gambar 4. Tumbuhan Cepoka (Sirait, 2009)

2.4.2 Tumbuhan Kecubung (*Datura metel* L.)

Tumbuhan ini hidup di dataran rendah sampai ketinggian 800 meter di atas permukaan laut. Tumbuh di tempat-tempat terbuka, tanah yang mengandung pasir

dan tidak begitu lembab, dengan iklim yang kering (Sugeng, 1989). Menurut Van Steeins (1997), selain tumbuh liar di ladang-ladang, kecubung sering ditanam di kebun halaman rumah sebagai tanaman pagar atau tanaman hias yang berkhasiat obat. Kecubung diklasifikasikan sebagai berikut: Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta, Subdivisi: Angiospermae, Kelas: Dicotyledoneae, Sub kelas: Sympetalae, Ordo: Solanales, Famili: Solanaceae, Genus: Datura, Spesies: *Datura metel* L. (Tjitrosoepomo, 1994).

Kecubung termasuk tumbuhan jenis perdu yang mempunyai pokok batang kayu dan tebal, bercabang banyak, tumbuh dengan tinggi kurang dari 2 meter. Daun kecubung berwarna hijau, berbentuk bulat telur, tunggal, tipis, dan pada bagian tepinya berlekuk-lekuk tajam dan letaknya berhadap-hadapan. Ujung dan pangkal daun meruncing dan pertulangannya menyirip (Tampubolon, 1995). Menurut Tjitrosoepomo (1994), tumbuhan kecubung memiliki bunga tunggal menyerupai terompet dan berwarna putih atau lembayung, panjang bunga lebih kurang 12-18 cm, bunga bergerigi 5-6 dan pendek 3-5 cm. Tangkai bunga sekitar 1-3 cm, kelopak bunga bertajuk 5 dengan tajuk runcing. Buah kecubung hampir bulat yang salah satu ujungnya didukung oleh tangkai tandan yang pendek dan melekat kuat. Buah kecubung bagian luarnya dihiasi duri-duri pendek dan dalamnya berisi biji-biji kecil warna kuning kecoklatan, diameter buah ini sekitar 4-5 cm. Buah yang masih muda berwarna hijau muda, sedangkan yang sudah tua berwarna hijau tua. Kecubung memiliki bunga berwarna putih, ada pula yang berwarna putih dengan tepian mahkota berwarna ungu dan bunga berwarna ungu (Gambar 5).

Tumbuhan kecubung mengandung zat alkaloid yang dapat digunakan sebagai obat (Kartasapoetra, 1988). Senyawa alkaloid terdapat pada bagian akar, daun, buah, biji dan bunganya (Dalimartha, 1999). Senyawa yang terdapat dalam kecubung terdiri dari atropin, hiosiamin, skopolamin dan beberapa senyawa lain yang dapat dikembangkan sebagai obat herbal (Kartasapoetra, 1992).

Gambar 5. Tumbuhan Kecubung (Issaravanich *et al.,* 2013)

2.5 Rizobakteri

Rizobakteri merupakan suatu kelompok bakteri yang hidup secara saprofit pada daerah rizosfer atau daerah perakaran dan beberapa jenis diantaranya dapat berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan atau sebagai agens biokontrol terhadap penyakit sehingga mampu meningkatkan hasil tanaman pertanian (Elango *et al.*, 2013). Rizobakteri dapat ditemukan pada rizosfer tanaman, suatu lapisan tipis tanah yang menyelimuti permukaan akar dan memberikan pengaruh yang positif terhadap pertumbuhan tanaman. Ada beberapa genus rizobakteri dilaporkan bersifat sebagai PGPR yaitu *Pseudomonas, Enterobacter, Azospirilum*, *Azotobacter, Burkholderia, Bacillus* dan *Serratia* (Podile dan Kishore, 2006). Rizobakteri memiliki kemampuan mengolonisasi rizosfer secara agresif dan beberapa jenis rizobakteri mampu berperan ganda sebagai biofertilizer dan bioprotektan pada tanaman (Ashrafuzzaman *et al.*, 2009).

Mikroorganisme yang hidup pada daerah rizosfer biasanya digunakan sebagai agens pengendali hayati. Keberadaan mikroorganisme antagonis pada daerah rizosfer dapat menghambat persebaran dan infeksi akar oleh patogen, keadaan ini disebut hambatan alamiah mikroba. Mikroba antagonis sangat potensial dikembangkan sebagai agens pengendali hayati. Selain sebagai agens antagonis, mikroorganisme tanah juga dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman dengan memproduksi senyawa-senyawa stimulat pertumbuhan seperti auksin dan fitohormon (Waksman, 1952).

Pertumbuhan dan aktivitas patogen dari kelompok jamur, bakteri maupun nematoda dapat dihambat karena kehadiran mikroba *beneficial* di rizosfer. Mikroba-mikroba tersebut dapat dijadikan sebagai biokontrol sehingga disebut

biocontrol agents. Mikroba biokontrol dapat menurunkan populasi, densitas, dinamika (temporal dan spasial) terutama melalui tiga cara interaksi antara mikroba tersebut dengan patogen, yaitu kompetisi, antagonisme dan hiperparasitisme (Raaijmakers *et al.*, 2009).

Kompetisi

Kompetisi antara biokontrol dengan patogen terjadi karena adanya persaingan dalam mendapatkan ruang atau habitat di permukaan akar dan persaingan untuk mendapatkan makanan yang dikeluarkan oleh eksudat akar (Raaijmakers *et al.*, 2009).

Antagonisme

Antagonisme terjadi dengan cara mikroba biokontrol memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikrobial (antibiosis) yang dapat membunuh patogen atau menghasilkan enzim yang melisiskan sel patogen. Seringkali suatu mikroba antagonistik mampu memproduksi beberapa senyawa metabolit sekunder antimikroba. Misalnya bakteri *Pseudomonas fluorescens* memproduksi *2,4-diacetylphloroglucinol* (DAPG), *pyrrolnitrin*, *pyoluteorin*, *phenazines*, *cyclic lipopeptides* dan hidrogen sianida. Efektivitas senyawa antagonistik tersebut tergantung pada macam senyawa yang dihasilkan, konsentrasinya dan mikroba yang menjadi sasarannya (Raaijmakers *et al.*, 2009).

Hiperparasitisme

Hiperparasitisme yaitu dengan cara mengeluarkan enzim tertentu yang dapat menerobos dinding sel patogen dan menghancurkannya sehingga patogen mati. Contoh *Trichoderma* dan *Gliocladium* terhadap jamur patogen dari genus *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Verticillium* dan *Gaeumannomyces*. *Trichoderma* melepaskan enzim kitinase dan selulase yang dapat merusak dinding sel patogen dan masuk ke dalam jaringan patogen. Hiperparasitisme dengan cara merusak dinding sel patogen juga terjadi pada aktivitas jamur *Gliocladium virens* melawan *Botrytis cinerea* (Raaijmakers *et al.*, 2009).

2.5.1 Hubungan Rizobakteri dengan Inang

Mikroorganisme yang berada di dalam tanah atau rizosfer tanaman telah diketahui memegang peranan penting dalam berbagai proses di dalam tanah yang

secara tidak langsung mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Tilak *et al.*, 2005). Interaksi mikroba dengan tanaman di rizosfer dapat berupa hubungan yang menguntungkan, netral, atau mengganggu pertumbuhan tanaman (Husen, 2003). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) atau Rizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (RPPT) berpotensi meningkatkan produktivitas dan pertumbuhan tanaman. Terdapat berbagai mekanisme PGPR dalam menstimulasi pertumbuhan tanaman. Mekanisme ini dikelompokkan menjadi dua yaitu secara langsung dan tidak langsung. Secara tidak langsung rizobakteri terkait dengan produksi metabolit seperti antibiotik dan siderofor, yang dapat berfungsi menurunkan pertumbuhan fitopatogen. Secara langsung PGPR mampu memproduksi zat pengatur tumbuh dan meningkatkan pengambilan nutrisi oleh tumbuhan (Kloepper, 1993).

Interaksi antara tanaman dan mikroba di rizosfer diinisiasi oleh tanaman dengan cara mensekresikan eksudat akar sehingga mengundang mikroba datang ke rizosfer. Mikroba yang mengkoloni rizosfer mengakibatkan terjadinya modifikasi lingkungan fisik dan kimia tanah di sekitar rizosfer yang akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Widyati, 2013).

Faktor-faktor yang menentukan sifat suatu rizosfer adalah properti tanah, jenis tanaman dan populasi mikroba yang mengkoloni rizosfer. Diantara ketiganya, tanaman memegang peranan yang penting dalam menentukan keanekaragaman mikroba di rizosfer. Akar tanaman menyebabkan perubahan fisik dan kimia rizosfer yang akan mempengaruhi diversitas mikroba di dalam dan di sekitar rizosfer. Eksudat akar akan menyeleksi untuk mengundang atau melawan populasi mikroba tertentu. Banyak tanaman memiliki sifat genetik untuk toleran atau resisten terhadap serangan mikroba di rizosfer, varietas tanaman akan menentukan keanekaragaman komunitas mikroba rizosfer (Widyati, 2013). Kemampuan tanaman dalam membangun hubungan simbiosis dengan mikroba tanah juga menentukan komunitas mikroba di rizosfer. Umur tanaman dan tingkat kesehatan tanaman juga memainkan peranan penting dalam menentukan dinamika komunitas mikroba di rizosfer. Kadang-kadang tanaman akan berkompetisi dengan mikroba dalam memanfaatkan air dan unsur hara tertentu (Sylvia, 2005).

Sebagian besar mikroba rizosfer tidak langsung berinteraksi dengan akar tanaman, hal ini karena tanaman secara terus-menerus mensekresikan senyawa antimicrobial ke dalam tanah. Jadi hanya sebagian kecil mikroba yang dapat langsung berinteraksi dengan akar tanaman. Interaksi tersebut dapat berupa patogen (menginvasi dan membunuh akar dan tanaman), simbiotik (menguntungkan bagi pertumbuhan tanaman), *harmful* (menurunkan tingkat pertumbuhan tanaman), saprofit (hidup pada jaringan akar dan tanaman yang mati) atau netral (tidak memberikan efek apapun bagi tanaman) (Widyati, 2013). Menurut Sylvia (2005), sampai 15% permukaan akar tanaman ditutupi oleh mikroba spesifik rizosfer yang menyediakan berbagai sisi untuk terjadinya interaksi biologis antara mikroba dengan tanaman. Interaksi yang terjadi antara mikroba dengan tanaman di rizosfer meliputi dari hubungan simbiotis yang menguntungkan sampai patogen yang merusak tanaman.

2.6 Konsorsium Mikroba Antagonis

Konsorsium mikroba merupakan kumpulan dari sejumlah organisme yang sejenis sehingga membentuk suatu komunitas dari sejumlah populasi yang berbeda (Nugroho dan Hidayah, 2010). Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari dua mikroba atau lebih yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting supaya mikroba tersebut dapat bekerjasama dengan baik (Elfiati, 2005). Mikroba dengan genus atau spesies yang sama dapat berinteraksi dan bersinergi, serta berbagi sumber nutrisi yang sama. Hal ini menunjukkan perilaku kooperatif antar mikroba dalam suatu habitat dalam bentuk konsorsium. Suatu konsorsium akan menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan bersama, sehingga dapat saling mendukung pertumbuhan isolat tunggal dan lainnya (Bailey, 2006).

Penggunaan konsorsium mikroba antagonis dapat meningkatkan efek pengendalian maupun peningkatan pertumbuhan daripada efeknya secara tunggal. Konsorsium mikroba antagonis yang merupakan kombinasi bakteri *Bacillus firmus*, *Bacillus cereus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* berpotensi menekan pertumbuhan cendawan *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas masing-masing sebesar 79,05% dan 69,92% (Riana, 2011). Perlakuan konsorsium mikroba yang merupakan penggabungan antara *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.,

dan *Trichoderma* sp. secara nyata mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah semai pada tanaman kedelai (Silaban *et al*., 2015).

Selain mampu menghambat pertumbuhan patogen, konsorsium bakteri antagonis memiliki potensi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian Gusmaini (2005), melaporkan bahwa pemberian konsorsium mikroba antagonis mampu meningkatkan serapan N, yang diikuti dengan peningkatan serapan P dan K pada tanaman padi. Konsorsium mikroba antagonis diketahui memiliki kemampuan sebagai *Plant Growth Promoting* yang memacu pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit (ISR: *induce systemic resistant*) dan akhirnya mampu meningkatkan hasil tanaman (Munif, 2001). Peningkatkan pertumbuhan tanaman tersebut dikarenakan konsorsium mikroba antagonis berperan dalam pengikatan nitrogen, peningkatan aktivitas fotosintesis, dan peningkatan hormon pertumbuhan seperti *indole acetic acid* (IAA) (Prakamhang, 2009).

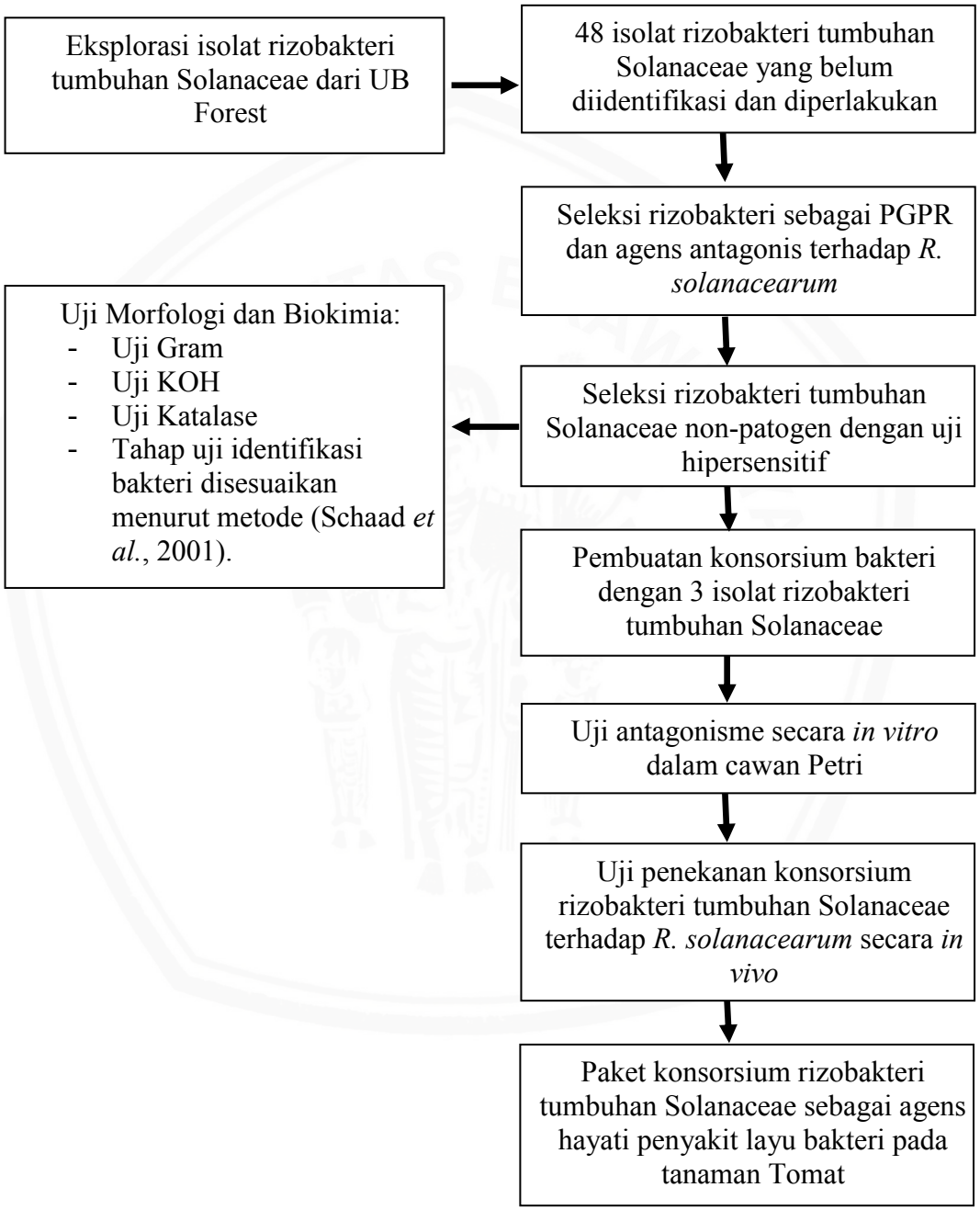
2.6.1 Sinergisme Isolat dalam Bentuk Konsorsium

Sinergisme antar isolat bakteri dilakukan untuk mengetahui interaksi antar isolat sebelum dilakukannya proses pembuatan konsorsium. Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui dengan pasti, namun beberapa penelitian menduga disebabkan karena beberapa faktor lain: (1) salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, (2) salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut, (3) salah satu anggota genus melindungi anggota genus lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik (Deng dan Wang, 2016).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional penelitian menunjukkan langkah-langkah teknis yang dilakukan sehingga tahapan dalam penelitian dapat dilakukan secara bertahap dan sistematis (Gambar 6).



