

**POTENSI ANTAGONISME ACTINOMYCETES DARI
RIZOSFER TANAMAN KOPI (*Coffea* sp.) TERHADAP
PATOGEN *Cercospora coffeicola* PENYEBAB BERCAK
DAUN PADA TANAMAN KOPI**

**Oleh:
DINA FARAHDILLA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**POTENSI ANTAGONISME ACTINOMYCETES DARI
RIZOSFER TANAMAN KOPI (*Coffea* sp.) TERHADAP
PATOGEN *Cercospora coffeicola* PENYEBAB PENYAKIT
BERCAK DAUN TANAMAN KOPI**

OLEH:

DINA FARAHDILLA

145040207111029

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

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**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan dosen pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang sepengetahuan 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, Desember 2018

Dina Farahdilla



LEMBAR PERSETUJUAN

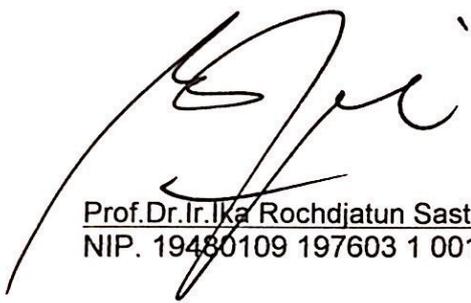
Judul Penelitian: Potensi antagonisme actinomycetes dari rizosfer tanaman kopi (*Coffea sp.*) terhadap patogen *Cercospora coffeicola* penyebab penyakit bercak daun pada tanaman kopi.

Nama Mahasiswa : Dina Farahdilla
NIM : 145040207111029
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II,



Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat
NIP. 19480109 197603 1 001



Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 2013048410141001

Diketahui,

Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



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

Tanggal Persetujuan:



LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I



Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU
NIP. 19550403 1983303 1 003

Penguji II



Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 2013048410141001

Penguji III



Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat
NIP. 19480109 197603 1 001

Penguji IV



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

Tanggal Lulus: 03 JAN 2019



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Semarang pada tanggal 22 April 1996 sebagai putri sulung dari 3 bersaudara dari Bapak Rudy Rifai dan Ibu dr. Nurjanah. Penulis memiliki 2 orang adik yang masing-masing berumur 16 tahun dan 12 tahun saat naskah ini ditulis.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Kaliabang Tengah III Kota Bekasi pada tahun 2002 sampai tahun 2008, kemudian penulis melanjutkan ke jenjang menengah pertama di SMPN 5 Kota Bekasi pada tahun 2008 dan menyelesaikan pendidikan menengah pertama pada tahun 2011. Pada tahun 2011 hingga 2014, penulis melanjutkan pendidikannya di SMAN 2 Kota Bekasi dengan mengambil minat IPA. Penulis aktif dalam organisasi semasa SMA dengan mengikuti Dewan Perwakilan Kelas (DPK) dari tahun pertama hingga tahun ketiga. Setelah lulus SMA, Penulis melanjutkan studinya di Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada tahun 2014.

Penulis aktif pada kegiatan UKM di universitas dari tahun pertama hingga tahun ketiga dengan mengikuti organisasi AIESEC tingkat universitas (Universitas Brawijaya), dimana penulis menjadi panitia sukarelawan di proyek nasional pada tahun 2014-2015, *staff marketing* pada tahun 2015-2016, dan *Digital Marketing Manager* pada tahun 2016-2017. Penulis pernah mengikuti konferensi nasional yang diadakan oleh AIESEC pada tahun 2015 (Yogyakarta), 2016 (Semarang dan Jakarta) dan 2017 (Yogyakarta). Pada konferensi nasional di Semarang (2016) dan Yogyakarta (2017), penulis bertugas sebagai *live team*, dimana meliput kegiatan konferensi nasional AIESEC dan berperan sebagai publikasi kegiatan pada konferensi tersebut. Pada tahun 2017, penulis menjabat sebagai nasional manager untuk AIESEC Switzerland, sebagai *Marketing* dan *Public Relation* untuk Grafik Desain. Selain melaksanakan kuliah dan berorganisasi, penulis mempunyai hobi dalam musik, yakni menggemari *genre* musik K-Pop (SHINee) dan hadir dalam konser-konser yang digelar.





*Skripsi ini kupersembahkan untuk
orangtuaku dan adik-adikku tercinta
serta untuk orang-orang yang mengisi
waktu luangnya untuk membaca.*

RINGKASAN

DINA FARAHDILLA. 145040207111029. Potensi antagonisme actinomycetes dari rizosfer tanaman kopi (*Coffea* sp.) terhadap penyakit bercak daun kopi (*Cercospora coffeicola*) dari hutan pendidikan 'UB Forest'. Di Bawah Bimbingan Prof.Dr.Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat sebagai dosen pendamping utama dan Antok Wahyu Sektiono., SP., MP. sebagai dosen pendamping kedua.

Actinomycetes adalah bakteri bergram positif dan terkenal akan zat antifungi dan banyak ditemukan di daerah perairan sampai dengan daerah rizosfer tanah. Selain itu, actinomycetes juga terkenal dengan zat antifungi dan banyak dimanfaatkan sebagai antibiotik. Peranan actinomycetes sebagai agens pengendalian hayati terhadap patogen tanaman telah ada (Sastrahidayat, 2011), dan sangat berpotensi sebagai pengendalian yang ramah lingkungan. Oleh karena itu, perlu dilakukan lebih banyak penelitian tentang potensi actinomycetes. Kopi (*Coffea* sp.) merupakan komoditas perkebunan yang memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia. Kopi merupakan komoditas ekspor penting bagi Indonesia yang mampu menyumbang devisa yang cukup besar. Namun, produksi kopi di Indonesia dalam 3 tahun terakhir mengalami penurunan. Produksi kopi di Indonesia pada tahun 2015 sebesar 639.412 ton, pada tahun 2016 sebesar 639.305 ton dan pada tahun 2017 sebesar 637.539 ton (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017).

Salah satu penyebab penurunan produksi kopi yakni adanya serangan penyakit. Penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *Cercospora coffeicola* merupakan salah satu penyakit pada kopi yang sering dijumpai. Menurut Semangun (1989), penyakit ini tidak terlalu fatal jika menyerang daun, namun kerusakan dapat terjadi secara signifikan jika menyerang pada buah kopi, karena dapat menurunkan kualitas buah kopi yang terserang. Tujuan dari penelitian ini yakni mengetahui keanekaragaman actinomycetes pada rizosfer tanaman dan untuk mengetahui potensi serta kemampuan antagonis dari actinomycetes apabila diuji dengan penyakit bercak daun (*Cercospora coffeicola*).

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2018 hingga Oktober 2018 di Hutan pendidikan *UB Forest* dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Rancangan yang dipakai yakni Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang nantinya akan diadakan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT dengan taraf 5%. Kegiatan pada penelitian ini meliputi eksplorasi actinomycetes dari rizosfer tanah kopi dan pengujian antagonisme terhadap penyakit bercak daun.