Gambar 6. Kerangka Operasional Penelitian

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan Lahan pengamatan yang berada di Desa Dadaprejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Oktober 2018.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik, autoklaf *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, *glass L*, *sprayer,* pipet tetes, gunting, *cutter*, mikropipet Vitlab dig 100-1000 µl, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *tray*, *polybag* berukuran 25x30 cm, *spektrofotometer, orbital shaker*.

Bahan yang digunakan adalah tanah disekitar perakaran dari tumbuhan cepoka dan kecubung yang termasuk dalam famili Solanaceae, batang tanaman tomat yang terinfeksi *Ralstonia solanacearum*, media *Nutrient Agar* (NA), aquadest steril, media Oksidatif-Fermentatif, media *Tetrazolium clorida* (TTC), media *Yeast Dextrose Carbonat* (YDC), media *Piskovskaya*, media Burk, spirtus, alkohol 70%, alkohol 96%, kertas saring, KOH 3%, H_2O_2, safranin, iodin, kristal violet, tanaman tembakau, media *Nutrient Broth* (NB), kloroform, gliserol, tissue steril, aluminium foil, tanah, kompos, benih tomat varietas permata, formalin 4%, Bakterisida dan air.

3.4 Rancangan Penelitian

Pengujian potensi konsorsium rizobakteri dari tumbuhan famili Solanaceae terhadap *R. solanacearum* secara *in vitro* dan *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan dan 4 ulangan (Tabel 1). Kerapatan rizobakteri dari tumbuhan famili Solanaceae dan bakteri patogen *R. solanacearum* yang digunakan yaitu sebesar 10^9 Cfu/ml.

Tabel 1. Perlakuan uji antagonisme konsorsium rizobakteri tumbuhan famili Solanaceae terhadap *R. solanacearum*

Perlakuan	Keterangan
Kontrol	Kontrol dengan aquadest (tanpa aplikasi mikroba antagonis)
Bakterisida	Pemberian bakterisida kimia dengan bahan aktif streptomisin sulfat
Isolat Rizobakteri (a)	Pemberian isolat tunggal rizobakteri tumbuhan solanaceae (a) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
Isolat Rizobakteri (b)	Pemberian isolat tunggal rizobakteri tumbuhan solanaceae (b) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
Isolat Rizobakteri (c)	Pemberian isolat tunggal rizobakteri tumbuhan solanaceae (c) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
KBA (a+b)	Pemberian konsorsium bakteri antagonis (a+b) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
KBA (a+c)	Pemberian konsorsium bakteri antagonis (a+c) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
KBA (b+c)	Pemberian konsorsium bakteri antagonis (b+c) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
KBA (a+b+c)	Pemberian konsorsium bakteri antagonis (a+b+c) dengan kerapatan 10^9 cfu/ml

Keterangan: KBA adalah konsorsium bakteri antagonis

Dari hasil eksplorasi rizobakteri tumbuhan Solanaceae, dipilih tiga isolat bakteri berdasarkan diameter zona hambat paling besar dan memiliki potensi sebagai bakteri PGPR, yaitu mampu melarutkan fosfat dan menambat N untuk nantinya dilakukan pengujian lebih lanjut dalam bentuk isolat tunggal dan konsorsium.

Pengujian potensi konsorsium rizobakteri dari tumbuhan famili Solanaceae terhadap *R. solanacearum* secara *in vivo* dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri antagonis dan bakteri patogen pada tanaman tomat. Jumlah tanaman yang digunakan setiap ulangan berjumlah 10 tanaman dengan volume aquades, bakterisida, suspensi rizobakteri dari tumbuhan famili Solanaceae dan bakteri *R. solanacearum* yang digunakan yaitu sebanyak 20 ml dengan kerapatan bakteri 10^9 Cfu/ml.

3.5 Persiapan Penelitian

3.5.1 Isolasi Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Inokulum bakteri *Ralstonia solanacearum* virulen diperoleh dengan mengisolasi tanaman tomat yang terinfeksi di lapang. Sebelum dilakukan isolasi, tanaman yang terinfeksi layu bakteri dicuci dengan air bersih. Pada bagian perakaran dipotong melintang kemudian dimasukkan dalam aquades untuk

melihat *ooze* (massa bakteri). Jika terlihat massa bakteri keluar, batang tanaman tomat dibersihkan bagian perakarannya dan dipotong pada bagian pangkal batang. Potongan tersebut dicuci dengan alkohol 70% lalu dilanjutkan dengan direndam dalam aquades steril sebanyak 3 kali. Potongan tersebut dikering anginkan dan dicacah. Dalam cacahan tersebut ditambahkan aquades steril secukupnya ±10 ml dan didiamkan selama ±30 menit (Setyari *et al.*, 2013).

Suspensi yang mengandung bakteri *R. solanacearum* kemudian digoreskan dengan jarum ose pada media selektif 2,3,5 *Triphenyl Tetrazolium Chlorida* (TTC) dan diinkubasikan selama 1x24 jam pada suhu ruang ±27 ^{o}C. Isolat murni yang diperoleh dari media TTC kemudian diambil koloni tunggal yang berwarna merah muda dengan tepi berwarna putih. Isolat bakteri pada media TTC yang virulen berbentuk bulat tidak teratur, fluidal, dan berwarna merah muda. Bakteri virulen kemudian diperbanyak pada media NA yang diinkubasikan pada suhu ruang selama 2x24 jam (Setyari *et al.*, 2013).

3.5.2 Eksplorasi dan Isolasi Rizobakteri pada Tumbuhan Famili Solanaceae di UB *Forest*

Sampel diambil dari rizosfer tumbuhan Solanaceae yaitu cepoka dan kecubung yang tumbuh di UB *Forest*. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil tanah di sekitar perakaran tumbuhan Solanaceae. Tanah diambil pada kedalaman 5-10 cm. Seluruh sampel dimasukkan kedalam *cool box* sebelum dilakukan isolasi.

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Sampel tanah ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi aquadest steril sebanyak 10 ml. Setelah itu, suspensi diambil sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-9}. Sebanyak 100 μl diambil dari pengenceran 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, dan 10^{-9}. Kemudian dimasukkan kedalam cawan Petri berisi media *Nutrient Agar* (NA). Suspensi diratakan diatas media menggunakan *stick L* steril lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ± 28 ^{o}C (Madigan dan Martinko, 2006).

Pengamatan jenis bakteri yang tumbuh didasarkan pada warna dan bentuk koloninya. Terhadap masing-masing koloni bakteri yang memiliki warna dan

bentuk koloni berbeda, dipurifikasi ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) dengan teknik penggoresan kuadran empat untuk mendapatkan koloni tunggal. Isolat diinkubasi selama 2x24 jam dan diamati karakternya berupa bentuk, ukuran, warna, elevasi, permukaan, tepi, dan pigmentasi.

3.5.3 Uji Patogenisitas *R. solanacearum*

Uji patogenisitas adalah pengujian yang dilakukan untuk membuktikan apakah suatu isolat bakteri termasuk patogen tanaman dan mampu menimbulkan penyakit pada tanaman inangnya. Uji patogenisitas dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri patogen pada tanaman inang. Bagian tanaman yang diinokulasi harus disesuaikan dengan bagian yang diserang oleh bakteri patogen tersebut.

Uji patogenisitas pada penelitian ini dilakukan dengan tahap peremajaan bakteri *R. solanacearum* pada media NA selama 1x24 jam lalu diambil koloni bakteri sebanyak lima jarum ose dan disuspensikan dalam 250 ml NB kemudian digojog dengan shaker selama 2x24 jam. Inokulasi dilakukan menggunakan metode pelukaan akar dengan cara memotong sebagian akar tomat pada kedua sisi batang dengan pisau sebelum tanaman diinokulasi *R. solanacearum* (Dianese *et al*., 1990). Kemudian suspensi bakteri sebanyak 50 ml disiramkan pada bagian perakaran tanaman tomat yang berusia 3 minggu setelah tanam.

Selanjutnya dilakukan pengamatan selama 7 hari hingga muncul gejala penyakit layu bakteri. Setelah muncul gejala penyakit layu bakteri, bagian batang yang terinfeksi *R. solanacearum* diisolasi kembali untuk memastikan bahwa tanaman tomat tersebut benar terserang bakteri *R. solanacearum*.

3.5.4 Seleksi Rizobakteri Tumbuhan Famili Solanaceae sebagai PGPR dan Agens Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Penentuan bakteri sebagai PGPR dapat diseleksi melalui kemampuannya sebagai *biofertilizer* dengan melihat aktivitasnya dalam menambat nitrogen dan melarutkan fosfat serta sebagai *bioprotectant* yang dapat diketahui dari aktivitas antagonis PGPR terhadap patogen. Pada tahap ini, dilakukan seleksi bakteri hasil

eksplorasi sebagai PGPR yang memiliki potensi antagonis terhadap *R. solanacearum*.

a) Seleksi Penambat Nitrogen

Uji Penambatan Nitrogen dilakukan secara kualitatif dengan menumbuhkan semua koloni bakteri hasil eksplorasi pada media Burk. Komposisi media Burk adalah glukosa (10 gr), KH_2PO4 (0,41 gr), K_2HPO4 (0,52 gr), Na_2SO_4 (0,05 gr), $CaCl_2$ (0,2 gr), $MgSO_4.7H_2O$ (0,1 gr), $FeSO_4.7H_2O$ (0,005 gr), $Na_2MoO_4.2H_2O$ (0,0025 gr), agar (1,8 gr) dan aquades (1 L) (Atlas, 2009). Pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri dilakukan pada 24 jam setelah inkubasi. Media Burk adalah media yang mengandung garam anorganik dengan sumber karbohidrat tetapi tidak terdapat Nitrogen didalamnya. Isolat yang mampu tumbuh pada media tersebut menunjukkan bahwa isolat mampu menambat Nitrogen (Himedia, 2015).

b) Seleksi Pelarut Fosfat

Seleksi pelarut fosfat dilakukan dengan menumbuhkan semua koloni bakteri hasil eksplorasi pada media Pikovskaya dengan komposisi adalah ekstrak yeast (0,25 gr), dekstrosa (5 gr), $Ca_3(PO_4)_2$ (2,5 gr), $(NH_4)_2\ SO_4$ (0,25 gr), KCL (0,1 gr), $MgSO_4.7H_2O$ (0,05 gr), $MnSO_4.2H_2O$ (0,005 gr), $FeSO_4.7H_2O$ (0,005 gr), agar (10 gr) dan aquades (1 L). Isolat diinokulasi pada media Pikovskaya, secara aseptis sebanyak 1 ose kemudian diinkubasi pada suhu ± 28 ^oC selama 3 hari dan diamati terbentuknya zona bening. Isolat yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya *halozone* atau zona bening disekitar pertumbuhan koloni (Deshwal dan Kumar, 2013).

c) Seleksi Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Seleksi antagonis merupakan tahapan seleksi awal dengan tujuan memperoleh isolat bakteri yang memiliki potensi antagonis terhadap *R. solanacearum*. Bakteri yang diseleksi merupakan koloni bakteri yang mampu tumbuh di media Burk dan membentuk zona bening pada media Pikovskaya. Seleksi antagonis dilakukan dengan menggunakan metode spray atau pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Pengujian pada cawan Petri dilihat dari kemampuan penghambatan yang ditandai dengan munculnya zona bening. Biakan murni rizobakteri famili Solanaceae yang telah diinkubasi 24 jam diambil dengan jarum ose kemudian dibuat suspensi dalam 1 ml aquades steril. Selanjutnya kertas saring

steril dengan diameter 5 mm dimasukkan kedalam suspensi selama ± 1 menit dan ditiriskan selama 2-5 jam. Kertas saring yang sudah kering ditanam di media NA dalam cawan petri yang berdiameter 9 cm dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, bakteri antagonis dimatikan dengan memberi uap kloroform pada tutup cawan Petri dalam keadaan terbalik dan dibiarkan selama 1 jam. Setelah menguap, biakan disemprot dengan suspensi bakteri *R. solanacearum*. Hasil perlakuan diinkubasi selama 24 jam dan diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

3.5.5 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri uji bersifat patogen terhadap tanaman atau tidak sehingga uji ini diperlukan untuk membuktikan bahwa rizobakteri dari tumbuhan famili Solanaceae yang digunakan bukan termasuk patogen. Biakan murni bakteri berumur 24 jam dipanen dan dibuat suspensi dengan menggunakan aquades steril. Kemudian sebanyak 1 ml suspensi bakteri diinokulasikan ke bagian tulang daun tembakau dengan menggunakan jarum suntik (Klement *et al.*, 1990). Hasil hipersensitif ditandai dengan daun tembakau menunjukkan gejala nekrosis yang disertai layu pada jaringan yang diinokulasikan suspensi bakteri. Pengamatan dilakukan 24 hingga 96 jam.

3.5.6 Karakterisasi Bakteri

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa metode uji identifikasi pada rizobakteri berpotensi. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.,* 1994) dan Schaad *et al*., (2001). Isolat rizobakteri diuji secara biokimia dan fisiologi melalui serangkaian uji yang meliputi:

a) Uji Gram

Uji Gram dengan KOH 3%, awalnya biakan murni rizobakteri umur 24 jam disuspensikan pada gelas obyek yang sebelumnya telah ditetesi dengan KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri ditarik-tarik ke atas dengan menggunakan jarum ose. Reaksi positif terjadi jika suspensi bakteri tidak membentuk benang dan reaksi negatif terjadi jika suspensi bakteri membentuk benang atau akan tampak lengket.

Uji Gram dengan pewarnaan gram, awalnya satu lup jarum ose biakan murni rizobakteri umur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas obyek yang telah disterilkan dan difiksasi diatas bunsen. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan kristal violet sebanyak 2-3 tetes selama 20 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan (dikeringkan diatas bunsen). Selanjutnya ditetesi dengan larutan iodine selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan. Pengecatan selanjutnya menggunakan safranin selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir. Kemudian dikering anginkan dan diamati dibawah mikroskop. Bakteri gram positif akan menunjukkan warna ungu sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah.

b) Pewarnaan endospora

Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri membentuk spora atau tidak. Satu lup jarum ose biakan murni rizobakteri umur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas obyek yang telah disterilkan dan difiksasi diatas bunsen. Kemudian ditetesi dengan *malachit green* dan biarkan selama 15 menit kemudian cuci dengan air mengalir. Setelah dikeringkan diatas bunsen lalu ditetesi dengan safranin dan biarkan selama 1 menit, lalu cuci dengan air mengalir dan keringkan diatas bunsen. Selanjutnya amati dibawah mikroskop. Spora bakteri akan tampak berwarna kehijauan sedangkan sel vegetatifnya akan berwarna merah.

c) Uji Oksidatif-Fermentatif (OF)

Pengujian ini dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri dalam media basal sebanyak 5 ml. Media basal dalam 1 liter aquades terdiri dari pepton 2 gr, NaCl 5 gr, KH_2PO_4 0,3 gr, Agar 3 gr, dan bromothymolblue (larutan 1%) 3 ml. Bahan-bahan dihomogenkan dalam aquades dan diatur pada pH 7,1 kemudian disterilkan pada suhu 121^oC selama 20 menit. Setelah itu tambahkan 0,5 ml larutan glukosa steril secara aseptis. Setelah itu inokulasikan bakteri ke dalam dua tabung reaksi yang berisi media basal lalu satu tabung ditutup parafin cair dan satu tabung lainnya tidak ditambah parafin. Perubahan warna dari biru menjadi kuning di media yang ditutup parafin menunjukkan reaksi fermentatif. Sedangkan, pada reaksi yang bersifat oksidatif ditunjukkan apabila pada media yang ditutup parafin

cair steril tidak terjadi perubahan warna dan pada media yang tidak ditutup parafin cair steril terjadi perubahan warna menjadi kuning.

d) Uji Katalase

Biakan rizobakteri umur 24-48 jam, koloninya diambil satu lup dengan jarum ose kemudian diletakkan diatas preparat lalu ditetesi dengan H_2O_2 3%. Reaksi positif ditandai dengan adanya gelembung udara. Gelembung udara terbentuk apabila bakteri tersebut memiliki enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen.