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini yakni terdapat enam isolat actinomycetes yang teridentifikasi dari genus *Streptomyces*, *Corynebacterium* dan *Micrococcus*. Uji antagonis terhadap patogen *Cercospora coffeicola* dilakukan dengan tujuh perlakuan dengan satu perlakuan kontrol dan enam perlakuan antagonis terhadap isolat actinomycetes. Uji antagonis dilakukan secara *in vitro* dengan empat kali ulangan pada masing-masing perlakuan. Hasil yang didapatkan yakni terlihat bahwa keenam isolat actinomycetes yang diuji memperlihatkan kemampuan dalam mengantagonis patogen *Cercospora coffeicola*. Hasil paling besar didapatkan pada isolat yang teridentifikasi sebagai *Streptomyces* (Perlakuan P7). Pada pengamatan terakhir, keenam isolat mampu menghasilkan daya hambat sebesar 28,33% hingga 38,33%.

SUMMARY

DINA FARAH DILLA. 145040207111029. Antagonism potential of actinomycetes from coffee's rhizosphere (*Coffea* sp.) to leaf spot disease (*Cercospora coffeicola*) from the educational forest 'UB forest'. Under the guidance of Prof.Dr.Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat as the main supervisor and Antok Wahyu Sektiono., SP., MP. as a second supervisor

Actinomycetes is a positive gram bacterium and is known for its antifungal substances also is commonly found in water area until to the soil rhizosphere. In addition, actinomycetes are also famous for their antifungal substances and are widely used as antibiotics. The role of actinomycetes as agents of biological control of plant pathogens already exists (Sastrahidayat, 2011), and has the potential to be environmentally friendly controls. Therefore, more research needs to be done about the potential of actinomycetes. Coffee (*Coffea* sp.) is a plantation commodity that plays an important role in the Indonesian economy. Coffee is an important export commodity for Indonesia which is able to contribute substantial foreign exchange. However, coffee production in Indonesia in the last 3 years has decreased. Coffee production in Indonesia in 2015 amounted to 639,412 tons, in 2016 amounted to 639,305 tons and in 2017 amounted to 637,539 tons (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017).

One of the causes of the decline in coffee production is the attack of disease. Leaf spot disease caused by *Cercospora coffeicola* is one of the common diseases in coffee. According to Semangun (1989), this disease is not too fatal if it attacks the leaves, but the damage can occur significantly if it attacks on coffee fruit, because it can reduce the quality of attacked coffee fruit. The purpose of this study was to determine the diversity of actinomycetes in plant rhizosphere and to determine the potential and ability of antagonists of actinomycetes when tested with leaf rickshaw (*Cercospora coffeicola*).

This research was conducted in May 2018 to October 2018 in UB Forest and Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Brawijaya University, Malang. The design used is a Completely Randomized Design (CRD) which will be carried out further testing using the with Least Significance Difference (LSD) level of 5%. Activities in this study include the exploration of actinomycetes from coffee soil rhizosphere and antagonism testing on leaf spot disease.

The results obtained in this study were six isolates of actinomycetes identified from the genera *Streptomyces*, *Corynebacterium* and *Micrococcus*. The antagonist test for the pathogen *Cercospora coffeicola* was carried out with seven treatments with one control treatment and six antagonistic treatments for the actinomycetes isolates. The antagonist test was carried out in vitro with four replications in each treatment. The results obtained were shown that the six actinomycetes isolates tested showed ability to antagonize the pathogen *Cercospora coffeicola*. The greatest results were obtained in isolates identified as *Streptomyces* (Treatment P7). At the last observation, the six isolates were able to produce antagonism ability from 28.33% to 38.33%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang melimpahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian yang berjudul “**Potensi antagonisme actinomycetes dari rizosfer tanaman kopi (*Coffea sp.*) terhadap patogen *Cercospora coffeicola* penyebab penyakit bercak daun pada tanaman kopi**”. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang turut membantu proses pembuatan proposal penelitian ini, sehingga laporan penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Terima kasih disampaikan kepada:

1. Prof.Dr.Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat selaku dosen pembimbing utama.
2. Bapak Antok Wahyu Sektiono, SP., MP., selaku dosen pendamping.
3. Dr.Ir. Ludji Pantja Astuti , MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Brawijaya.
4. Seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan proposal penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan penelitian ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan laporan ini.

Malang, Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	2
1.3. Tujuan.....	3
1.4. Hipotesis.....	3
1.5. Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tanaman kopi.....	4
2.2. Actinomycetes.....	4
2.2.1. Morfologi dan siklus hidup actinomycetes.....	5
2.2.2. Habitat actinomycetes.....	6
2.3. Peran actinomycetes sebagai agens pengendalian hayati.....	6
2.4. Penyakit bercak daun.....	7
2.4.1. Morfologi dan siklus hidup penyakit bercak daun.....	7
2.4.2. Perkembangan dan faktor yang mempengaruhi penyakit bercak daun.....	8
2.4.3. Gejala dan kerusakan penyakit bercak daun.....	8
III. METODE PENELITIAN	10
3.1. Tempat dan waktu pelaksanaan.....	10
3.2. Alat dan bahan.....	10
3.2.1. Alat.....	10
3.2.2. Bahan.....	10
3.3. Metode pelaksanaan.....	10
3.3.1. Pengambilan sampel actinomycetes rizosfer dan patogen <i>Cercospora coffeicola</i>	11

3.3.2. Isolasi actinomycetes rizosfer.....	11
3.3.3. Pemurnian actinomycetes rizosfer.....	11
3.3.4. Uji gram bakteri dan uji pewarnaan gram pada actinomycetes.....	12
3.3.5. Isolasi patogen <i>Cercospora coffeicola</i>	12
3.3.6. Pembuatan preparat untuk identifikasi.....	12
3.3.7. Pengamatan dan identifikasi.....	12
3.3.8. Uji antagonis isolat actinomycetes rizosfer terhadap patogen <i>Cercospora coffeicola</i>	13
3.3.9. Rancangan percobaan dan analisis data.....	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1. Hasil isolasi dan identifikasi actinomycetes dari rhizosfer tanaman kopi.....	15
4.2. Isolasi penyakit bercak daun pada kopi (<i>Cercospora coffeicola</i>).....	18
4.3. Daya hambat actinomycetes pada <i>Cercospora coffeicola</i>	20
V. PENUTUP.....	26
5.1. Kesimpulan.....	26
5.2. Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27
LAMPIRAN	



DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Hal
2.1.	Penampakan morfologi actinomycetes dibawah mikroskop elektron.....	6
2.2.	Penampakan konidia <i>Cercospora coffeicola</i> secara mikroskopis.....	8
2.3.	Penampakan daun kopi yang terserang bercak daun.....	9
2.4.	Penampakan buah kopi yang terserang bercak daun.....	9
3.1	Ilustrasi uji antagonis.....	13
4.1.	Foto koloni tunggal dan bentuk sel A16 (Genus: <i>Streptomyces</i>).....	16
4.2.	Foto koloni tunggal dan bentuk sel A21 (Genus: <i>Streptomyces</i>).....	16
4.3.	Foto koloni tunggal dan bentuk sel A17 (Genus: <i>Corynebacterium</i>).....	17
4.4.	Foto koloni tunggal dan bentuk sel A18 dan A19 (Genus: <i>Micrococcus</i>)..	18
4.5.	Foto koloni tunggal dan bentuk sel A20 (Genus: <i>Micrococcus</i>).....	18
4.6.	Gejala bercak daun pada tanaman kopi.....	19
4.7.	Foto penampakan koloni (pada media PDA) <i>Cercospora coffeicola</i>	20
4.8.	Foto mikroskopis <i>Cercospora Coffeicola</i> pada umur 7 HSI.....	20
4.9.	Perlakuan kontrol uji antagonisme <i>Cercospora coffeicola</i> dengan kertas saring.....	21
4.10.	Uji antagonisme antara isolat actinomycetes dengan <i>C. cercospora</i>	21
4.11.	Perbandingan daya hambat actinomycetes pada uji antagonisme dari hari pertama sampai dengan hari ke – 4.....	22
4.12.	Perbandingan daya hambat actinomycetes pada uji antagonisme pada hari ke – 4.....	23

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Hal
3.1.	Persentase daya hambat pada uji antagonisme.....	14
4.1.	Karakteristik makromorfologi dan identifikasi actinomycetes.....	15
4.2.	Perlakuan uji antagonisme isolat actinomycetes dengan <i>C. coffeicola</i>	20
4.3.	Hasil rerata uji antagonis (%) selama 4 hari.....	22
4.4.	Persentase hambat isolat actinomycetes pada uji antagonisme.....	23



DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Hal
1.	Komposisi <i>Starch Casein Agar</i> (SCA) / <i>Starch M-Protein Agar</i>	31
2.	Komposisi <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	31
3.	Deskripsi Genus <i>Streptomyces</i>	31
4.	Deskripsi Genus <i>Corynebacterium</i>	32
5.	Deskripsi Genus <i>Micrococcus</i>	32
6.	Foto makroskopis isolat actinomycetes Genus <i>Streptomyces</i>	32
7.	Foto makroskopis isolat actinomycetes Genus <i>Corynebacterium</i>	33
8.	Foto makroskopis isolat actinomycetes Genus <i>Micrococcus</i>	33
9.	Dokumentasi uji gram isolat actinomycetes menggunakan uji KOH.....	33
10.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan kontrol (P1).....	34
11.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan isolat A16 (Genus: <i>Streptomyces</i> sp1.) dengan jamur patogen.....	34
12.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan isolat A17 (Genus: <i>Corynebacterium</i>) dengan jamur patogen.....	35
13.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan isolat A18 (Genus: <i>Micrococcus</i> sp1.) dengan jamur patogen.....	35
14.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan isolat A19 (Genus: <i>Micrococcus</i> sp2.) dengan jamur patogen.....	35
15.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan isolat A20 (Genus: <i>Micrococcus</i> sp3.) dengan jamur patogen.....	36
16.	Dokumentasi uji antagonisme perlakuan isolat A21 (Genus: <i>Streptomyces</i> sp2.) dengan jamur patogen.....	36
17.	Tabel anova perhitungan uji daya hambat antagonis hari pertama.....	36
18.	Tabel anova perhitungan uji daya hambat antagonis hari kedua.....	37
19.	Tabel anova perhitungan uji daya hambat antagonis hari ketiga.....	37
20.	Tabel anova perhitungan uji daya hambat antagonis hari keempat.....	37

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Actinomycetes terkenal akan zat antifungi dan banyak ditemukan di daerah perairan sampai dengan daerah rizosfer tanah. Selain itu, actinomycetes juga banyak dimanfaatkan sebagai antibiotik. Menurut Kelecom (2002), actinomycetes merupakan jenis mikroorganisme yang sangat berpotensi sebagai penghasil metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba dan dapat ditemukan di tanah. Actinomycetes merupakan kelompok mikroba yang paling banyak menghasilkan senyawa bioaktif, antibiotika, antifungi dan antibakteri (Atlas, 1998). Sekitar 70% dari antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh actinomycetes terutama *Streptomyces* (Pujiati, 2014). Peranan actinomycetes sebagai agens pengendalian hayati terhadap patogen tanaman telah ada (Sastrahidayat, 2011), dan sangat berpotensi sebagai pengendalian yang ramah lingkungan. Oleh karena itu, perlu dilakukan lebih banyak penelitian tentang potensi actinomycetes, baik pada tanaman pangan, tanaman hortikultura dan tanaman perkebunan. Karena melimpahnya keberadaan actinomycetes dan sifatnya yang antifungi, yang nantinya dapat menekan keberadaan patogen penyebab penyakit yang dapat menimbulkan kerugian pada kopi.

Kopi (*Coffea* sp.) merupakan komoditas perkebunan yang memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia. Menurut Direktorat Jenderal Perkebunan (2014), komoditas kopi diperkirakan menjadi sumber pendapatan utama tidak kurang dari 1,84 juta keluarga yang sebagian besar mendiami kawasan pedesaan di wilayah-wilayah terpencil. Selain itu, kurang lebih 1 juta keluarga mengandalkan pendapatannya dari industri hilir dan perdagangan kopi. Kopi merupakan komoditas ekspor penting bagi Indonesia yang mampu menyumbang devisa yang cukup besar. Pada tahun 2016, kopi yang diekspor dilaporkan sebesar 267.058 ton atau senilai US\$ 650.216. Total area lahan kopi di Indonesia pada tahun 2017 yakni seluas 1.227.787 hektar. Namun, produksi kopi di Indonesia dalam 3 tahun terakhir mengalami penurunan. Produksi kopi di Indonesia pada tahun 2015 sebesar 639.412 ton, pada tahun 2016 sebesar 639.305 ton dan pada tahun 2017 sebesar 637.539 ton (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017).

Salah satu penyebab penurunan produksi kopi yakni adanya serangan penyakit. Penyakit yang menyerang kopi biasanya disebabkan oleh faktor cuaca yang tidak menentu, seperti musim hujan yang intensitasnya terlalu tinggi sehingga menimbulkan kelembaban, yang menjadi salah satu faktor tingginya perkembangan penyakit. Menurut Semangun (1989), penyebab penyakit yang sering dijumpai pada tanaman kopi adalah jamur. Sedangkan bakteri atau virus jarang dijumpai dan jarang menimbulkan kerusakan yang berarti. Penyakit yang disebabkan oleh jamur dan sering menyerang kopi antara lain adalah hawar daun, bercak daun, jamur upas dan mati akar.

Penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *Cercospora coffeicola* merupakan salah satu penyakit pada kopi yang sering dijumpai. Menurut Semangun (1989), penyakit ini tidak terlalu fatal jika menyerang daun, namun kerusakan dapat terjadi secara signifikan jika menyerang pada buah kopi, karena dapat menurunkan kualitas buah kopi yang terserang. Umumnya, pengendalian penyakit ini dilakukan dengan cara sanitasi dan membuang bagian-bagian yang sakit, kemudian membenamkannya pada tanah, mengurangi kelembaban kebun dengan pemangkasan, pengaturan naungan, membuat parit drainase, melakukan pemupukan dan menghindari pemakaian bibit yang terserang (Proyek pengendalian hama terpadu perkebunan rakyat, 2002).