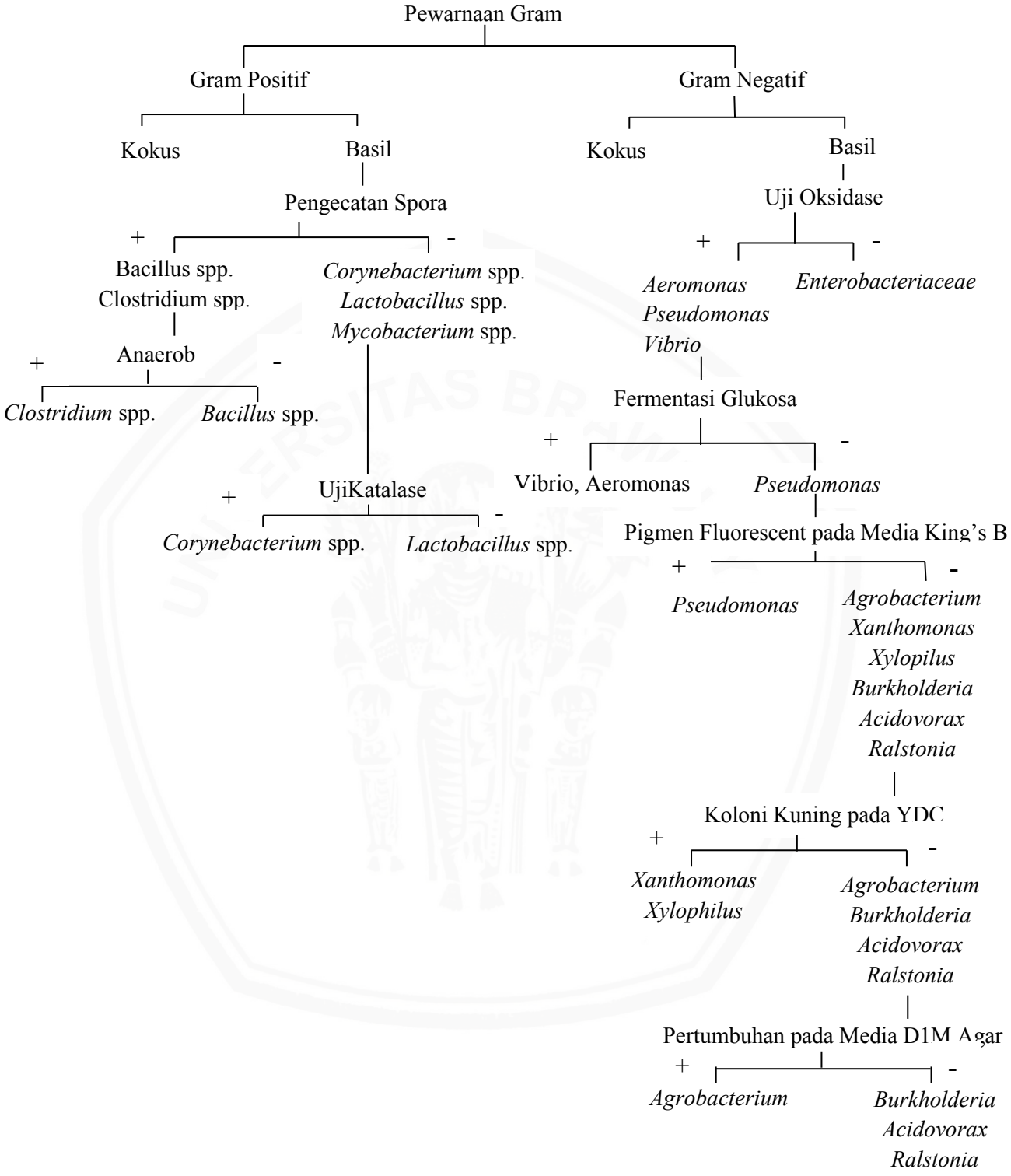
e) Pigmen Flourescent pada Media King's B

Media King's B terdiri dari Pepton 20 gr; K_2HPO4 1,5 gr; $M_gSPO_4.7H_2O$ 1,5 gr; gliserol 15 ml; aquades 1 L; dan agar 15 gr. Media disterilisasi pada 121^oC selama 25 menit. Biakan bakteri uji ditumbuhkan pada media King's B yang sudah disterilisasi kemudian diinkubasikan selama 24-48 jam. Selanjutnya biakan tersebut diamati dibawah sinar UV apakah berpendar atau tidak. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya pigmen fluorescent yang berwarna biru atau hijau.

f) Pertumbuhan pada Media YDC

Media YDC terdiri dari yeast ekstrak 10 gr; glukosa 20 gr; $CaCO_3$ 20 gr; dan agar 15 gr. Selanjutnya semua bahan dicampur dan dilarutkan dengan aquades 1 liter lalu di didihkan. Media tersebut disterilkan pada 121^oC selama 30 menit. Goreskan bakteri pada media agar YDC dan inkubasikan pada suhu 30^oC. Setelah 48 jam lakukan pengamatan apakah berwarna kuning atau tidak. Reaksi positif apabila terbentuk koloni berwarna kuning yang merupakan bakteri dari genus *Xylophilus* sp. dan *Xanthomonas* sp. Genus *Ralstonia*, *Agrobacterium*, *Acidovorax* dan *Burkholderia* koloni bakteri tidak berwarna kuning pada media YDC.

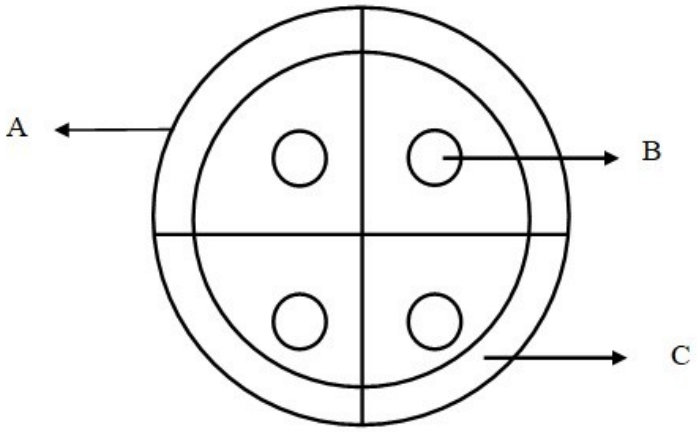
Diagram Identifikasi Bakteri



Gambar 7. Identifikasi bakteri hingga tingkat genus menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*., 2001

3.5.7 Uji Antagonis Konsorsium Rizobakteri Famili Solanaceae terhadap Bakteri *R. solanacearum* secara *in vitro*

Metode uji antagonis yang digunakan sama dengan metode seleksi bakteri antagonis yaitu metode spray atau pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Tiga isolat yang memiliki kemampuan antagonistik terbaik selanjutnya diuji secara tunggal dan konsorsium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan dan 4 ulangan. Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam dan zona bening yang terbentuk diukur diameternya.



Gambar 8. Uji antagonisme menggunakan metode spray pada media NA (Kawaguchi *et al*., 2008). Keterangan: a. cawan Petri; b. kertas saring; c. bakteri patogen *R. solanacearum*

3.5.8 Uji Penekanan Konsorsium Rizobakteri Tumbuhan Famili Solanaceae terhadap Penyakit Layu Bakteri secara *in vivo*

a) Persiapan Bahan dan Media Tanam

Bahan tanam yang digunakan adalah benih tomat varietas Permata. Bahan tanam disterilisasi permukaan dengan alkohol 70% selama 1 menit kemudian dicuci dengan aquades steril. Media yang digunakan adalah tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Tanah disterilkan menggunakan formalin 4% secara merata untuk mencegah adanya patogen yang tidak diinginkan menyerang tanaman tomat yang akan ditanam. Kemudian tanah yang telah diberi formalin tersebut diinkubasi selama satu minggu. Setelah masa inkubasi selesai lalu tanah dikering anginkan selama satu minggu dan dicampur dengan kompos. Kemudian

media tanam tersebut dimasukkan kedalam lubang *tray* untuk mengecambahkan benih tomat varietas permata yang akan digunakan sebagai tanaman uji.

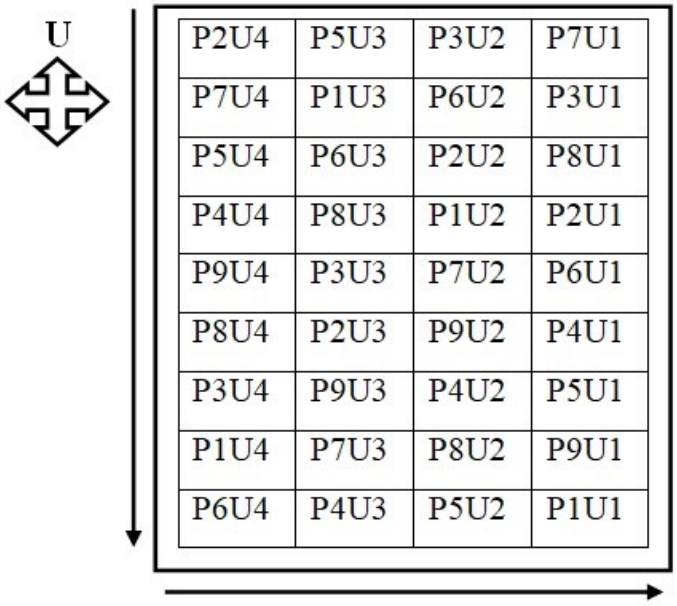
b) Inokulasi Bakteri Antagonis

Isolat tunggal rizobakteri dan konsorsium bakteri terpilih disiapkan dengan sub kultur masing-masing pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan metode penggoresan dan inkubasi selama 48 jam. Bakteri yang telah tumbuh kemudian digunakan untuk perbanyakan menggunakan media *Nutrient Broth* (NB). Biakkan diinkubasi selama 48 jam, kemudian dipanen menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm.

Inokulasi bakteri dilakukan setelah bibit tanaman tomat dipindah tanam ke *polybag* berukuran 25x30 cm yang sudah berisi campuran tanah dan kompos. Aplikasi isolat tunggal rizobakteri, konsorsium rizobakteri tumbuhan famili Solanaceae masing-masing dengan kerapatan 10^9 cfu/ml dan bakterisida dilakukan setelah tanaman tomat berumur 3 minggu setelah pindah tanam dan diaplikasikan kembali secara teratur setiap interval satu minggu setelah inokulasi patogen *R. solanacearum.* Menurut Setyari (2013) inokulasi bakteri dapat dilakukan dengan menyiram suspensi bakteri antagonis sebanyak 20 ml di tanah maupun didaerah perakaran tanaman.

c) Inokulasi Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Inokulasi buatan dilakukan menggunakan biakan murni selama 48 jam. Suspensi bakteri yang digunakan mempunyai kerapatan 10^9 cfu/ml. Inokulasi dilakukan satu minggu setelah aplikasi awal bakteri antagonis. Tanaman tomat diinokulasi bakteri patogen dengan cara melukai bagian perakaran tanaman dengan menggunakan scalpel yang telah disterilkan. Setelah akar dilukai kemudian bakteri *R. solanacearum* diberikan sebanyak 20 ml pada setiap polybag (Setyari, 2013).



Gambar 9. Denah rancangan percobaan di lahan pengamatan

Keterangan:
1. Setiap satu petak terdapat 10 *polybag* tanaman tomat
2. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 9 perlakuan dan 4 ulangan
3. P adalah perlakuan; U adalah ulangan

d) Pemberian Bakterisida

Bakterisida hanya diberikan pada tanaman kontrol positif. Aplikasi bakterisida yang diberikan sebanyak 20 ml dengan cara disiram.

3.6 Variabel Pengamatan

3.6.1 Aktivitas Pelarutan Fosfat dan Penambatan Nitrogen

Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat dilihat dari zona bening yang terbentuk di sekitar pertumbuhan bakteri pada media Pikovskaya. Sedangkan kemampuan bakteri dalam menambat nitrogen dilihat dari pertumbuhan koloni pada media Burk. Kedua kenampakan morfologi tersebut didokumentasi menggunakan kamera.

3.6.2 Hambatan Konsorsium Rizobakteri Tumbuhan Famili Solanaceae terhadap *R. solanacearum* pada Cawan Petri (*In Vitro*)

Parameter pengamatan pada pengujian ini merupakan data kuantitatif. Pembentukan zona bening yang dihasilkan oleh isolat rizobakteri tumbuhan famili Solanaceae yang bersifat antagonis diamati sebanyak 2 kali dimulai dari 24 jam dan 48 jam setelah inokulasi. Diameter zona bening dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong secara vertikal dan horizontal. Perhitungan zona bening menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

3.6.3 Persentase Kejadian Penyakit Layu Bakteri (*R. solanacearum*) di Lahan Pengamatan (*In Vivo*)

Pengamatan kejadian penyakit layu bakteri berdasarkan persentase kejadian dan keparahan penyakit di lapang. Pengamatan dilakukan setiap lima hari sekali dan sebanyak lima kali sejak gejala serangan awal munculnya patogen. Kemudian persentase kejadian penyakit layu bakteri dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{KP} = \frac{n}{N} \text{ x } 100\%$$

Keterangan:

KP = Kejadian penyakit

n = Jumlah tanaman yang terserang penyakit layu bakteri

N = Jumlah tanaman yang diamati

3.6.4 Efektivitas Mikroba Antagonis

Efektivitas mikroba antagonis dihitung setiap lima hari sekali dan berlanjut sampai lima kali pengamatan. Efektivitas mikroba antagonis dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$EI = \frac{Ca - Ta}{Ca} \times 100\%$$

Keterangan:

EI = Efektivitas Mikroba Antagonis

Ca = Kejadian Penyakit pada perlakuan kontrol

Ta = Kejadian Penyakit pada setiap perlakuan mikroba antagonis

3.6.5 Pengukuran Tinggi Tanaman dan Perhitungan Jumlah Daun

Peubah lain yang diamati pada pengujian di lahan pengamatan adalah tinggi tanaman dan jumlah daun tanaman tomat. Pengukuran tinggi tanaman dan perhitungan jumlah daun dilakukan setelah inokulasi bakteri antagonis dan bakteri patogen *R. solanacearum* dengan cara sebagai berikut:

a) Tinggi Tanaman (cm)

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan dengan cara mengukur tinggi tanaman dari pangkal batang hingga tajuk tertinggi menggunakan penggaris atau meteran.

b) Jumlah daun (per tanaman)

Pengamatan jumlah daun dilakukan dengan cara menghitung daun yang terdapat pada tanaman tomat dengan ciri daun berwarna hijau dan tumbuh menjadi helai sempurna.

3.7 Analisis Data

Hasil pengamatan pengujian antagonis secara *in vitro* dan pengamatan secara *in vivo* dianalisa secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan apabila terdapat perbedaan nyata akan diuji lanjut dengan uji Duncan (DMRT) pada taraf kesalahan 5%.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Eksplorasi dan Isolasi Rizobakteri pada Tumbuhan Famili Solanaceae di UB *Forest*

Eksplorasi dilakukan pada tumbuhan Solanaceae di UB *Forest* yaitu Tumbuhan cepoka dan kecubung sebanyak 3 ulangan. Hasil eksplorasi rizobakteri tumbuhan Solanaceae didapatkan 48 isolat bakteri dengan rincian isolat bakteri pada tumbuhan cepoka didapatkan 26 isolat dengan kode CP dan 22 isolat dari tumbuhan kecubung dengan kode KC. Hasil tersebut didasarkan pada perbedaan karakteristik morfologi koloni dan warna bakteri. Menurut Subba-Rao (1994), keragaman mikroorganisme tanah yang ditemui dipengaruhi oleh interaksi antara tanaman, kesuburan tanah, kondisi lingkungan fisik dan tekanan mikroorganisme lain.

Selain itu di kawasan UB *forest* terdapat berbagai jenis tumbuhan yang dapat mempengaruhi keragaman mikroorganisme di dalam tanah. Menurut Carney dan Matson (2005), terdapat interaksi yang erat antara keragaman tanaman dengan keragaman mikroorganisme tanah. Tumbuhan yang berbeda akan menghasilkan jenis dan komposisi eksudat yang berbeda. Perbedaan jenis dan komposisi eksudat yang diproduksi oleh akar akan menentukan komposisi keragaman komunitas mikroorganisme, terutama pada bagian rizosfer. Selain itu, eksudat yang dihasilkan oleh perakaran tumbuhan juga mempengaruhi aktivitas mikroorganisme rizosfer. Beberapa mikroorganisme rizosfer berperan dalam siklus hara dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tanaman serta sebagai pengendali hayati terhadap patogen akar (Simatupang, 2008).

Isolat bakteri tersebut kemudian dilakukan seleksi untuk mengetahui potensinya dalam memacu pertumbuhan tanaman dan menghambat pertumbuhan patogen *R. solanacearum*.

4.2 Seleksi Rizobakteri sebagai PGPR dan Agens Antagonis

4.2.1 Pengujian Aktivitas *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*

Sebanyak 48 bakteri hasil eksplorasi dilakukan pengujian aktivitas PGPR berupa penambat nitrogen dan pelarut fosfat. Aktivitas penambat nitrogen

dilakukan dengan menumbuhkan pada media Burk. Sedangkan aktivitas pelarut fosfat ditumbuhkan pada media Pikovskaya.