Pengendalian menggunakan agens biologi atau agens hayati masih sangat minim untuk penyakit bercak daun pada kopi. Salah satu pengendalian menggunakan agens hayati yang dapat dikaji lebih lanjut yakni pemanfaatan actinomycetes yang terdapat pada rizosfer tanah, sebagai agens penghasil antibiotik dan juga antagonis penyakit tanaman karena sifatnya yang antifungi (Sastrahidayat, 2011).

1.2. Rumusan masalah

Rumusan masalah yang mendasari penelitian ini diantaranya sebagai berikut:

- a. Apakah terdapat actinomycetes pada rizosfer tanaman kopi yang berpotensi sebagai agens hayati pada penyakit bercak daun (*Cercospora coffeicola*).
- b. Bagaimana daya antagonisme dan respon dari actinomycetes pada rizosfer tanaman kopi terhadap penyakit bercak daun (*Cercospora coffeicola*).

1.3. Tujuan

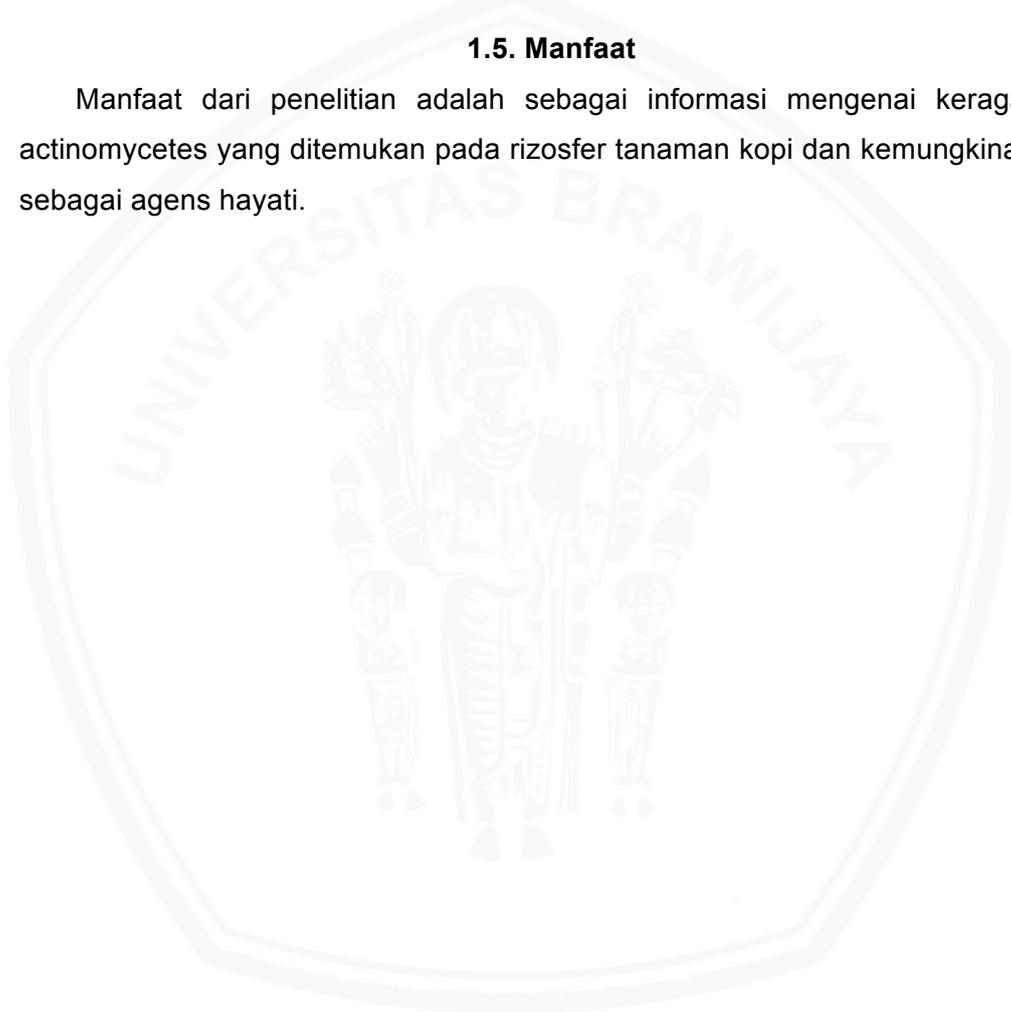
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keanekaragaman actinomycetes pada rizosfer tanaman dan mengetahui potensi antagonisnya terhadap penyakit bercak daun (*Cercospora coffeicola*).

1.4. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yakni pada rizosfer tanaman kopi terdapat berbagai jenis actinomycetes yang memiliki kemampuan antagonis terhadap patogen penyakit bercak daun (*Cercospora coffeicola*).

1.5. Manfaat

Manfaat dari penelitian adalah sebagai informasi mengenai keragaman actinomycetes yang ditemukan pada rizosfer tanaman kopi dan kemungkinannya sebagai agens hayati.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman kopi

Kopi (*Coffea* sp.) adalah spesies tanaman berbentuk pohon yang termasuk dalam famili *Rubiaceae* dan genus *Coffea*. Tanaman ini bertubuh tegak, bercabang dan dapat tumbuh hingga ketinggian 12 meter. Daunnya berbentuk bulat dengan ujung meruncing dan berhadapan dengan batang, cabang dan ranting-rantingnya (Wijaya 2008 *dalam* Denfitri 2016). Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki peran penting dalam menghasilkan devisa. Pada tahun 1981 dihasilkan devisa sebesar US\$ 347,8 juta dari ekspor kopi sebesar 210.800 ton. Nilai ini terus meningkat dari tahun ke tahun. Tercatat pada tahun 2001, komoditas kopi di Indonesia mampu menghasilkan devisa sebesar US\$ 595,7 juta dan menduduki peringkat pertama diantara komoditas ekspor subsektor perkebunan (Najiyati dan Danarti, 2007).

Tanaman kopi termasuk kelompok tanaman semak belukar. Linnaeus merupakan orang pertama yang mendeskripsikan spesies kopi arabika (*Coffea arabica*) pada tahun 1753 (Panggabean, 2011). Kini lebih dari 120 spesies kopi telah diidentifikasi, namun hanya spesies kopi robusta (*Coffea canephora*) yang dibudidayakan mendekati kuantitas kopi arabika di seluruh dunia (Hoffman, 2014). Di Indonesia, sebagian kopi yang dibudidayakan yakni kopi arabika dan kopi robusta, sedangkan sisanya merupakan kopi lokal, seperti kopi gayo dari Aceh dan kopi luwak yang rasanya telah dikenal di dunia. Mekuria *et al* (2004), menyatakan bahwa 66% produksi kopi di dunia merupakan jenis kopi arabika dan sisanya berasal dari kopi robusta. Menurut Kementerian Pertanian (2014), hanya 3 (tiga) jenis yang memiliki nilai ekonomis bagi manusia sehingga dibudidayakan oleh masyarakat, yaitu Arabika, Robusta dan Liberika. Kedua jenis tanaman kopi yakni, Robusta dan Arabika, umumnya dibudidayakan di Indonesia, termasuk di Papua.

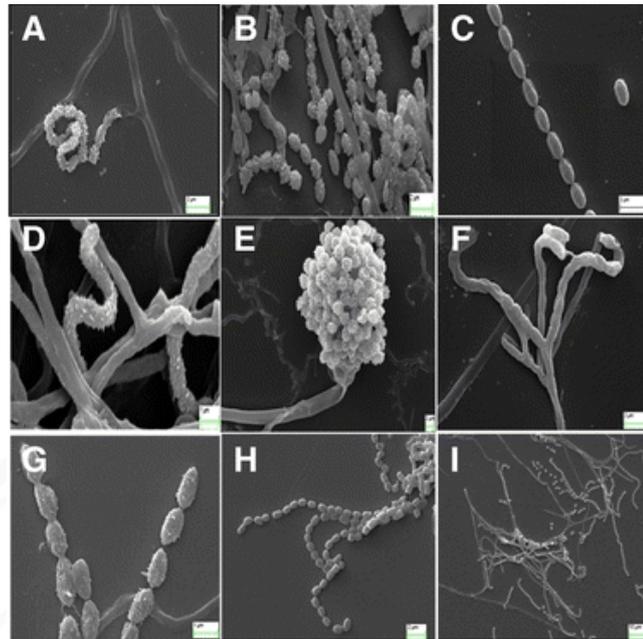
2.2. Actinomycetes

Actinomycetes merupakan jasad uniseluler yang mempunyai ciri-ciri antara jamur dan bakteri. Actinomycetes merupakan kelompok bakteri gram positif dan terdistribusi luas di alam. Actinomycetes dikenal sebagai mikroorganisme saprofitik pada tanah dan seresah (Takisawa *et al.*, 1993). Mikroorganisme ini sering dijumpai di tanah dan mempunyai miselia bercabang yang menyerupai bentuk cendawan/jamur berfilamentus Kurang lebih 70%

antibiotik dihasilkan oleh actinomycetes, 20% dihasilkan oleh fungi dan 10% dihasilkan oleh bakteri (Budianto dan Muhtadi, 2012). Secara umum, actinomycetes dibedakan menjadi dua kelompok. Kelompok tersebut adalah *Streptomyces* dan *rare-actinomycetes* (Kurtboke, 2001). *Rare-actinomycetes* digunakan sebagai istilah untuk menyebut genus selain *Streptomyces*. *Rare-actinomycetes* terdiri dari 201 genus, relatif lebih sulit diisolasi, dan pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan dengan *Streptomyces* (Miyadoh, 1997). Actinomycetes dalam medium cair tidak menyebabkan kekeruhan, tumbuh pada permukaan medium membentuk koloni kecil-kecil dan berkembang membentuk selaput pada permukaan koloni yang halus (Sastrahidayat, 2011). Kelas Actinobacteria memiliki 6 ordo, 46 famili, dan 202 genus. Jumlah spesies yang telah ditemukan sebanyak 2.335 spesies. Jumlah actinomycetes masih terus bertambah seiring dengan banyak penemuan taksa baru yang didorong oleh penelitian yang intensif (Nurkanto dan Agusta, 2015).

2.2.1. Morfologi dan siklus hidup actinomycetes

Menurut Sastrahidayat (2011), pada medium padat, koloni actinomycetes tumbuh di atas permukaan cembung, memiliki konsistensi keras, penampakan permukaan koloni bisa kasar atau halus. Miselium berwarna putih, kelabu, lembayung (lavender), merah, kuning, coklat, hijau dan warna lain satu tipe. beberapa kultur menghasilkan zat warna pada medium tertentu dan mudah larut. Struktur actinomycetes berupa filament lembut yang sering disebut hifa atau miselia, sebagaimana yang terdapat pada fungi, memiliki konidia pada hifa yang menegak. Actinomycetes merupakan bakteri yang bereproduksi dengan pembelahan sel, rentan terhadap penisilin tetapi tahan terhadap zat antifungi (Sulistyani, 2013). Bakteri actinomycetes memiliki morfologi yang sangat bervariasi, dari bentuk sel bulat/*coccus* (*Micrococcus*) dan *rod-coccus cycle* (*Arthrobacter*), bentuk hifa berfragmen (*Nocardia*, *Rothia*), sampai dengan jenis dengan miselium bercabang-cabang yang berbeda-beda (*Micromonospora* dan *Streptomyces*) (Goodfellow, 1983).



Gambar 2.1. Penampakan morfologi actinomycetes dibawah mikroskop elektron (Sengupta *et al.*, 2015)

2.2.2. Habitat actinomycetes

Pada setiap gram tanah mengandung $0,5 - 2,0 \times 10^6$ actinomycetes (Soepardi, 1987). Populasi actinomycetes pada tanah rizosfer semakin meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Dinyatakan pula, pada kedalaman 8 inci dari permukaan tanah populasinya sangat melimpah (Soepardi Rao 1997 *dalam* Sastrahidayat 2011). Actinomycetes termasuk mikroorganisme heterotrof dan bersifat aerob. Keasaman tanah (pH) yang sesuai untuk pertumbuhannya antara 6,5 - 8,0. Tetapi, antara pH 5,6 - 9,0 actinomycetes masih dapat berkembang dengan baik. Kelembaban tanah yang sesuai untuk pertumbuhannya adalah 85%, bila dalam kondisi kering akan membentuk konidium. Suhu optimum untuk pertumbuhan berkisar antara 25 - 30°C. Tetapi ada pula yang bersifat termofil dengan kisaran suhu optimum 55 - 65°C (Subba Rao 1994, dan Sutedjo *et al.*, 1996 *dalam* Sastrahidayat 2011).

2.3. Peran actinomycetes sebagai agens pengendalian hayati

Menurut Sastrahidayat (2011), selain berperan sebagai dekomposer, actinomycetes juga berperan sebagai penghasil antibiotik, dan dapat pula sebagai antagonis patogen tanaman, serta penambat N dari udara. Peranan actinomycetes sebagai agens pengendali hayati terhadap patogen tanaman telah banyak diteliti, diantaranya penggunaan *Streptomyces griseus* strain 5406 yang

dapat menekan patogen tular tanah oleh *R. solani* dan *Verticillium alboatrum* sebagai penyakit busuk akar pada tanaman kapas.