Bakteri Pelarut Fosfat

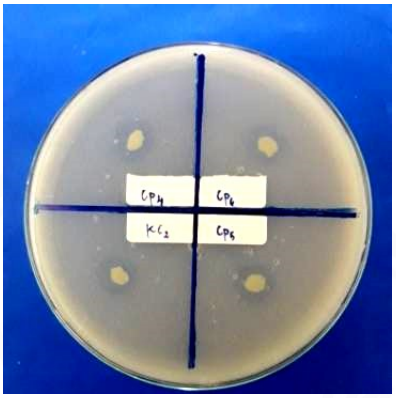
Tabel 2. Hasil seleksi bakteri yang mampu melarutkan fosfat pada media Pikovskaya

Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan
CP 1	+	CP 18	-	KC 9	-
CP 2	+	CP 19	-	KC 10	+
CP 3	+	CP 20	+	KC 11	-
CP 4	+	CP 21	+	KC 12	-
CP 5	+	CP 22	+	KC 13	+
CP 6	+	CP 23	+	KC 14	-
CP 7	-	CP 24	-	KC 15	+
CP 8	+	CP 25	+	KC 16	+
CP 9	-	CP 26	-	KC 17	+
CP10	+	KC 1	+	KC 18	+
CP 11	+	KC 2	+	KC 19	+
CP 12	+	KC 3	-	KC 20	+
CP 13	-	KC 4	-	KC 21	+
CP 14	+	KC 5	-	KC 22	-
CP 15	+	KC 6	+		
CP 16	+	KC 7	+		
CP 17	+	KC 8	+		

Keterangan: CP: Cepoka; KC: Kecubung; (+): bakteri tumbuh; (-): bakteri tidak tumbuh

Data pada tabel menunjukkan bahwa dari 48 isolat bakteri hasil eksplorasi terdapat 69% atau 33 isolat bakteri yang mampu melarutkan fosfat, ditandai dengan zona bening yang terbentuk disekitar koloni pada media Pikovskaya (Gambar 10). Hal tersebut karena dipecahnya $Ca_3(PO_4)_2$ yang terdapat pada media Pikovskaya. Ketersediaan fosfat dalam tanah umumnya rendah, karena fosfat terikat dalam bentuk Fe-fosfat dan Al-fosfat pada tanah asam atau dalam bentuk $Ca_3(PO_4)_2$ pada tanah basa, sehingga fosfat tidak dapat begitu saja digunakan oleh tanaman (Suliasih dan Rahmat, 2007). Bakteri pelarut fosfat mampu menyediakan unsur hara P bagi tanaman dengan melalui 3 mekanisme yaitu menghasilkan senyawa pelarut P (asam organik, siderofor, proton, ion hidroksil, CO_2); sekresi enzim pelarut P; serta melepas P dalam proses degradasi substrat (Sharma *et al.,* 2013). Mikroorganisme yang termasuk dalam kelompok bakteri pelarut fosfat antara lain *Pseudomonas striata*, *P. diminuta*, *P. fluorescens*, *P. cerevisia*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. denitrificans*, *P. rathonis*, *Bacillus polymyxa*, *B. laevolacticus, B. megatherium, Thiobacillus* sp., *Mycobacterium, Micrococcus,*

Flavobacterium, Escherichia freundii, Cunninghamella, Brevibacterium spp., *Serratia* spp., *Alcaligenes* spp., *Achromobacter* spp., dan *Thiobacillus* sp. Kelompok bakteri pelarut fosfat yang banyak terdapat pada lahan pertanian di Indonesia berasal dari genus Enterobacter dan Mycobacterium (Gunarto dan Nurhayati, 1994).



Gambar 10. Hasil Seleksi isolat bakteri pelarut fosfat pada media Pikovskaya dengan masa inkubasi 48 jam

Bakteri Penambat Nitrogen

Karakteristik bakteri PGPR yang mampu menambat nitrogen ditandai dengan pertumbuhan yang baik di media Burk (Gambar 11). Hasil seleksi menunjukkan bahwa dari 48 isolat bakteri hasil eksplorasi terdapat 56% atau 27 isolat bakteri yang mampu menambat nitrogen. Nitrogen merupakan salah satu unsur yang melimpah di alam ini dan keberadaannya sangat dibutuhkan oleh organisme hidup untuk melangsungkan kehidupannya (Benson, 2001). Namun nitrogen dalam bentuk N_2 bebas di atmosfer tidak dapat langsung diserap oleh tanaman tingkat tinggi. Tumbuhan menyerap unsur nitrogen dari lingkungannya dalam bentuk senyawa amonium (NH_4^+). Unsur ini dapat diperoleh dari tanah dengan bantuan mikroorganisme tertentu yang dikenal sebagai bakteri penambat nitrogen (Hartono *et al*., 2014).

Bakteri penambat nitrogen memiliki kemampuan meningkatkan efisiensi penggunaan N-tersedia dalam tanah. Bakteri tersebut menggunakan nitogen bebas untuk sintesis sel protein dimana protein tersebut akan mengalami proses mineralisasi dalam tanah setelah bakteri mengalami kematian, dengan demikian bakteri berkontribusi terhadap ketersediaan nitrogen untuk tanaman. Selain itu

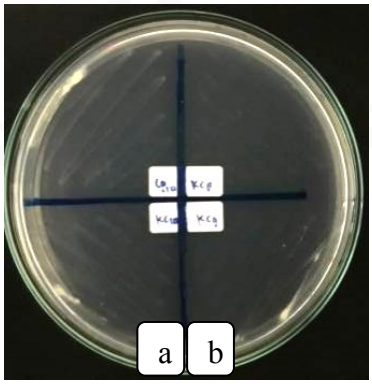
jumlah nitrogen hasil penambatan nitrogen secara biologis merupakan yang terbesar dari seluruh proses penambatan N2 atmosfer menjadi ion amonium (Danapriatna, 2010).

Tabel 3. Hasil seleksi bakteri yang mampu menambat nitrogen pada media Burk

Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan
CP 1	+	CP 18	-	KC 9	+
CP 2	+	CP 19	+	KC 10	+
CP 3	+	CP 20	-	KC 11	+
CP 4	+	CP 21	-	KC 12	+
CP 5	+	CP 22	-	KC 13	+
CP 6	+	CP 23	-	KC 14	+
CP 7	-	CP 24	-	KC 15	+
CP 8	-	CP 25	-	KC 16	+
CP 9	+	CP 26	-	KC 17	-
CP 10	+	KC 1	+	KC 18	-
CP 11	+	KC 2	+	KC 19	-
CP 12	+	KC 3	-	KC 20	+
CP 13	-	KC 4	-	KC 21	+
CP 14	+	KC 5	+	KC 22	-
CP 15	-	KC 6	+		
CP 16	-	KC 7	+		
CP 17	-	KC 8	-		

Keterangan: CP: Cepoka; KC: Kecubung; (+): bakteri tumbuh; (-): bakteri tidak tumbuh

Bakteri yang memiliki kemampuan dalam menambat nitrogen banyak ditemukan pada bagian perakaran tanaman (rizosfer), karena merupakan bagian yang paling kaya akan mikroorganisme (Bruehl, 1987). Mikroorganisme yang termasuk dalam kelompok bakteri penambat nitrogen antara lain *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum* dan *Herbaspirillum* (James dan Olivares, 1997).



Gambar 11. Hasil seleksi bakteri penambat N pada media Burk dengan masa inkubasi 48 jam: a. tumbuh; b. tidak tumbuh

4.2.2 Bakteri Antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum*

Dari 48 isolat bakteri yang diisolasi, kemudian dilakukan seleksi potensi Antagonis. Seleksi dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solanacearum*. Bakteri yang mempunyai sifat antagonis ditandai dengan terbentuknya zona bening atau *halozone* di sekitar perlakuan.

Tabel 4. Hasil seleksi rizobakteri dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* setelah 24 jam inokulasi

Kode Isolat	Zona Bening (cm)	Kode Isolat	Zona Bening (cm)
CP 3	2,50	CP 23	5,00
CP 4	1,60	CP 24	2,00
CP 6	1,20	CP 25	1,00
CP 7	4,50	KC 2	1,50
CP 8	4,80	KC 5*	3,30
CP 9	3,00	KC 6	2,60
CP 11	1,70	KC 7	2,00
CP 12	1,80	KC 8	2,50
CP 16	5,00	KC 11	2,20
CP 17	1,40	KC 12	1,30
CP 18	5,00	KC 15	2,60
CP 19	3,50	KC 18	3,60
CP 20*	4,30	KC 19	1,20
CP 21	2,50	KC 20*	5,00

Keterangan: CP: Cepoka; KC: Kecubung; (*): pengujian selanjutnya

Hasil seleksi didapatkan 28 isolat bakteri yang bersifat antagonis dan memiliki kemampuan zona hambat yang bervariasi terhadap *R. solanacearum* (Tabel 4). Menurut Baker dan Cook (1983), kemampuan antagonis masing-masing isolat yang berbeda ditentukan oleh gen masing-masing mikroba. Dari 28 isolat bakteri yang telah diuji kemampuan antagonisnya, dipilih tiga isolat bakteri berdasarkan diameter zona hambat paling besar dan memiliki potensi sebagai bakteri PGPR, yaitu mampu melarutkan fosfat dan menambat N untuk nantinya dilakukan pengujian lebih lanjut dalam bentuk isolat tunggal dan konsorsium. Tiga isolat tersebut selanjutnya dikarakterisasi, diidentifikasi dan digunakan untuk pengujian berikutnya. Isolat tersebut adalah bakteri KC 5, KC 20 dan CP 20.

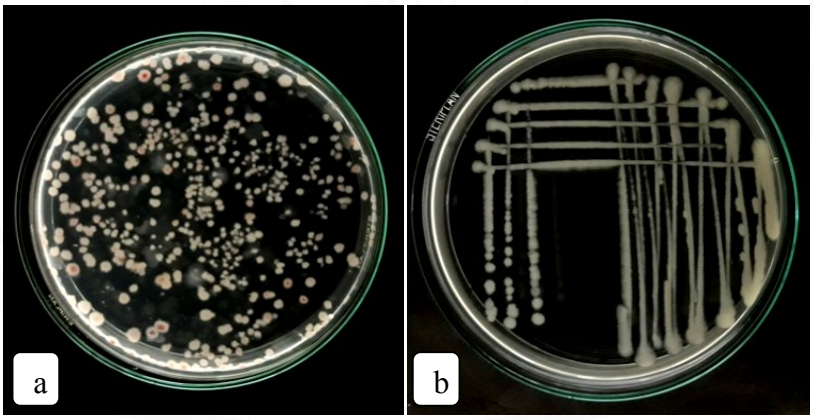
4.3 Isolasi Bakteri Patogen *R. solanacearum* dan Uji Patogenisitas

Isolasi Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Isolasi bakteri patogen *R. solanacearum* dilakukan pada tanaman tomat yang berumur 4 minggu. Tanaman yang bergejala layu bakteri yaitu pada bagian

pangkal batang akan mengeluarkan massa bakteri berwarna putih ketika dimasukkan kedalam wadah yang berisi aquades steril. Menurut Prasada Rao *et al*., (2000), bakteri layu bersifat larut dalam air sehingga dalam waktu beberapa menit massa bakteri akan merembes keluar dari permukaan irisan dan nampak mirip kabut putih. Massa bakteri tersebut kemudian digoreskan pada media TZC (*Tetrazolium Chloride*) (Gambar 12a).

Media TZC merupakan media selektif yang dapat membedakan antara bakteri avirulen dengan bakteri virulen. Karakter koloni bakteri *R. solanacearum* yang ditumbuhkan pada media selektif TZC memperlihatkan bentuk koloni yang agak membesar, berlendir, berwarna merah dibagian tengahnya dengan tepian putih. Dari karakter koloni tersebut dapat diketahui bahwa isolat bakteri *R. solanacearum* termasuk bakteri virulen. Menurut James *et al*., (2003) koloni bakteri *R. solanacearum* yang virulen memiliki karakter berupa koloni bakteri berlendir, berwarna putih dengan warna merah muda di tengah, sedangkan untuk bakteri yang avirulen memiliki karakter koloni berwarna merah tua. Dari hasil isolasi tersebut, kemudian bakteri *R. solanacearum* dilakukan perbanyakan dengan menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) sebagai bahan pengujian lebih lanjut (Gambar 12b).



Gambar 12. Koloni bakteri patogen *R. solanacearum* pada pengamatan 48 jam: a. Media TZC; b. Media NA

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas bertujuan untuk membuktikan bahwa isolat yang didapatkan bisa menimbulkan gejala yang sama dengan gejala penyakit yang ditemukan sebelumnya. Pengujian dilakukan dengan menggunakan bakteri *R.*

solanacearum hasil isolasi pada media TZC. Bakteri tersebut diujikan pada tanaman tomat sehat yang berumur 3 minggu di polybag (Gambar 13a). Tingkat serangan penyakit layu bakteri yang disebabkan patogen *R. solanacearum* muncul pada hari ke-7 setelah inokulasi. Gejala awal yang muncul yaitu tanaman layu dan dimulai pada daun muda sehingga mengakibatkan ujung batang lunglai. Serangan lebih lanjut mengakibatkan daun berubah menjadi kuning, mengering dan akhirnya mati (Gambar 13b).

Hasil dari inokulasi patogen *R. solanacearum* memperlihatkan gejala yang sama dengan gejala penyakit layu bakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Semangun (2007), yaitu gejala awal yang terlihat pada tanaman tomat berupa layu pada beberapa daun muda, daun tua menguning, tanaman menjadi kerdil, akhirnya tanaman layu total dan mati. Bakteri patogen *R. solanacearum* mampu menginfeksi tanaman melalui bagian akar dan batang yang terluka, baik disebabkan oleh serangga maupun luka mekanis. Menurut Zhu *et al*., (2010), bahwa setelah menginfeksi tanaman melalui luka, bakteri ini kemudian mengkolonisasi pembuluh xilem dan menyebar dengan cepat hingga batang tanaman sehingga menyebabkan layu.

Gambar 13. Hasil uji patogenisitas *R. solanacearum* pada tanaman tomat usia 3 Minggu Setelah Tanam (MST): a. tanaman sehat; b. tanaman bergejala layu bakteri

4.4 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang ditemukan merupakan bakteri patogen tanaman atau bukan. Menurut Schaad *et al.,* (2001), reaksi hipersensitif adalah respon ketahanan tanaman untuk

melokalisasi bakteri sehingga tanaman dapat mengatasi serangan berbagai jenis bakteri yang berpotensi menyebabkan penyakit.

Gambar 14. Hasil uji hipersensitif isolat bakteri antagonis pada daun tembakau pada pengamatan 72 jam: a. isolat KC 5; b. KC 20; c. CP 20

Pengamatan uji hipersensitif pada tanaman tembakau dilakukan selama 24-72 jam. Berdasarkan hasil uji hipersensitif pada 3 isolat bakteri yaitu isolat KC 5, KC 20 dan CP 20 tidak menimbulkan gejala nekrotik di sekitar area uji. Tidak munculnya gejala nekrotik pada daun tembakau menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut diduga tidak bersifat patogenik terhadap tanaman (Gambar 14).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

4.5 Identifikasi Bakteri

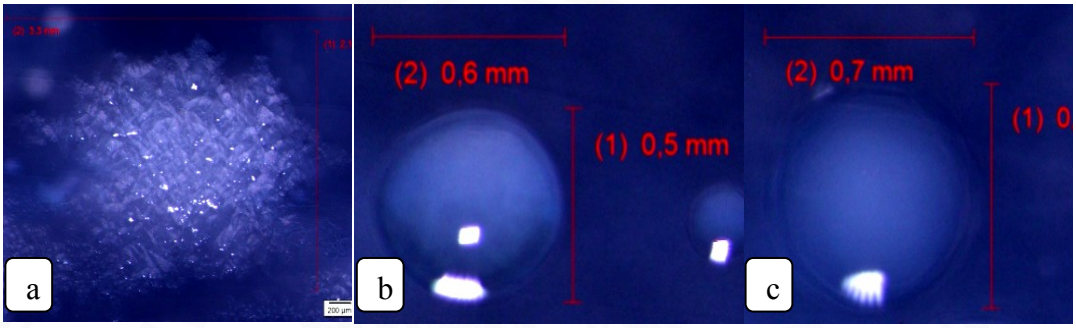
Tabel 5. Hasil karakterisasi rizobakteri tumbuhan Solanaceae

Kode Isolat	Karakterisasi morfologi					Karakterisasi fisiologi dan biokimia						
	Bentuk	Elevasi	Warna	Tepi	Mukoid	Bentuk sel	Pewarnaan Gram	Uji KOH 3%	Uji OF	Media YDC	Media King's B	Genus
KC 5	Tidak teratur	Cembung	Putih pekat	Bergerigi	Tidak ada	Batang	Ungu	Tidak berlendir	Fermentatif fakultatif	TU	TU	*Bacillus* sp.
KC 20	Bulat	Cembung	Kuning bening	Rata	Ada	Batang	Merah	Berlendir	Oksidatif	TU	Berpendar	*Pseudomonas* sp.
CP 20	Lonjong	Rata	Putih	Rata	Ada	Batang	Merah	Berlendir	Fermentatif fakultatif	Kuning	TU	*Pantoea* sp.

Keterangan: Karakterisasi morfologi, fisiologi, dan biokimia rizobakteri tumbuhan Solanaceae. (TU): tidak diuji.

Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi morfologi koloni bakteri dilakukan dengan mengamati koloni tunggal dari biakan bakteri (Gambar 15). Hasil karakterisasi morfologi koloni rizobakteri tumbuhan Solanaceae yang ditumbuhkan pada media NA diketahui bahwa koloni bakteri yang berpotensi sebagai antagonis memiliki morfologi yang berbeda. Berdasarkan hasil diketahui umumnya morfologi koloni bakteri memiliki karakter berwarna putih sampai kuning dan bentuk koloni yang dominan yaitu bulat.



Gambar 15. Karakteristik morfologi koloni tunggal bakteri antagonis pada masa inkubasi 48 jam: a. KC 5; b. KC 20; c. CP 20

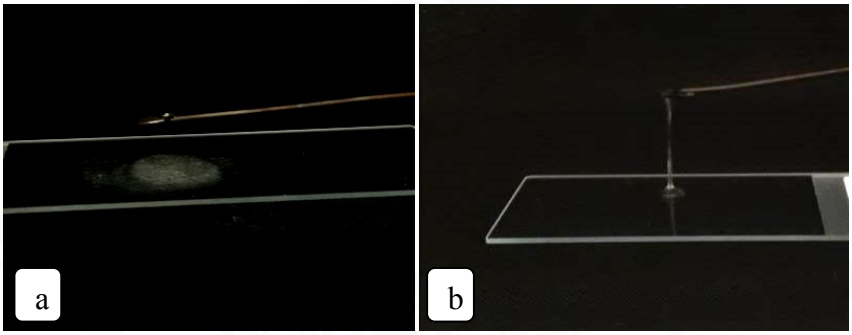
Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi fisiologi dan biokimia bakteri termasuk kedalam tahapan identifikasi bakteri. Menurut Sudarsono (2008), ciri-ciri utama suatu bakteri yang perlu diketahui dalam mengkarakterisasi bakteri adalah melalui beberapa uji morfologi dan biokimia. Beberapa uji yang dilakukan untuk mengidentifikasi meliputi: uji Gram dengan KOH 3%, dan pewarnaan Gram, uji produksi endospora, uji katalase, uji oksidatif dan fermentatif, uji pertumbuhan pada media YDC dan uji Pigmen Fluorescent pada Media King's B. Tahapan identifikasi dilakukan menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*., (2001).

1) Uji KOH

Hasil uji KOH 3% pada 3 isolat bakteri antagonis menunjukkan 1 isolat bakteri bersifat Gram positif dan 2 bakteri yang bersifat Gram negatif. Bakteri Gram positif yaitu isolat KC 5, sedangkan bakteri yang termasuk Gram negatif terdiri dari isolat KC 20 dan CP 20. Menurut Schaad *et al*., (2001) dalam uji bakteri terhadap KOH 3% menyatakan bakteri Gram positif tidak tampak

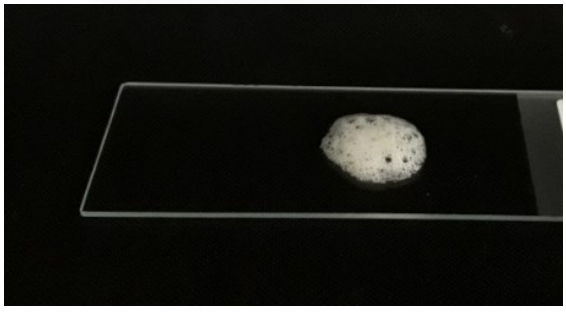
berlendir, encer, dan ketika ditarik dengan jarum Ose tidak terangkat (Gambar 16a), sedangkan bakteri Gram negatif tampak berlendir, lengket dan terangkat seperti benang ketika ditarik menggunakan jarum Ose (Gambar 16b). Bakteri Gram positif tidak akan membentuk lendir pada kaca objek setelah dicampur dengan KOH 3%, hal ini dikarenakan kelompok bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal (Suslow *et al*., 1982). Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki komponen peptidoglikan yang tipis, sehingga memudahkan sel Gram negatif pecah (Waluyo, 2005).



Gambar 16. Hasil pengujian KOH 3% pada beberapa isolat bakteri antagonis: a. tidak berlendir; b. berlendir

2) Uji Katalase

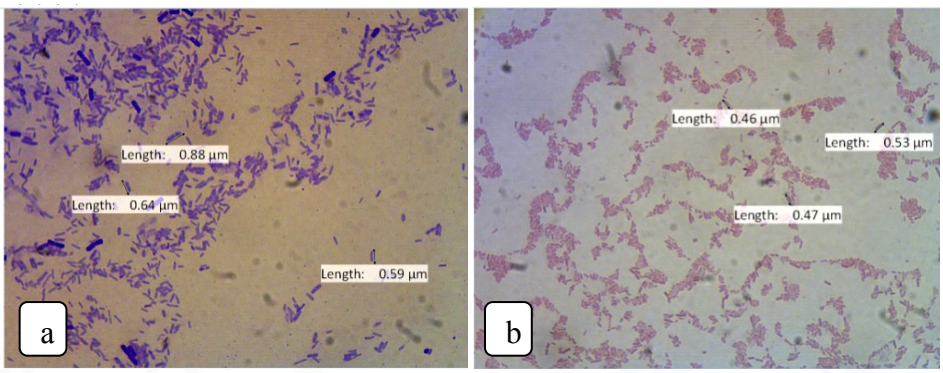
Tujuan uji katalase adalah untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Hadioetomo, 1990). Hasil uji katalase terhadap isolat bakteri antagonis menunjukkan reaksi positif (Gambar 17). Menurut Lay (1994), katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut.



Gambar 17. Hasil uji katalase pada isolat bakteri KC 20

3) Uji Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram digunakan untuk mengetahui bentuk sel bakteri. Hasil pengujian pewarnaan Gram menunjukkan bahwa satu isolat bakteri memiliki warna ungu yang menandakan bakteri tersebut termasuk dalam Gram positif (Gambar 18a). Dua isolat bakteri lainnya masuk dalam Gram negatif dengan bentuk sel batang yang berwarna merah di bawah mikroskop (Gambar 18b).

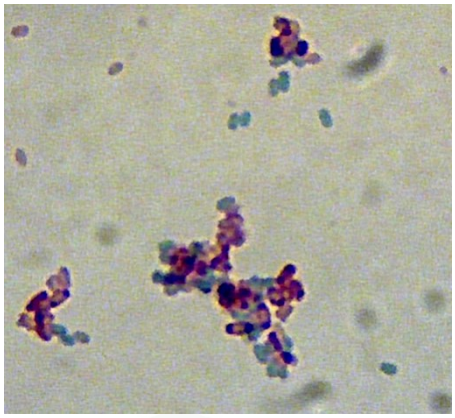


Gambar 18. Hasil pengujian Gram pada isolat antagonis: a. bakteri Gram positif; b. bakteri Gram negatif

Bakteri Gram positif terlihat berwarna ungu karena asam-asam ribonukleat pada sitoplasma sel-sel Gram positif membentuk ikatan yang lebih kuat dengan kompleks ungu kristal violet sehingga ikatan kimiawi tersebut tidak mudah dipecahkan oleh pemucat warna (Hadioetomo, 1993). Reaksi tersebut didasarkan atas perbedaan komposisi kimiawi dinding sel. Sel Gram positif mempunyai dinding dengan lapisan peptidoglikan yang tebal (Sunatmo, 2007). Bakteri Gram negatif terlihat berwarna merah muda. Hal ini dikarenakan dinding sel bakteri Gram negatif mengandung sedikit peptidoglikan dan banyak lipid yang akan larut dalam Gram C (alkohol aseton) pada saat pembilasan (Cappucino *et al*., 2001).

4) Uji Pewarnaan Endospora

Isolat bakteri KC 5 merupakan bakteri Gram positif. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994), untuk mengetahui genus dari bakteri Gram positif tersebut harus dilakukan pewarnaan endospora. Hasil dari pewarnaan endospora pada bakteri KC 5 setelah dilihat dengan menggunakan mikroskop menunjukkan warna hijau yang mengindikasikan bahwa bakteri tersebut memiliki endospora (Gambar 19).

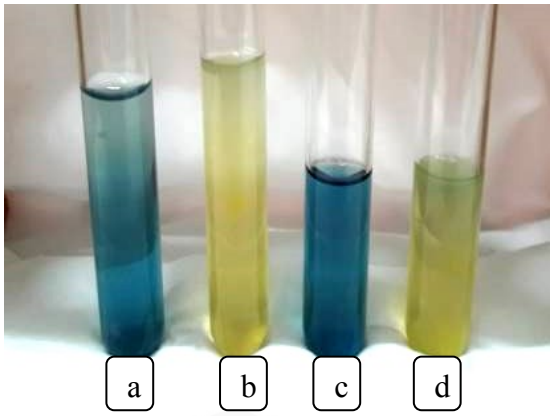


Gambar 19. Pewarnaan endospora isolat KC 5

Endospora merupakan struktur yang tahan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim seperti kering, pemanasan dan keadaan asam. Endospora berbentuk sangat padat dan refraktil karena memiliki kandungan air yang sangat rendah. Bakteri yang memiliki endospora sangat sulit diwarnai sehingga dibutuhkan pewarnaan spesifik. Pewarna spesifik yang digunakan adalah *malachite green*. Bakteri penghasil spora tahan terhadap pewarnaan. Bakteri yang menghasilkan spora akan mengikat kuat senyawa pewarna yaitu *malachite green* dan ketika dilakukan pewarnaan selanjutnya menggunakan safranin, sel spora tidak dapat berikatan dengan pewarna lain karena sudah berikatan dengan *malachite green*. Oleh karena itu warna spora bakteri adalah hijau (Assani, 1994).

5) Uji Oksidatif-Fermentatif

Uji ini bertujuan untuk menentukan kemampuan mikrobia dalam memetabolisme karbohidrat secara oksidasi atau fermentasi (Lay, 1994). Pengujian ini juga dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri mampu menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Oksidase akan terjadi pada organisme aerob yaitu pada tabung yang tidak ditutup dengan water agar. Hasil positif jika terbentuk warna kuning. Sedangkan fermentasi terjadi pada bakteri anaerob yaitu tabung yang ditutup dengan water agar. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning. Bakteri fakultatif dapat dilihat dari terbentuknya warna kuning pada kedua tabung.

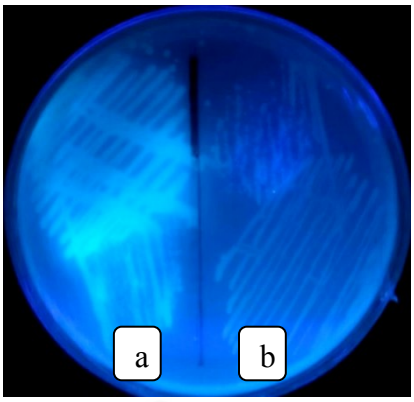


Gambar 20. Hasil pengujian oksidatif-fermentatif isolat bakteri KC 5 yang bersifat antagonis. a. kontrol dengan water agar; b. isolat bakteri dengan water agar; c. kontrol tanpa water agar; d. isolat bakteri tanpa water agar

Pengamatan untuk uji OF dengan membandingkan medium OF dengan atau tanpa water agar yang diinokulasi bakteri terhadap medium kontrol yang berwarna biru. Dari hasil pengamatan didapatkan bahwa isolat bakteri KC 5 dan CP 20 pada medium yang ditutup water agar dan yang tidak ditutup water agar dihasilkan perubahan medium dari biru menjadi kuning. Maka bakteri tersebut dapat digolongkan dalam bakteri anaerob fakultatif (Gambar 20). Sedangkan pada isolat bakteri KC 20 diketahui tidak adanya perubahan pada medium OF yang ditutup dengan water agar, medium OF yang diinokulasikan bakteri tetap berwarna biru. Sehingga bakteri KC 20 dapat digolongkan dalam bakteri aerob.

6) Pigmen Fluorescens pada media King's B

Uji ini dilakukan untuk membedakan kelompok bakteri *Pseudomonas* sp. dengan kelompok bakteri lainnya. Berdasarkan hasil uji pada isolat bakteri KC 20 diketahui bahwa isolat tersebut adalah bakteri *Pseudomonas* sp. Hal ini terlihat saat biakan bakteri disinari lampu ultra violet (UV) menghasilkan warna biru berpendar sehingga digolongkan sebagai bakteri pendar fluor (Gambar 21). Menurut Schaad *et al*., (2001), adanya pigmen fluorescens setelah bakteri ditumbuhkan pada medium Kings' B menunjukkan bahwa bakteri termasuk golongan *Pseudomonas fluorescens*. Fluoresensi ini dihasilkan oleh pigmen fluorescens berupa senyawa fluoresein atau pioverdin yang akan terbentuk apabila bakteri tumbuh pada media yang kurang unsur besi seperti media King's B.



Gambar 21. Uji pigmen fluorescens: a. isolat bakteri KC 20 berpendar; b. isolat bakteri CP 6 tidak berpendar

7) Pertumbuhan pada Media YDC

YDC merupakan salah satu media yang digunakan untuk membedakan pertumbuhan bakteri *Erwinia* sp. dengan *Pantoea* sp. Berdasarkan pernyataan Schaad *et al*., (2001) pengujian pada media YDC dikatakan bereaksi positif apabila koloni berwarna kuning dan termasuk genus *Pantoea* sp. sedangkan jika koloni bakteri berwarna putih dikatakan bereaksi negatif dan termasuk genus *Erwinia* sp. Berdasarkan hasil pengujian isolat CP 20 menunjukkan reaksi positif yaitu pertumbuhan koloni berwarna kuning pada media YDC sehingga dapat diketahui bahwa isolat CP 20 termasuk dalam genus *Pantoea* sp. (Gambar 22).

Gambar 22. Pertumbuhan koloni isolat bakteri CP 20 pada media YDC

Identifikasi Rizobakteri Tumbuhan Solanaceae

Tiga isolat rizobakteri tumbuhan Solanaceae yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* selanjutnya diidentifikasi dengan tahapan menurut

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*., (2001) sebagai berikut:

a. Isolat KC 5

Bakteri dengan kode isolat KC 5 memiliki bentuk koloni tidak teratur, tepi koloni bergerigi, warna koloni putih pekat dan elevasi cembung. Hasil uji fisiologis menunjukkan tidak berlendir ketika ditetesi KOH 3% dan berwarna ungu pada saat pewarnaan Gram, sehingga merupakan bakteri Gram positif. Isolat KC 5 menghasilkan spora pada saat pengujian pewarnaan endospora dan bereaksi positif pada saat uji katalase. Bakteri memiliki bentuk basil, dan bereaksi positif pada media OF yang ditandai dengan perubahan warna dari biru menjadi kuning pada kedua tabung saat pengujian oksidatif-fermentatif, sehingga bakteri tersebut bersifat anaerobik fakultatif. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*., (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Bacillus* sp.

b. Isolat KC 20

Bakteri dengan kode isolat KC 20 memiliki bentuk koloni bulat, tepi koloni rata, warna koloni kuning bening dan elevasi cembung. Hasil uji fisiologis menunjukkan berlendir ketika ditetesi KOH 3% dan berwarna merah pada saat pewarnaan Gram, sehingga merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri memiliki bentuk basil dan bereaksi negatif pada saat pengujian oksidatif-fermentatif sehinga bakteri tersebut bersifat oksidatif. Isolat bakteri KC 20 menghasilkan pigmen *fluorescent* yang ditandai dengan berpendarnya bakteri saat diuji pada media King's B. Selain itu isolat bakteri KC 20 bereaksi positif pada saat uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*., (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pseudomonas* sp.

c. Isolat CP 20

Bakteri dengan kode isolat CP 20 memiliki bentuk koloni bulat, tepi koloni rata, warna koloni putih dan elevasi rata. Hasil uji fisiologis menunjukkan berlendir ketika ditetesi KOH 3% dan berwarna merah pada saat pewarnaan Gram, sehingga merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri memiliki bentuk basil, dan bereaksi positif pada saat pengujian oksidatif-fermentatif dan pertumbuhan

koloni pada media YDC. Selain itu isolat bakteri KC 20 bereaksi positif pada saat uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*., (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pantoea* sp.

4.6 Uji Antagonis Konsorsium Rizobakteri tumbuhan Solanaceae terhadap Pertumbuhan *R. solanacearum* pada Cawan Petri

Pengamatan uji antagonisme antara bakteri antagonis dengan *R. solanacearum* pada cawan Petri dilakukan selama 2 hari sejak hari pertama inokulasi bakteri patogen dengan interval pengamatan setiap 24 jam. Penghambatan terjadi sejak 24 jam setelah inokulasi. Antagonisme antara bakteri patogen dengan bakteri antagonis ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening.