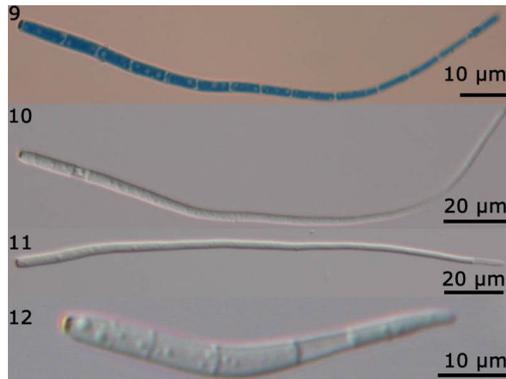
Keberhasilan pengendalian hayati dengan menggunakan peran actinomycetes ditentukan oleh cara pengaplikasian dan sesuai dengan perkembangan penyakit tanaman, seperti biakan *Streptomyces* spp. pada *rolled oats* yang diaplikasikan 2 minggu sebelum tanam dapat menurunkan frekuensi serangan dan jumlah sklerotia dari *Sclerotium rolfsii* pada tanaman paprika dibanding dengan aplikasi inokulum yang disuspensikan dalam air steril (Istifadah 1997 dalam Sastrahidayat 2011).

2.4. Penyakit bercak daun (*Cercospora coffeicola*)

Penyakit bercak daun banyak ditemukan diseluruh tanaman, baik tanaman pangan, tanaman biji-bijian, tanaman hortikultura maupun tanaman perkebunan. Pada umumnya, bercak daun disebabkan oleh jamur *Cercospora* sp. Bercak daun *Cercospora* pada daun kopi, yang sering disebut dengan *brown-eye spot*, umumnya menjangkiti semua daerah penanaman kopi di dunia. Penyakit ini pertama kali ditemukan di Jamaika. Kerusakan yang parah terjadi jika penyakit ini menyerang pada buah (*berry blotch*) (Semangun, 1989). Bercak daun pada kopi disebabkan oleh jamur *Cercospora coffeicola* atau *Mycosphaerella coffeicola* pada bentuk seksualnya. Jamur ini termasuk dalam divisi *Ascomycota* dengan kelas *Dothideomycetes* dan ordo *Capnodiales*.

2.4.1. Morfologi dan siklus hidup penyakit bercak daun

Jamur *Cercospora* sp. umumnya timbul pada awal pertumbuhan. Jamur akan membentuk konidium pada kedua sisi daun, meskipun lebih banyak pada sisi atas. Konidiofor membentuk rumpun kecil lima sampai banyak, coklat kehijauan pucat atau coklat kekuningan. Konidiofor jamur ini bersekat, berukuran 15 – 45 x 3 – 6 mm. Konidium tidak berwarna, berbentuk gada terbalik bersekat sampai dengan ukuran 35 – 110 x 3 – 6 μ m. Konidium terbentuk pada kedua sisi daun, tetapi terbanyak pada sisi bawah. Konidiofor terbentuk dalam jumlah besar pada bercak, membentuk rumpun yang rapat, kadang-kadang pada lingkaran-lingkaran sepusat, warna coklat muda sampai kehijauan (Hardaningsih dan Sumartini, 2015).



Gambar 2.2. Penampakan konidia *Cercospora coffeicola* secara mikroskopis (Liberato, 2006)

2.4.2. Perkembangan dan faktor yang mempengaruhi penyakit bercak daun

Menurut Semangun (1989), serangan *Cercospora coffeicola* pada daun sangat dibantu oleh kelembaban udara yang tinggi, misalnya yang terjadi pada musim hujan, di pesemaian yang terlalu gelap, pemberian teduhan yang terlalu rimbun, dan pertukaran udara (ventilasi) yang minim. Sebaliknya, serangan pada buah-buah lebih banyak terjadi di kebun yang terang. Kemungkinan infeksi terjadi karena adanya kerusakan pada kulit buah sebagai akibat dari penyinaran matahari yang terlalu intensif.

2.4.3. Gejala dan kerusakan penyakit bercak daun

Gejala yang muncul pada tanaman kopi yang terserang penyakit bercak daun yakni daun yang sakit timbul bercak berwarna kuning yang tepinya dikelilingi *halo* (lingkaran) berwarna kuning. Buah yang terserang timbul bercak berwarna coklat, biasanya pada sisi yang lebih banyak menerima cahaya matahari. Bercak ini membusuk dan dapat sampai ke biji sehingga menurunkan kualitas pada biji kopi yang terserang oleh patogen *Cercospora coffeicola* (Proyek pengendalian hama terpadu perkebunan rakyat, 2002). Sedangkan menurut Semangun (1989), gejala pada daun-daun, terdapat bercak berbentuk bulat, berwarna coklat kemerahan atau coklat tua, dan terdapat pusat berwarna putih kelabu yang sering tampak ditaburi tepung hitam, yang terdiri dari konidium jamur. Berbeda dengan bercak *Hemileia* yang sudah kering, bercak *C. coffeicola* tampak paling jelas jika dilihat dari arah atas daun. Umumnya, garis tengah bercak kurang dari 5 mm dan membentuk seperti cincin. Dalam cuaca lembab

dapat menimbulkan bercak yang lebih besar. Serangan yang berat dapat menyebabkan rontoknya daun.



Gambar 2.3. Penampakan daun kopi yang terserang bercak daun.
(Nelson, 2004)

Pada buah-buah terjadi gejala di sisi yang banyak mendapatkan sinar matahari, yang akan terjadi bercak-bercak besar yang jaringannya membusuk sampai ke biji, sehingga biji mendapat warna yang kurang baik. Pada buah yang sakit, kulit buah menjadi kering dan keras, sehingga buah menjadi sulit untuk dikupas.



Gambar 2.4. Penampakan buah kopi yang terserang bercak daun.
(Nelson, 2004)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan waktu pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di kawasan hutan pendidikan UB *forest* di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo, Krangploso, Kabupaten Malang sebagai tempat pengambilan sampel dan di laboratorium penyakit tumbuhan jurusan hama dan tumbuhan, Universitas Brawijaya, Malang, dari bulan Juli hingga bulan November 2018.

3.2. Alat dan bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow cabinet*, autoklaf, mikroskop, cawan petri, bunsen, jarum Ose, *beaker glass*, pinset, spatula, jarum steril, *cork borer*, botol media, *scalpel*, timbangan analitik, kompor listrik, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, *hand sprayer*, pisau, *aluminium foil*, kapas dan *tissue steril*.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat jamur *Cercospora coffeicola* yang dieksplorasi dari tanaman kopi yang mempunyai gejala penyakit bercak daun, isolat actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer tanaman kopi, Natrium hipoklorit (NaOCl) 2%, alkohol 70%, akuades, media PDA (*Potato dextrose agar*), media SCA (*Starch casein agar*), larutan KOH, *lactophenol cotton blue* dan pewarna kristal violet.

3.3. Metode pelaksanaan penelitian

Metode yang dilaksanakan pada penelitian ini meliputi beberapa tahap, diantaranya yakni:

- a. Pengambilan sampel Actinomycetes rizosfer dan patogen *Cercospora coffeicola*
- b. Isolasi actinomycetes rizosfer
- c. Pemurnian actinomycetes rizosfer
- d. Uji gram bakteri dan uji pewarnaan gram pada actinomycetes
- e. Isolasi patogen *Cercospora coffeicola*
- f. Pembuatan preparat untuk identifikasi patogen

- g. Pengamatan dan identifikasi
- h. Uji antagonis isolat actinomycetes rizosfer terhadap *Cercospora coffeicola*
- i. Rancangan percobaan dan analisis data

3.3.1. Pengambilan sampel Actinomycetes rizosfer dan patogen *Cercospora coffeicola*

Pengambilan sampel actinomycetes rizosfer dan patogen *Cercospora coffeicola* dilakukan di UB forest. Sampel actinomycetes rizosfer diambil dari lahan yang dekat dengan kawasan hutan, ditanami oleh tanaman kopi dan dilakukan menggunakan metode *sampling* terpilih (*purposive*), yaitu menggunakan titik sampel atau petak terpilih yang dapat mewakili keadaan secara umum. Sampel actinomycetes diambil dengan menarik garis diagonal pada lahan kopi kemudian tanaman yang terlewati oleh garis tersebut diambil sampel tanah (± 50 gr) pada rizosfer (bagian perakaran) tanaman dengan kedalaman 15 - 20 cm. Sedangkan pengambilan sampel patogen *Cercospora coffeicola* diambil dari tanaman kopi yang bergejala penyakit bercak pada daunnya, yakni terlihat gejala bercak bulat berwarna cokelat kemerahan atau cokelat tua, pada bercak yang tua terdapat pusat yang berwarna putih kelabu, yang sering tampak ditaburi tepung hitam yang terdiri dari konidium jamur (Semangun, 1990, dalam Denfitri 2016).

3.3.2. Isolasi actinomycetes rizosfer

Isolasi actinomycetes dilakukan dengan teknik pengenceran bertingkat, yaitu 1 gram sampel tanah dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan 9 ml akuades steril, kemudian dikocok hingga larutan didiamkan beberapa saat (± 1 menit). Setelah itu, larutan diambil 1 ml dan dilakukan pengenceran sampai pada tingkat pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} . Pada tahap pengenceran terakhir, diambil sebanyak 1 ml larutan untuk diisolasi pada media SCA dalam cawan petri (Sektiono *et al.*, 2016).

3.3.3. Pemurnian actinomycetes rizosfer

Koloni actinomycetes yang menunjukkan penampakan makroskopis kelompok actinomycetes, berupa bentuk koloni, pigmen warna dan penyebaran, dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi media SCA. Dalam pengamatan penampakan makroskopis, buku acuan yang digunakan yakni *Bergey's manual of determinative bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

3.3.4. Uji gram bakteri dan uji pewarnaan gram pada actinomycetes

Koloni actinomycetes yang sudah murni kemudian dilakukan pengujian gram, dengan cara meneteskan larutan KOH sebanyak ± 2 tetes pada kaca preparat, lalu mengambil koloni actinomycetes dengan jarum ose, setelah itu ratakan koloni dengan larutan KOH dan angkat ujung jarum ose. Jika koloni yang bercampur dengan larutan KOH tidak berlendir, maka bakteri tersebut termasuk dalam bakteri gram positif, sebaliknya jika berlendir, berarti koloni bakteri termasuk dalam bakteri gram negatif.

Pada uji pewarnaan gram, teteskan 1 tetes akuades steril pada kaca preparat, lalu ambil koloni bakteri dengan jarum ose. Ratakan koloni dan akuades steril pada kaca preparat lalu bakar diatas bunsen. Setelah kering, teteskan larutan kristal violet dan ratakan sesuai dengan daerah rataan campuran akuades steril dan bakteri. Lalu tunggu hingga kristal violet meresap dan cuci dengan air yang mengalir hingga bersih. Setelah itu, bakar diatas api bunsen hingga kering dan lihat koloni bakteri dibawah mikroskop.

3.3.5. Isolasi patogen *Cercospora coffeicola*

Isolasi patogen *Cercospora coffeicola* dilakukan dengan memotong daun yang terinfeksi setengah sakit dan setengah sehat. Selanjutnya disterilisasi menggunakan NaOCl 2%, alkohol 70% dan dibilas menggunakan akuades steril 2 kali dengan durasi masing-masing 1 menit, lalu dikeringkan menggunakan tissue kering. Selanjutnya, potongan daun yang terinfeksi diisolasi pada media PDA dan diinkubasi selama 5 hingga 7 hari. Koloni jamur yang diduga *C. coffeicola* berdasarkan morfologinya dimurnikan dengan memindahkan pada media PDA yang baru.

3.3.6. Pembuatan preparat untuk identifikasi patogen

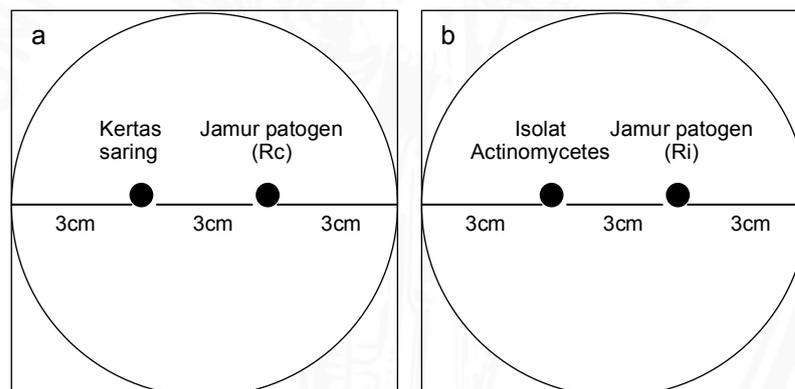
Pembuatan preparat untuk identifikasi digunakan untuk pengamatan mikroskopis. Pembuatan preparat dimulai dengan pengambilan koloni actinomycetes yang telah dimurnikan pada media PDA menggunakan jarum inokulasi, lalu diletakkan pada kaca preparat yang telah ditetaskan *lactophenol cotton blue*, lalu ditutup menggunakan cover glass dan dilakukan inkubasi selama 2-3 hari (Sektiono *et al.*, 2016)

3.3.7. Pengamatan dan identifikasi

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dibawah mikroskop, agar dapat melihat dengan lebih jelas bentuk morfologi isolat actinomycetes dan dapat diidentifikasi lebih lanjut menurut buku acuan yang digunakan yakni *Bergey's manual of determinative bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

3.3.8. Uji antagonis isolat actinomycetes rizosfer terhadap *Cercospora coffeicola*

Uji antagonis isolat actinomycetes rizosfer terhadap patogen *Cercospora coffeicola* dilakukan dengan metode *dual culture*. Menurut Yulia *et al* (2014), isolat actinomycetes dan *Cercospora coffeicola* masing-masing ditumbuhkan pada media PDA selama 5 - 7 hari. Setelah mendapatkan biakan murni, isolat actinomycetes dan *C. coffeicola* dipotong menggunakan *cork borer* berukuran $\pm 0,5$ cm. Kedua isolat lalu diletakkan pada media PDA yang baru secara berseberangan dengan jarak ± 3 cm (Gambar 3.1).