Hasil uji antagonisme pada cawan Petri menunjukkan bahwa semua perlakuan isolat tunggal, konsorsium bakteri antagonis, dan bakterisida menghasilkan zona bening yang bervariasi (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil uji antagonisme konsorsium bakteri antagonis terhadap pertumbuhan *R. solanacearum* pada cawan Petri

Perlakuan	Rerata zona bening (cm) pada pengamatan ke-	
	24 JSI ± SD	48 JSI ± SD
Streptomisin sulfat	2,25 ± 0,50b	1,88 ± 0,32bc
Bacillus sp.	3,24 ± 0,72c	2,50 ± 0,64c
Pseudomonas sp.	5,93 ± 0,53d	5,29 ± 0,58d
Pantoea sp.	1,48 ± 0,56ab	1,38 ± 0,48ab
Bacillus sp.+*Pseudomonas* sp.	5,30 ± 0,42d	5,14 ± 0,46d
Bacillus sp.+*Pantoea* sp.	1,80 ± 0,83ab	1,80 ± 0,81abc
Pseudomonas sp.+*Pantoea* sp.	1,10 ± 0,11a	1,10 ± 0,09ab
Bacillus sp.+*Pseudomonas* sp.+*Pantoea* sp.	1,40 ± 0,48ab	1,00 ± 0,05a

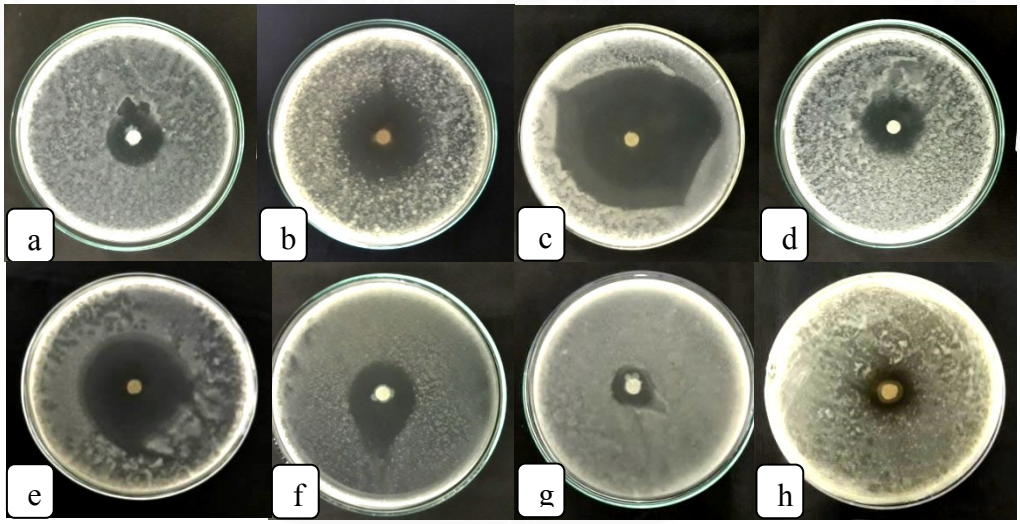
Keterangan: Huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%. JSI adalah jam setelah inokulasi; SD adalah standar deviasi.

Hasil analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata penghambatan isolat bakteri dalam bentuk isolat tunggal maupun konsorsium terhadap pertumbuhan bakteri patogen *R. solanacearum*. Perlakuan bakteri tunggal dan konsorsium pada penelitian ini menunjukkan variasi aktivitas pada keduanya. Perbedaan daya hambat ini diduga karena perbedaan jumlah populasi mikroba dan virulensi mikroba antagonis dalam menghambat pertumbuhan patogen *R.*

solanacearum. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Papuangan (2009), bahwa kemampuan menghambat suatu mikroba ditentukan oleh jenis strain bakteri dan senyawa antimikroba yang dihasilkan baik konsentrasi maupun kualitasnya.

Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa pada pengamatan 24 JSI hingga pengamatan 48 JSI, perlakuan isolat tunggal *Pseudomonas* sp. dan perlakuan konsorsium antara *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. menghasilkan zona bening yang lebih besar dibandingkan seluruh perlakuan yang lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat tunggal *Pseudomonas* sp. dan perlakuan konsorsium antara *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. menghasilkan kemampuan yang lebih besar dibandingkan dengan seluruh perlakuan yang lain dalam menghambat *R. solanacearum* pada cawan Petri.

Perlakuan isolat tunggal *Bacillus* sp. dan *Pantoea* sp. serta perlakuan konsorsium mikroba antagonis yang lain menghasilkan zona bening yang sama dengan bakterisida. Hal tersebut menunjukkan bahwa mikroba antagonis menghasilkan kemampuan yang sama dengan perlakuan bakterisida dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* pada cawan Petri.



Gambar 23. Zona bening yang dihasilkan oleh setiap perlakuan setelah 24 jam inkubasi: a. streptomisin sulfat; b. *Bacillus* sp.; c. *Pseudomonas* sp.; d. *Pantoea* sp.; e. *Bacillus* sp.+*Pseudomonas* sp.; f. *Bacillus* sp.+*Pantoea* sp.; g. *Pseudomonas* sp.+*Pantoea* sp.; h. *Bacillus* sp.+*Pseudomonas* sp.+*Pantoea* sp.

Zona bening yang terbentuk disebabkan oleh zat antimikroba yang dihasilkan bakteri (Zou *et al*., 2006). Zat antimikroba tersebut merupakan salah satu bentuk aktivitas senyawa antibiotik. Menurut Glick (1995), salah satu

mekanisme mikroba antagonis terutama rizobakteri dalam menghambat poliferasi patogen adalah dengan menyintesis antibiotik. Hal ini juga didukung oleh pernyataan menurut Arwiyanto *et al*., (2007), biakan *P. aeruginosa* mampu memproduksi endotoksin dan produk ekstraseluler yang mendukung invasi lokal dan penyebaran mikroorganisme. *Bacillus* sp. mampu menghambat pertumbuhan patogen *R. solanacearum* dengan memproduksi berbagai macam antibiotik untuk bakteri dan jamur (He *et al*., 1994). Menurut Mehrotra (1980), mekanisme penekanan oleh genus *Bacillus* sp. adalah antibiosis, dengan menghasilkan antibiotika bulbiformin yang beracun terhadap berbagai patogen tanaman. Suatu tipe *B. subtilis* yaitu *B. nato* menghasilkan antibiotika basitrasin yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa organisme. Selain itu, *Pantoea* sp. diketahui juga memiliki kemampuan menghambat patogen, isolat bakteri tersebut mampu memproduksi kitinase yang bersifat antagonis terhadap patogen tanaman (Sylvia, 2005). Dari pernyataan tersebut, dapat diketahui bahwa mikroba antagonis yang diuji dalam penelitian ini berpotensi sebagai PGPR karena memiliki kemampuan sebagai agens pengendali hayati dengan cara menghasilkan berbagai metabolit anti patogen.

Bakterisida diketahui mampu menghambat pertumbuhan beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen. Salah satu bakteri patogen yang dapat dikendalikan oleh bakterisida adalah *R. solanacearum*. Senyawa atau bahan aktif yang terdapat pada bakterisida adalah streptomisin sulfat 20%. Streptomisin merupakan aminoglikosida yang larut dalam air dan berasal dari bakteri *Streptomyces griseus*. Bakterisida dengan bahan aktif streptomisin merupakan salah satu bakterisida sistemik yang direkomendasikan untuk mengatasi beberapa masalah penyakit layu bakteri. Vanesste (2011), mengemukakan bahwa streptomisin digunakan untuk pengendalian penyakit kanker bakteri dan layu bakteri.

Perlakuan bakteri dalam bentuk konsorsium pada penelitian ini menunjukkan hasil yaitu campuran dari dua bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. lebih efektif menekan pertumbuhan *R. solanacearum* dibandingkan dengan pencampuran yang lain. Hal ini membuktikan bahwa ada mekanisme saling mendukung antar mikroba antagonis untuk menghambat perkembangan *R.*

solanacearum. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Baker dan Scher (1987), yang mengemukakan bahwa salah satu syarat agens pengendali hayati adalah kompatibel dengan agens hayati lain. Selain itu, bakteri yang kompatibel dapat berinteraksi dan bersinergi, serta berbagi sumber nutrisi yang sama. Hal ini menunjukkan perilaku kooperatif antar bakteri dalam suatu habitat dalam bentuk konsorsium (Bailey *et al*., 2006). Akan tetapi, pada hasil pengamatan diketahui perlakuan konsorsium lainnya memiliki nilai penghambatan lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan konsorsium bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Hal tersebut diduga karena terdapat bakteri yang tidak sinergis dengan bakteri antagonis lain sehingga mengakibatkan nilai penghambatan yang rendah. Tidak sinergisme antar mikroba memungkinkan terjadi penghambatan diantara bakteri antagonis yang diaplikasikan. Ketidakefektifan konsorsium disebabkan oleh ketidak cocokan antar mikroba sehingga tidak menguntungkan bagi aktivitas biokontrol (Raupach *et al*., 1998).

4.7 Uji Penekanan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat di Lahan Pengamatan

Persentase Kejadian Penyakit

Gejala awal yang ditunjukkan pada tanaman tomat yang terserang penyakit layu bakteri yaitu daun menguning, terdapat beberapa tanaman yang menjadi kerdil, tangkai dan batang tanaman mengalami kelayuan pada waktu cuaca sangat panas selama beberapa hari. Kemudian gejala berkembang menjadi tanaman layu secara menyeluruh. Layunya tanaman tomat oleh *R. solanacearum* dikarenakan bakteri *R. solanacearum* dalam proses infeksinya mengeluarkan senyawa eksopolisakarida yang berlebihan di dalam pembuluh *xylem*, akibatnya aliran air dari tanah ke seluruh tanaman tersumbat sehingga timbul gejala layu. Senyawa ekstraseluler tersebut adalah faktor penentu virulensi atau keganasan *R. solanacearum* (Saile *et al*., 1997).

Berdasarkan hasil dari analisis statistik didapatkan bahwa semua perlakuan mikroba antagonis baik dalam bentuk isolat tunggal maupun konsorsium memiliki potensi yang sama dengan kontrol bakterisida (*Streptomycin sulfat* 20%) dalam menekan perkembangan bakteri patogen *R. solanacearum* (Tabel 7).

Tabel 7. Persentase rerata kejadian penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* pada tanaman tomat

Perlakuan	Rerata Kejadian penyakit (%) setelah inokulasi pada pengamatan ke -			
	2	3	4	5
Aquades	12,50	27,50	27,50	32,50
Streptomisin sulfat	12,50	22,50	25,00	30,00
Bacillus sp.	12,50	15,00	17,50	22,50
Pseudomonas sp.	12,50	17,50	20,00	27,50
Pantoea sp.	7,50	17,50	20,00	22,50
Bacillus sp.+*Pseudomonas* sp.	12,50	20,00	22,50	27,50
Bacillus sp.+*Pantoea* sp.	12,50	20,00	20,00	22,50
Pseudomonas sp.+*Pantoea* sp.	10,00	17,50	20,00	20,00
Bacillus sp.+*Pseudomonas* sp.+*Pantoea* sp.	10,00	20,00	20,00	25,00

Keterangan: Data ditransformasi menggunakan transformasi akar kuadrat untuk keperluan analisis statistik.

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa aplikasi mikroba antagonis dalam bentuk isolat tunggal maupun konsorsium tidak memberikan pengaruh terhadap persentase kejadian penyakit. Hal ini diduga karena kondisi lingkungan yang kurang mendukung perkembangan patogen dalam mengkolonisasi jaringan tanaman, sehingga persentase kejadian penyakit yang dihasilkan masih rendah. Menurut Semangun (1996), mengatakan bahwa suatu penyakit tanaman dapat berkembang apabila tiga faktor yang mendukung saling berkaitan yaitu patogen tanaman yang virulen, lingkungan tempat tumbuh patogen mendukung, dan adanya tanaman inang yang rentan.

Kondisi suhu rata-rata pada lahan penelitian sekitar 36 ^{o}C, sedangkan untuk kelembabannya berkisar 40-45%. Kondisi tersebut merupakan salah satu faktor patogen *R. solanacearum* tidak berkembang dengan baik sehingga persentase kejadian penyakit layu bakteri menjadi rendah. Menurut Champoiseau dan Jones (2009), faktor lingkungan seperti temperatur, kelembapan serta adanya mikroorganisme antagonis akan mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri *R. solanacearum*. Suhu 30-35 ^{o}C dan kelembaban tanah yang tinggi merupakan kondisi terbaik *R. solanacearum* untuk berkembang. Sehingga dengan kondisi suhu yang tinggi dan kelembaban tanah kurang dari 50% bakteri *R. solanacearum* tidak bisa berkembang dan menyebar dengan baik. Selain itu, Bakteri *R. solanacearum* sangat sensitif terhadap kondisi kekeringan (Anitha *et al.,* 2003). Kondisi lingkungan ekstrim tidak kondusif untuk perkembangan bakteri *R.*

solanacearum, bakteri tersebut sangat sensitif terhadap kadar air rendah (kekeringan) (Hidayah dan Djajadi, 2009).

Persentase Efektivitas Mikroba Antagonis

Kemampuan masing-masing mikroba antagonis dapat dilihat berdasarkan persentase efektivitas mikroba antagonis tersebut dalam menekan penyakit layu bakteri. Efektivitas mikroba antagonis pada masing-masing perlakuan menunjukkan hasil yang bervariasi (Tabel 8).

Berdasarkan hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa perlakuan mikroba antagonis, baik dalam bentuk tunggal maupun konsorsium menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dibanding perlakuan bakterisida. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan mikroba antagonis lebih efektif dalam menekan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat. Menurut Soesanto (2008), efektivitas mikroba antagonis yang mampu menekan intensitas serangan patogen tanaman dapat disebabkan karena isolat mikroba antagonis tersebut mengandung nutrisi yang dapat menghasilkan metabolik sekunder yang bersifat antibiotik.

Tabel 8. Persentase efektivitas mikroba antagonis terhadap penyakit layu bakteri pada tanaman tomat

Perlakuan	Rerata Efektivitas mikroba antagonis (%) setelah inokulasi pada pengamatan ke -			
	2	3	4	5
Streptomisin sulfat	0,00	18,18	9,09	7,69
Bacillus sp.	0,00	45,45	36,36	30,77
Pseudomonas sp.	0,00	36,36	27,27	15,38
Pantoea sp.	40,00	36,36	27,27	30,77
Bacillus sp.+*Pseudomonas* sp.	0,00	27,27	18,18	15,38
Bacillus sp.+*Pantoea* sp.	0,00	27,27	27,27	30,77
Pseudomonas sp.+*Pantoea* sp.	20,00	36,36	27,27	38,46
Bacillus sp.+*Pseudomonas* sp.+*Pantoea* sp.	20,00	27,27	27,27	23,08

Rerata efektivitas mikroba antagonis mengalami fluktuasi pada setiap minggunya, hal ini tergantung pada persentase kejadian penyakit yang terjadi pada setiap perlakuan. Untuk perlakuan isolat tunggal, tingkat efektivitas mikroba tertinggi dihasilkan oleh perlakuan *Bacillus* sp. sebesar 45,45% pada pengamatan ketiga dan 30,77% pada pengamatan kelima. Sedangkan untuk perlakuan konsorsium, tingkat efektivitas mikroba tertinggi dihasilkan oleh perlakuan

konsorsium antara bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. sebesar 36,36% pada pengamatan ketiga dan 38,46% pada pengamatan kelima. Hasil penelitian tersebut sesuai dengan pernyataan Kumar dan Jagadeesh (2016), bahwa kombinasi bakteri dalam bentuk konsorsium bisa lebih efektif dalam mengendalikan berbagai jenis patogen tanaman. Akan tetapi, pada pengamatan keempat terjadi penurunan tingkat efektivitas mikroba, hal ini diduga karena faktor lingkungan yang menyebabkan mikroba antagonis kurang berkembang dengan baik.

Selain itu, untuk perlakuan isolat tunggal dan konsorsium mikroba yang lain menghasilkan tingkat efektivitas mikroba yang lebih rendah. Hal ini disebabkan karena peran mikroba antagonis untuk menghambat bakteri *R. solanacearum* masih kurang efektif. Menurut Knob dan Carmona (2008), suhu sangat mempengaruhi kecepatan pertumbuhan mikroba, kecepatan sintesis enzim dan kecepatan inaktivasi enzim. Sehingga suhu tanah yang cukup tinggi dapat menyebabkan perkembangan mikroba antagonis menjadi terhambat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sari (2012), bahwa pertumbuhan mikroba terjadi pada suhu dengan kisaran kira-kira 30 ^{o}C. Kecepatan pertumbuhan mikroba meningkat lambat dengan naiknya suhu mencapai kecepatan pertumbuhan maksimum. Di atas suhu maksimum kecepatan pertumbuhan mikroba menurun sangat cepat dengan naiknya suhu.

4.8 Variabel Pengamatan terhadap Pertumbuhan Tanaman Tomat

Tinggi Tanaman

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap tinggi tanaman tomat diketahui bahwa tinggi tanaman tomat bervariasi pada setiap perlakuan (Tabel 9). Hal tersebut menunjukkan bahwa aplikasi mikroba antagonis mampu mempengaruhi pertumbuhan tinggi tanaman tomat.

Pada pengamatan 1, 2 dan 3 rerata tinggi tanaman tomat menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada setiap perlakuan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada pengamatan 1,2 dan 3 aplikasi PGPR tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman tomat. Akan tetapi, berdasarkan hasil analisis ragam pada pengamatan 4 dan 5 menunjukkan hasil yang berbeda nyata, yang berarti aplikasi PGPR berpengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan tanaman. Perlakuan terbaik

terdapat pada perlakuan isolat tunggal *Bacillus* sp. dengan rerata tinggi tanaman sebesar 47,94 cm pada pengamatan 4 dan 48,19 cm pada pengamatan 5. Sedangkan untuk perlakuan konsorsium mikroba yang menunjukkan hasil terbaik ialah konsorsium antara bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. dengan rerata tinggi tanaman sebesar 46,30 cm pada pengamatan 4 dan 46,80 cm pada pengamatan 5.

Tabel 9. Hasil rerata tinggi tanaman tomat setelah inokulasi pathogen *R. solanacearum*

Perlakuan	Rerata Tinggi tanaman (cm) setelah inokulasi pada pengamatan ke -				
	1±SD	2±SD	3±SD	4±SD	5±SD
Aquades	36,25±3,41	36,31±0,50	36,70±1,00	36,98±2,14a	37,49±1,78a
Streptomisin sulfat	36,77±2,62	37,07±0,99	37,36±1,02	38,16±2,30a	38,86±1,70a
Bacillus sp.	39,38±3,93	44,13±3,44	45,72±4,58	47,94±5,95c	48,19±5,63c
Pseudomonas sp.	37,18±1,75	41,72±2,58	41,99±1,73	42,38±4,09abc	42,57±4,21abc
Pantoea sp.	36,85±2,54	39,87±1,45	40,22±0,73	40,66±1,14ab	40,91±1,34ab
Bacillus sp. + *Pseudomonas* sp.	37,40±7,82	38,30±8,24	41,70±8,46	42,10±3,77abc	42,20±3,68ab
Bacillus sp. + *Pantoea* sp.	37,60±3,01	39,10±2,80	39,70±3,01	40,70±5,21ab	41,00±4,87ab
Pseudomonas sp. + *Pantoea* sp.	38,90±3,23	40,40±9,27	43,40±8,16	46,30±6,09bc	46,80±5,50bc
Bacillus sp. + *Pseudomonas* sp.+*Pantoea* sp.	37,00±0,44	39,50±1,73	39,80±0,70	40,30±0,54ab	40,60±0,38ab

Keterangan: Huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%. SD adalah standar deviasi.

Pengaruh aplikasi konsorsium mikroba antagonis dapat dilihat pada hasil pengamatan, yaitu perlakuan konsorsium antara *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. yang menunjukkan hasil berbeda nyata dengan perlakuan menggunakan aquades. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan konsorsium antara *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. berpengaruh terhadap peningkatan tinggi tanaman tomat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Anggarwulan *et al*., (2008) bahwa bakteri PGPR yang diformulasikan dalam bentuk konsorsium mampu menstimulasi pertumbuhan tanaman karena mempunyai hubungan sinergisme yang baik dalam penambatan N dan pelarutan P sehingga mampu meningkatkan ketersediaan hara atau memproduksi fitohormon pemacu tumbuh tanaman dan mampu meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman.

Akan tetapi, berdasarkan hasil analisis ragam diketahui bahwa perlakuan konsorsium mikroba yang lain menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan kontrol menggunakan aquades. Artinya, perlakuan konsorsium mikroba yang lain

tidak berpengaruh terhadap peningkatan tinggi tanaman. Hal ini diduga karena terdapat bakteri yang memiliki viabilitas rendah, akibat faktor lingkungan yang kurang mendukung proses perkembangannya. Selain itu diduga terdapat bakteri yang tidak sinergis dengan bakteri antagonis lain sehingga kurang efektif ketika diaplikasikan di lapang. Tidak sinergisme antar mikroba memungkinkan terjadi penghambatan diantara bakteri antagonis yang diaplikasikan (Raupach *et al*., 1998).

Peningkatan tinggi tanaman tomat yang diaplikasikan bakteri PGPR menunjukkan bahwa penggunaan PGPR berdampak positif terhadap pertumbuhan tanaman. Bakteri PGPR diketahui aktif dalam mengkolonisasi di daerah akar tanaman dan memiliki 3 peran utama bagi tanaman yaitu: 1) sebagai biofertilizer, PGPR mampu mempercepat proses pertumbuhan tanaman melalui percepatan penyerapan unsur hara, 2) sebagai bioprotektan, PGPR melindungi tanaman dari patogen, dan 3) sebagai biostimulan, PGPR dapat memacu pertumbuhan tanaman melalui produksi fitohormon (Rai, 2006).

Fungsi biostimulan diakibatkan oleh adanya produksi salah satu hormon yaitu IAA (*Indole acetic acid*) (Aiman *et al*., 2013). IAA merupakan salah satu hormon pertumbuhan tanaman yang sangat penting karena IAA merupakan bentuk aktif dari hormon auksin yang dijumpai pada tanaman dan berperan dalam meningkatkan kualitas dan hasil tanaman, dapat meningkatkan perkembangan sel, merangsang pembentukan akar baru, memacu pertumbuhan, merangsang pembungaan, serta meningkatkan aktifitas enzim (A'yun *et al*., 2013).

Hasil pengujian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat bakteri PGPR memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat dan menambat nitrogen. Sehingga isolat bakteri tersebut mampu menyediakan unsur hara secara cepat bagi tanaman. Unsur nitrogen (N) tersedia berguna untuk mempercepat pertumbuhan tanaman secara keseluruhan, khususnya batang (Salisbury dan Ross, 1995). Unsur fosfor (P) tersedia penting untuk pertumbuhan sel sehingga dapat memperkuat batang (Elfiati, 2005). Penggabungan unsur nitrogen (N) dan fosfor (P) tersedia bagi tanaman yang dihasilkan bakteri pelarut fosfat dan bakteri penambat nitrogen, dapat meningkatkan kandungan klorofil dan kloroplas pada daun dan proses fotosintesis juga meningkat akibatnya pertumbuhan tanaman lebih baik.

Meningkatnya fotosintesis maka akan meningkatkan pertumbuhan dan perpanjangan sel, sehingga pertumbuhan tinggi tanaman yang terbentuk semakin tinggi (Gusniwati *et al.,* 2008).

Jumlah Daun

Daun yang dihitung dari masing-masing tanaman dilihat dari kenampakan daun yang masih sehat, segar dan berwarna hijau. Jumlah daun tersebut kemudian dihitung rerata dari masing-masing ulangan (Tabel 10).

Tabel 10. Hasil rerata jumlah daun tanaman tomat setelah inokulasi patogen *R. solanacearum*

Perlakuan	Rerata Jumlah daun (helai) setelah inokulasi pada pengamatan ke -				
	1±SD	2±SD	3±SD	4±SD	5±SD
Aquades	29,27±4,16	32,04±13,30	26,88±0,19a	29,93±4,31	21,25±1,02a
Streptomisin sulfat	30,78±6,57	32,97±7,77	34,21±5,69ab	30,73±6,94	26,57±6,19ab
Bacillus sp.	33,69±9,66	38,53±14,87	39,55±11,37b	36,28±12,85	30,45±5,35bc
Pseudomonas sp.	28,48±7,42	33,20±9,28	35,83±6,25ab	29,61±10,90	27,76±5,51abc
Pantoea sp.	29,70±5,86	35,73±6,83	43,22±1,03b	35,22±9,63	33,49±2,77c
Bacillus sp. + *Pseudomonas* sp.	30,20±11,02	33,90±14,49	38,30±7,24b	31,50±9,35	27,70±3,93abc
Bacillus sp. + *Pantoea* sp.	31,00±9,85	33,40±5,77	36,20±3,64ab	31,10±8,81	27,40±5,01abc
Pseudomonas sp. + *Pantoea* sp.	30,40±12,26	30,10±15,08	42,80±6,45b	31,90±14,35	32,80±6,35bc
Bacillus sp. + *Pseudomonas* sp. + *Pantoea* sp.	31,10±8,75	29,90±8,08	38,10±5,34b	31,60±3,89	27,20±5,57abc

Keterangan: Huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%. SD adalah standar deviasi.

Berdasarkan hasil analisis ragam, dapat diketahui bahwa aplikasi PGPR berpengaruh terhadap rerata jumlah daun tanaman tomat pada pengamatan 3 dan pengamatan 5. Rerata jumlah daun tertinggi terdapat pada perlakuan isolat tunggal *Pantoea* sp. dan perlakuan konsorsium antara *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. dengan jumlah daun sebesar 33 helai pada pengamatan 5. Hampir seluruh perlakuan menunjukkan hasil rerata jumlah daun yang lebih tinggi daripada kontrol bakterisida pada pengamatan terakhir.

Pengaruh aplikasi konsorsium mikroba terlihat pada perlakuan antara bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. yang menunjukkan hasil berbeda nyata

dengan perlakuan aquades. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan konsorsium antara bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. berpengaruh terhadap peningkatan jumlah daun tanaman tomat. Hasil penelitian tersebut sesuai dengan pernyataan Gofar (2003), bahwa konsorsium mikroba menghasilkan hormon auksin (IAA), giberelin (GA_3) dan sitokinin yang mampu merangsang pembentukan akar, sehingga serapan hara lebih efektif dan mengakibatkan proses suplai hara, air serta pertukaran sejumlah hormon dapat berjalan dengan baik.

Hasil penelitian terhadap aplikasi konsorsium bakteri PGPR tersebut sejalan dengan pernyataan Schroth (1978) yang menyatakan bahwa PGPR dapat menghasilkan IAA, sitokinin dan Giberelin. Kemampuan ini terlihat jelas pengaruhnya pada parameter yang diamati apabila dikaitkan dengan fungsi masing-masing hormon. Auksin dan giberelin sama-sama terdapat pada embrio dan meristem apikal dan berfungsi untuk pemanjangan sel. Selain itu terdapat unsur nitrogen sebagai penyusun dari semua protein dan asam nukleat. Semakin banyak nitrogen yang diserap oleh tanaman, daun akan tumbuh lebih lebar sehingga proses fotosintesis berjalan lancar dan biomassa total tanaman menjadi lebih banyak (Sudartiningsih *et al.,* 2002). Tanaman yang cukup mendapat suplai N akan membentuk helai daun yang luas dengan kandungan klorofil tinggi, sehingga tanaman dapat menghasilkan asimilat dalam jumlah yang cukup untuk menopang pertumbuhan vegetatif (Wijaya, 2008).

Pada pengujian sebelumnya, diketahui bahwa bakteri PGPR mampu melarutkan fosfat yang merupakan unsur pelengkap dalam pembentukan protein, enzim dan inti sel, serta bahan dasar untuk membantu proses asimilasi dan respirasi (Karasawa, 2001). Sehingga dengan adanya peningkatan penyerapan unsur P, tanaman mampu memenuhi kebutuhan energi atau ATP dalam melakukan suatu metabolisme. Proses metabolisme tersebut digunakan untuk menghasilkan hormon pertumbuhan yang penting untuk perkembangan tanaman tersebut (Sastrahidayat, 2011).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat bakteri hasil eksplorasi dari tumbuhan Solanaceae yaitu cepoka (*Solanum torvum* S.) dan kecubung (*Datura metel* L.) di UB *Forest* menghasilkan 48 isolat rizobakteri yang berbeda (26 rizobakteri cepoka dan 22 rizobakteri kecubung). Tiga isolat terpilih yang memiliki sifat PGPR dan antagonis terhadap patogen *R. solanacearum* digunakan untuk pengujian selanjutnya.
2. Pengujian konsorsium mikroba antagonis secara nyata mampu menghambat pertumbuhan patogen *R. solanacearum* secara *in vitro*, akan tetapi tidak memberikan pengaruh dalam menekan kejadian penyakit layu bakteri secara *in vivo*.
3. Hasil penelitian terhadap pertumbuhan tanaman tomat di lapang menunjukkan perlakuan konsorsium antara *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp. mampu meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah daun. Sedangkan untuk perlakuan isolat tunggal, hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan *Bacillus* sp. dalam meningkatkan tinggi tanaman dan isolat *Pantoea* sp. dalam meningkatkan jumlah daun tanaman tomat.
4. Berdasarkan identifikasi tiga isolat bakteri terpilih, isolat KC 5 berasal dari genus *Bacillus* sp., KC 20 dari genus *Pseudomonas* sp., dan CP 20 berasal dari genus *Pantoea* sp.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sebelum pembuatan konsorsium mikroba antagonis, sebaiknya dilakukan uji sinergisme antar isolat bakteri, agar formulasi konsorsium mikroba yang didapat kompatibel dan mampu bekerja dengan efektif.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sinergisme isolat bakteri dalam formulasi konsorsium, sehingga dapat dikembangkan sebagai agens pemacu pertumbuhan tanaman.

repository.ub.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

A'yun, K.Q., Hadiastono T., dan Martosudiro M. 2013. Pengaruh Penggunaan PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Terhadap Intensitas TMV (*Tobacco mosaic virus*), Pertumbuhan, dan Produksi pada Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). Jurnal HPT. 1 (1): 47-56

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Academic Press. California

Aiman, U., Sriwijaya B., dan Swasono D.H. 2013. Eksplorasi Mikrobia Rhizosfer Tumbuhan Pantai Potensial Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman. Prosiding Seminar Nasional UNS. Akselerasi Pembangunan Pertanian Menuju Kemandirian Pangan dan Energi Tahun 2013

Alvarez, B., Biosca E.G., dan Lopez M.M. 2010. On The Life of *Ralstonia solanacearum*, a Destructive Bacterial Plant Pathogen. Dalam: Vilas AM, editor. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Valencia [SP]: Formatex. hlm 267-279

Anggarwulan, Solichatun, dan Widya M. 2008. Karakter Fisiologi Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) pada Variasi Naungan dan Ketersediaan Air. Biodiversitas. 9 (4): 267-268

Anitha, K., Gunjotikar G.A., Chakrabarty S.K., Singh S.D., Sarath Babu B., Prasada Rao R.D.V.J., dan Varaprasad K.S. 2003. Interception of Bacterial Wilt, *Burkholderia solanacearum* in Groundnut Germplasm Imported from Australia. J. Of Oilseeds Res. 20: 101–104

Arwiyanto, T., Maryudani Y.M.S., dan Azizah N.N. 2007. Sifat-sifat Fenotik *Pseudomonas fluorescens*, Agensia Pengendali Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. J Biodiversitas 8: 147-151

Ashrafuzzaman, M., Hossen F.A., Ismail M.R., Hoque M.A., Islam M.Z., Shahidullah S.M., dan Meon S. 2009. Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for the Enhancement of Rice Growth. Afr J Biotechnol 8 (7): 1247-1252

Assani, S. 1994. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Binarupa Aksara. Jakarta

Atlas, R.M. 2009. Handbook of Microbiological Media 4th Edition. Taylor and Francis: CRC press web site

Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2017. Sub Sektor Hortikultura. http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti. Diakses 25 Februari 2018

Bailey, M.J., Lilley A.K., Timms-Wilson T.M., dan Spencer-Phillips T.M. 2006. Microbial Ecology of Aerial Plant Surface, United Kingdom. CAB International

Baker, K.F., dan Cook R.J. 1983. Biological Control of Plant Pathogen. Freeman dan Co. San Francisco

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Baker, R. dan Scher F. M. 1987. Enhancing The Activity of Biological Control Agents, In Innovative Approaches to Plant Disease Control. Chet. JhonWiley dan Sons. New York 1: 1-17

Bari, M.A., Islam W., Khan A.R, dan Mandal A. 2010. Antibacterial and Antifungal Activity of *Solanum torvum* (Solanaceae). Int. J. Agri Biol. 12. Hlm 386-390

Benson. 2001. Microbial Application Lab Manual. 8th ed. California: The McGraw-Hill Companies

Brown, B.A. 1980. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia: Lea dan Febiger

Bruehl, G.W. 1987. Soilborne Plant Pathogen. Macmillan Publishing Company. New York

BUA UB. 2017. UB *Forest*. Badan Usaha Akademik UB. Available at http://bua.ub.ac.id/ubforest/

Cappuccino, J.G., dan Sherman N. 2001. Microbiology: A Laboratory Manual. 6th Edition. Inc. Sunderland: Sinaeur Associates

Carney, K.M., dan Matson P.A. 2005. Plant Communities, Soil Microorganisms, and Soil Carbon Cycling: Does Altering the World Belowground Matter to Ecosystem Functioning? Ecosystems 8: 928-940

Champoiseau, P.G., dan Jones J.B. 2009. *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2 Causes Tropical Losses and Temperate Anxienties. Plant Health Progress. 1-10. DOI: 10.1094/PHP-2009-0313-01-RV

Chandrashekara, K.N., Prasannakumar M.K., Deepa M., Vani A., dan Khan A.N.A. 2012. Prevalence of Races and Biotypes of *Ralstonia solanacearum* in India. J. of Plant Protect. Res. 52 (1): 53-58

Chaudhry, Z., dan Rashid H. 2011. Isolation and Characterization of *Ralstonia solanacearum* from Infected Tomato Plants of Soanskesar Valley of Punjab. Pak. L. Bot. 43(6): 2979-2985

Dalimartha, setiawan. 1999. Atlas Tumbuhan Obat Jilit 1. Jakarta: Trubus Agriwidya

Danapriatna, N. 2010. Biokimia Penambatan Nitrogen oleh Bakteri Non Simbiotik. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah 1 (2): 3-4

Deng, Y., dan Wang S.Y. 2016. Synergistic Growth in Bacteria Depends on Substrate Complexity. Journal Microbiology. 54 (1): 23-30

Deshwal, V., dan Kumar K.P. 2013. Production of Plant Growth Promoting Substance by *Pseudomonas*. Journal of Academia and Industrial Research (JAIR). 2: 221-225

Dianese, J.C., MCDristig., dan Cruz A.P. 1990. Susceptibility to Wilt Associated with *Pseudomonas solanacearum* Among Six Species of Eucalyptus Growing Inequatorial Brazil. Australian Plant Pathology. 19: 71-76

Elango, R., Parthasarathi R., dan Megala S. 2013. Field Level Studies on The Association of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in *Gloriosan superba* L. rhizosphere. Indian Streams Research Journal 3 (10). P: 1-6

Elfiati, D. 2005. Peranan Mikroba Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Tanaman. Medan: USU