Gambar 3.1. Ilustrasi uji antagonis (a) perlakuan kontrol (b) perlakuan antagonis jamur patogen dengan isolat actinomycetes.

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung diameter koloni yang tumbuh baik koloni isolat actinomycetes maupun *C. coffeicola*. Menurut Narayanasamy (2013), persentase daya hambat uji antagonis akan dihitung menggunakan rumus:

$$R = (R_c - R_i) (R_c^{-1}) \times 100\%$$

Keterangan:

R = Persentase daya hambat (%).

R_c = Jari-jari koloni jamur pada perlakuan kontrol.

R_i = Jari-jari koloni jamur menuju pusat antagonis pada perlakuan antagonis.

Menurut Živković *et al* (2010) dalam Nuraini *et al* (2017), persentase daya hambat dikategorikan sebanyak 4 kategori yakni lemah, sedang, kuat dan sangat kuat. Tabel 3.1 menunjukkan persentase dan kategori lemah – kuatnya penghambatan pada uji antagonis.

Tabel 3.1. Persentase kategori daya hambat pada uji antagonisme.

Besar persentase	kategori daya hambat
< 30%	lemah
30 - < 50%	sedang
50 - < 70%	kuat
≥ 70 – 100%	sangat kuat

3.3.9. Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yakni Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena dilakukan di laboratorium dan dengan perlakuan kontrol. Untuk analisis data uji antagonis antara actinomycetes dengan patogen *Cercospora coffeicola*, dilakukan 4 kali ulangan pada setiap perlakuan. Data yang didapatkan akan dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dan apabila didapatkan hasil yang berbeda nyata akan dilanjutkan menggunakan uji BNT dengan taraf kesalahan 5% (Sektiono *et al.*, 2016).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil isolasi dan identifikasi actinomycetes dari rhizosfer tanah kopi

Eksplorasi actinomycetes dilakukan di hutan pendidikan UB *Forest*, dimana terdapat banyak tanaman kopi yang ditanam. Belum diketahui secara pasti berapa banyak keanekaragaman actinomycetes pada hutan pendidikan UB *forest* dimana lokasi pengambilan sampel berada pada ketinggian 1200 mdpl. Habitat actinomycetes pada umumnya terdapat pada daerah perairan dan tanah. Menurut Nurkanto (2007), Actinomycetes merupakan salah satu mikroba tanah yang memiliki kelimpahan terbesar dan berperan penting dalam proses dekomposisi. Kekayaan dan keragaman actinomycetes ada di tanah tertentu, sangat dipengaruhi oleh jenis tanah, lokasi geografis, budidaya dan bahan organik (Agadagba, 2014).

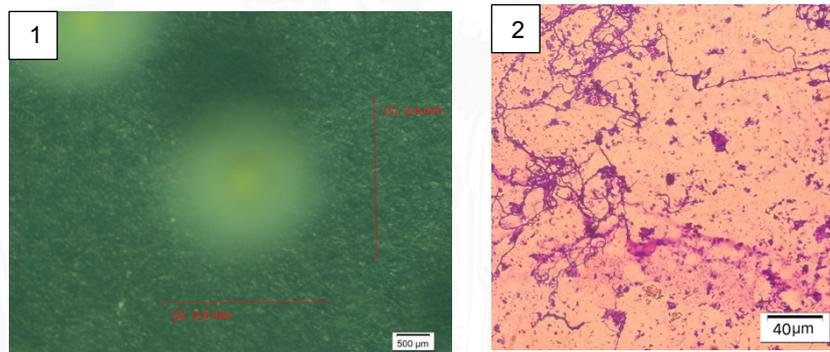
Hasil yang diperoleh dari eksplorasi actinomycetes pada rizosfer tanaman kopi yakni terdapat 6 isolat actinomycetes yang tumbuh pada tingkat pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} pada media SCA. Pengamatan makroskopis seperti titik asal isolat, bentuk koloni, bentuk tepian, warna koloni, bentuk elevasi dan uji KOH untuk mengetahui jenis gram pada bakteri dilakukan pada isolat murni dari koloni actinomycetes yang ditemukan. Hasil karakteristik actinomycetes dapat dilihat dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1. Karakteristik makromorfologi dan identifikasi actinomycetes

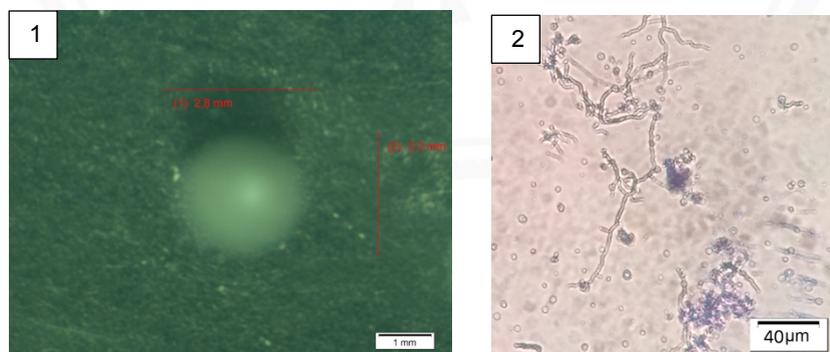
Karakter	Isolat					
	A16	A17	A18	A19	A20	A21
Karakteristik makroskopis						
Titik asal	Titik 1	Titik 2	Titik 2	Titik 3	Titik 3	Titik 3
Bentuk Koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Bentuk tepian	tidak rata	tidak rata	Utuh	Utuh	Utuh	Tidak Rata
Warna koloni	Kuning pucat	Merah	Putih kecokelatan	Putih	kuning keoranyean	Putih kecokelatan
Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung
Karakteristik mikroskopis						
Bentuk sel	spiral	lurus hingga agak melingkar	kokus	kokus	kokus	spiral
Gram	+	+	+	+	+	+
Genus	<i>Streptomyces</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Streptomyces</i>

*Pengamatan dilakukan pada media SCA (*Starch casein agar*).

Isolat A16 dan A21 termasuk dalam genus *Streptomyces*. *Streptomyces* merupakan genus bakteri yang berasal dari filum Actinobacteria, kelas Actinobacteria, ordo Actinomycetales dan famili Streptomycetaceae (Holt *et al.*, 1994). Pada koloni isolat A16, bentuk koloni yang terlihat yakni bulat dengan bentuk tepian yang tidak rata dan warna koloni yakni kuning serta mempunyai elevasi yang cembung (Gambar 4.1). Sedangkan makroskopis pada isolat A21 yakni memiliki bentuk bulat dengan bentuk tepian yang tidak rata, berwarna putih kecokelatan dan berelevasi cembung (Gambar 4.2). Isolat A16 dan A21 termasuk dalam bakteri gram positif serta bentuk sel pada isolat tersebut adalah spiral (Gambar 4.1 dan 4.2). Penelitian yang dilakukan Armaida dan Khotimah (