EPPO Quarantine Pest. 2011. Data Sheet of Quarantine Pest *Ralstonia solanacearum*. European Union. Tersedia pada: http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Ralstonia_solanacearumPSDMSO_ds.pdf

EPPO. 2004. *Ralstonia solanacearum*. Diagnostic Protocols for Regulated Pests. EPPO. Tersedia pada: http://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications_PDF/EPPORalstoniaDiagnostic%20protocols.pdf. Diakses 19 Januari 2018

Ewusie, J.Y. 1990. Pengantar Ekologi Tropika. Yogyakarta: Kanisius

Glick, B.R. 1995. The Enhancement of Plant Growth by Free Living Bacteria. Journal Microbiology. 4: 109-117

Gofar, N. 2003. Eksplorasi Konsorsium Mikroba Daun Asal Tumbuhan dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan Tengah dan Aplikasinya sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman Jagung pada Ultisol. Disertasi pada Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran

Gunarto, L., dan Nurhayati L. 1994. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah-tanah di Indonesia. Makalah disampaikan pada Seminar Tahunan 1994 Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. 29-30 Maret 1994

Gunawan, O.S.E, Suryaningsih dan Duariat A.T. 1997. Penyakit-Penyakit Penting Tanaman Tomat dan Cara Pengendaliannya dalam Teknologi Produksi Tomat. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Gusmaini. 2005. Pemanfaatan Konsorsium Mikroba Daun Berasal dari Tumbuhan Ekosistem Air Hitam untuk Memacu Pertumbuhan Vegetatif dan Generatif Padi. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

Gusniwati, Fatia N.M.E., dan Arief R. 2008. Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung dengan Pemberian Kompos Alang-alang. Jurnal Agronomi 12 (2): 23-27

Hadioetomo, R. 1990. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Jakarta: Gramedia

Hadioetomo, R. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Jakarta: Gramedia

Haeruman, H. 1980. Hutan Sebagai Lingkungan Hidup. Jakarta: Kantor Menteri Negara Pengawasan Pembangunan dan Lingkungan Hidup

Hanudin, dan Marwoto B. 2003. Pengendalian Penyakit Layu Bakteri dan Akar Gada pada Tanaman Tomat dan Caisin Menggunakan *Pseudomonas fluorescens*, J. Hort. vol 13, np. 1. hal. 58-66

Hartman, G.L., dan Ephinstone. 1994. Advances in The Control of *Pseudomonas solanacearum* Race 1 in Major Food Crops. Di dalam: Hayward AC, Hartman GR, editors. Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford [UK]: Cab International. hlm 157-169

Hartono, dan Jumadi O. 2014. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiotik Pengekskresi Amonium pada Tanah Pertanaman Jagung (*Zea mays* L.) dan Padi (*Oryza sativa* L.) Asal Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, Indonesia. Jurnal Sainsmat. 3 (2): 143-153

He, H.L.A., Laura A.S.S., Handelsman J., dan Clardy J. 1994. Zwittermicin A: and Antifungal and Plant Protection Agent from *Bacillus cereus*. Tetrahedon Lett 35: 2499

Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I dan II. Terj. Badan Libang Kehutanan. Cetakan I. Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan Jakarta Pusat

Hidayah, N., dan Djajadi. 2009. Sifat-sifat Tanah yang Mempengaruhi Perkembangan Patogen Tular Tanah pada Tanaman Tembakau. Perspektif. 8 (2): 74–83

Himedia. 2015. Pikovskaya's Broth (Medium) M1719. Himedia Laboratories Pvt. Ltd. A-516 Swastik Disha Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India. http://himedialabs.com. Diakses pada 06 Maret 2018

Holt, J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., dan Williams S.T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition. USA. Williams and Wilkins Baltimore

Husen, E., dan Saraswati R. 2003. Effect of IAA Producing Bacteria on The Growth of Hot Pepper. J Mikrobiol Indonesia 8: 22-26

Issaravanich, S., Ruangrungsi N., Palanuvej C., Vipunngeun N., dan Rungsihirunrat K. 2013. Microscopic, Molecular and Scopolamine Content Evaluations of *Datura metel* L. Var. Metel and *D. metel* L. Var. Fastuosa in Thailand. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 4 (2): 1014

James, D., Girija D., Mathew S.K., Nazeem P.A., Babu T.D., dan Varma A.S. 2003. Detection of *Ralstonia solanacearum* Race 3 Causing Bacterial Wilt of Solanaceous Vegetables in Kerala, Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. J. of Trop. Agr. 41: 33-37

James, E., dan Olivares F.L. 1997. Infection and Colonization of Sugarcane and Other Graminaceous Plants by Endophytic Diazotrophs. Plant Science 17: 77-119

Jones, B. Jr. 2008. Tomato Plant Culture. In the field, Greenhouse and Home Garden. CRC Press. New York. 399 p

Karasawa, T., Kasahara Y., dan Takebe M. 2001. Variable Response of Growth and Arbuscular Mycorrhizal Colonization of Maize Plants to Preceding Crops in Various Types of Soils. Biology and Fertility of Soils . Hlm 286-293

Kartasapoetra, A.G. 1988. Teknologi Budidaya Tanaman Pangan di Daerah Tropika. Jakarta: Bina Aksara. 418 hlm

Kartasapoetra, A.G. 1992. Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat Kunyit. Jakarta: PT. Rineka Cipta. h. 60

Kawaguchi, A., Inoue K., dan Ichinose Y. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, and Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. J. Biological Control. 98 (11): 1218-1225

Kelman, A., Hartman G. L., dan Hayward A. C. 1994. Introduction. In: Hayward AC and Hartman GL (eds.). Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent, *Pseudomonas Solanacearum*. CAB International, United Kingdom. p: 1–7

Klement, Z., Mavridis A., Rudolph K., Vidacer A., Perombedon M.C.M., dan Moore L.W. 1990. Inoculation of Plant Tissues. P.95-120 p. In: Klement ZK, Rodolph and Sands DC. Methods in Phytobacteriology. Akademia Kiado. Budapest

Kloepper, J.W. 1993. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. p. 255-274. In F. Blaine Metting, Jr. (Ed.). Soil Microbiology Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management. Marcel Dekker. Inc. New York

Knob, A., dan Carmona E.C. 2008. Xylanase Production by *Penicillium sclerotiorum* and its Characterization. World Applied Sciences Journal 4 (2): 277-283

Kumar, K.H., dan Jagadeesh K.S. 2016. Microbia Consortia Mediated Plant Defense Againt Phytophatogens and Growth Benefits. South Indian Journal of Biological Sciences 2 (4): 395-403

Kusuma, R.A., dan Andarwulan N. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Takokak (*Solanum torvum* Swartz.). Bogor: Department of Food Science and Technology Institusi Pertanian Bogor. Halaman: 1-6

Lawrence, G.H.M. 1964. Taxonomy of Vascular Plants. The Macmillan Company. New York

Lay, B. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Rajawali

Madigan, M.T., dan Martinko J.M. 2006. Brock Biology of Microorganisms. Prentice-Hall. Upper Sadle River. NJ. ed.11

McCarter, S.M. 2006. Bacterial Wilt. Di dalam: Jones JB, Jones JP, Stall RE, Zitter TA, editors. Compendium of Tomato Diseases. Minnesota [USA]: The American Phytopathological Society. hlm 28-29

Mehrotra, R.S. 1980. Plant Pathology. Tata Mc. Graw Hill Pub. Co. Ltd. New Delhi. 771 pp

Munif, A. 2001. Studies on The Importance of Endophytic Bacteria for The Biological Control of The Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita* on Tomato. [disertasi]. Jerman (GM): Institut fur Pflanzen krankheiten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms. Universitat Bonn

Nasrun, Christanti, Arwiyanto T., dan Mariska I. 2007. Karakteristik Fisiologis *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri Nilam. J. Penelitian Tanaman Industri. 13 (2): 43-48

Nawangsih, A.A. 2006. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Biokontrol untuk Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tomat [disertasi]. Bogor [ID]: Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor

Nugroho, C., dan Hidayah. 2010. Penyisihan Logam Chrom Menggunakan Konsorsium Mikroorganisme. Ilmiah Teknik Lingkungan. 1: 16-19

Papuangan, N. 2009. Aktivitas Penghambatan Senyawa Antimikroba *Streptomyces* spp. Terhadap Mikroba patogen Tular Tanah secara In vitro dan In Planta. Tesis Magister. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor

Podile, A.R., dan Kishore G.K. 2006. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Di dalam: Gnanamanickam SS, editor. Plant-Associated Bacteria. Netherland. Springer

Prakamhang, J., Minamisawa K., Teamtaisong K., Boonkerd N., dan Teaumroong N. 2009. The Communities of Endophytic Diazotrophic Bacteria in Cultivated Rice (*Oryza sativa* L.). App Soil Ecol. 42: 141–149

Prasada Rao, R.D.V.J., Gunjotikar G.A., Chakrabarty S.K., Varaprasad K.S., Singh S.D., dan Bramel-Cox P.J. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* in Seeds of Wild *Arachis* spp. Imported from Brazil. Indian J. of Plant Protection 28: 51–56

Purwati, E., dan Khairunisa. 2007. Budidaya Tomat Dataran Rendah dengan Varietas Unggul serta Tahan Hama dan Penyakit. Penebar Swadaya. Jakarta. 67 hlm

Raaijmakers, T.M., Paulitz T.C., Steinberg C., Alabouvette C., dan Moenne-Loccoz Y. 2009. The Rhizosphere: a Playground and Battlefield for Soilborne Pathogens and Beneficial Microorganisms. Plant Soil (2009) 321: 341-361

Rai, M.K. 2006. Handbook of Microbial Biofertilizer. Food Production Press. New York. J. Hama Penyakit Tanaman 1 (1): 49-51

Raupach, G.S., dan Kloepper J.W. 1998. Mixture of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Enhance Biological Control of Multiple Cucumber Pathogens. J. Phytopathology 88: 1158-1164

Riana, E. 2011. Seleksi dan Formulasi Konsorsium Bakteri untuk Mengendalikan Penyakit Blas (*Pyricularia oryzae*) pada Tanaman Padi [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor

Saile, E., McGarvey J.A., Schell M.A., dan Denny T.P. 1997. Role of Extracellular Polysaccharide and Endoglucanase in Root Invasion and Colonization of Tomato Plants by *Ralstonia solanacearum*. Phytopathology. 87: 1264–1271

Salisbury, F.B., dan Ross C.W. 1995. Fisiologi Tumbuhan. Bandung. ITB

Sari, A.R. 2012. Pengaruh Kondisi Cuaca pada Keragaman Tiga Varietas Padi Pada Musim Tanam II di Indramayu. Bogor. Institut Pertanian Bogor

Sastrahidayat. 2011. Rekayasa Pupuk Hayati Mikoriza dalam Meningkatkan Produksi Pertanian. Malang. Universitas Brawijaya Press

Schaad, N.W., Jones J.B., dan Chun W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Patogenic Bacteria. APS Press, The American Phytopathological Society, St Paul Minnesota. p. 270

Schroth. 1978. Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Radishes in: Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Vol. 2. Station de Pathologie Vegetale et de Phytobacteriologie, INRA, Angers, France

Semangun, H. 1994. Penyakit-Penyakit Tanaman Holtikultura di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal: 459-461

Semangun, H. 1996. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

Semangun, H. 2006. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

Semangun, H. 2007. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia (Edisi Kedua). Gadjah Mada University Pres. Yogyakarta. 845 halaman

Setyari, A.R., Aini L.Q., dan Abadi A.L. 2013. Pengaruh Pemberian Pupuk Cair terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). HPT. 1 (2): 80-88

Sevegnani, L., Alexandre U., Andre L.G., Leila M., dan Alexander C.V. 2016. Climate Affects The Structure of Mixed Rain Forest in Southern Sector of Atlantic Domain in Brazil. Acta Oecol 77: 109-117

Sharma, S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., dan Gobi T.A. 2013. Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. Springer Plus. 2 (587): 1-14

Silaban, I.C., Aini L.Q., dan Syib'li M.A. 2015. Pengujian Konsorsium Mikroba Antagonis untuk Mengendalikan Jamur *Sclerotium rolfsii* Penyebab

Penyakit Rebah Semai pada Kedelai (*Glycine Max* L.). Jurnal HPT. Vol. 3 No. 2

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. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Skripsi

Sirait, N. 2009. Terong Cepoka (*Solanum torvum*) Herba yang Berkhasiat Sebagai Obat. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri 15 (1): 10-12

Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. Jakarta: PT Raja Grafindo Perkasa

Srinivasan, R. 2010. Safer Tomato Production Methods: A Field Guide for Soil Fertility and Pest Management. AVRDC – The World Vegetable Center, Shanhua, Taiwan. AVRDC Publication No. 10-740. 97 p

Subba-Rao, N.S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Jakarta: UI Press

Sudarsono, A. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*). Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor

Sudartiningsih, D., Utami S.R., dan Prasetya B. 2002. Pengaruh Pemberian Pupuk Urea dan Pupuk Organik Diperkaya Terhadap Ketersediaan dan Serapan N serta Produksi Cabai Besar (*Capsicum annum* L.) pada Inceptisol. Karangploso Malang. Agrivita 24 (1): 63-69

Sugeng, H.R. 1989. Tanaman Apotik Hidup. Semarang: Penerbit Aneka Ilmu.

Suliasih dan Rahmat. 2007. Aktivitas Fosfatase dan Pelarutan Kalsium Fosfat oleh Beberapa Bakteri Pelarut Fosfat. Biodiversitas. 8 (1): 23-26

Sumarlan. 2017. Sekeping Informasi dari UB Forest Malang (Online). http://bp2sdm.menlhk.go.id/pusrenbang/index.php/profil/renbang-sdm-aparatur/24-sekeping-informasi-dari-ub-Forest-malang. (Diakses 20 Maret 2018)

Sunatmo, T.I. 2007. Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium. Bogor: Penerbit Ardy Agency

Suslow, T.V., Scorth M.N., dan Isaka M. 1982. Application of Rapid Methods for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Without Staining. Phytopathology. 72 (7): 917 – 918

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

Tahat, M.M., dan Sijam K. 2010. *Ralstonia solanacearum*: The Bacteria Wilt Causal Agent. Asian Journal of Plant Disease. 9 (7): 385-393

Tampubolon, O. 1995. Tanaman Obat. Penerbit Bharatara. Jakarta

Tans-Kersten, J., Huang H., dan Allen C. 2001. *Ralstonia solanacearum* Needs Motility for Invasive Virulence on Tomato. J. Bacteriology. 183 (12): 3597–3605

Tilak, K.V.B.R., Ranganyaki N., Pal K.K., De R., dan Saxena A.K. 2005. Diversity of Plant Growth and Soil Health Supporting Bacteria. Curr Sci 89: 136-150

Tjitrosoepomo, G. 1994. Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta

Tugiyono, H. 2005. Bertanam Tomat. Penebar Swadaya. Jakarta. 50 hlm

Van Loon, L.C. 2007. Plant Responses to Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Eur J Plant Pathol 119: 243-254

Van Steenis, C.G.G.J. 1997. Flora. Jakarta: Penerbit Pradnya Paramita

Vanneste, J.L. 2011. Streptomycin Management Strategy. Auckland (NZ): New Zealand Plant Protection Society

Vasse, J., Frey P., dan Trigalet A. 1995. Microscopic Studies of Intercellular Infection and Protoxylem Invasion of Tomato Roots by *Pseudomonas solanacearum*. Molecular Plant Microbe Interaction. 8: 241–251

Vessey, J.K. 2003. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers. Plant Soil 255: 571-586

Wagiman, F.X. 2006. Sejarah Singkat dan Perkembangan Pengendalian Hayati. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Bahan Kuliah Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta

Waksman, S.A. 1952. Streptomycin: Background, Isolation, Properties, and Utilization. Nobel Lecture. Tersedia pada: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1952/waksman-lecture.html. Diakses 20 Januari 2018

Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Umum. Malang: UMM Press.

Widyati, E. 2013. Memahami Interaksi Tanaman Mikroba, Understanding on Plants Microbes Interaction (5). 13–20

Wijaya, K.A. 2008. Nutrisi Tanaman. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta. J. Produksi Tumbuhan 1 (3): 1-28

Yabuuchi, E., Kosako Y., Yano L., Hotta H., dan Nishiuchi Y. 1995. Transfer of Two *Bulkholderia* and an *Alcaligenes* Species to *Ralstonia* Gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni, and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. Microbiol. Immunology. 39: 897–904

Zhu, Y.J., Xiao R.F., dan Liu B. 2010. Growth and Pathogenicity Characteristics of *Ralstonia solanacearum* Strain RS1100 in Long Term Stationary Phase Culture. J. of Plant Dis. and Protect. 117 (4): 156-161

Zou, L.F., Wang X.P., Xiang Y., Zhang B., dan Chen O.Y. 2006. Elucidation of The *hrp* Gene Clusters of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* that

Control The Hypersensitive Response in a Nonhost Tobacco and Pathogenicity in Susceptible Host Rice. Appl Environ Microbiol 72: 6212-6224

Zuhud, E.A.M., Siswoyo, Sandra E., Hikmat A., dan Adhiyanto E. 2003. Buku Acuan Umum Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta. Yayasan Sarana Wanajaya

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA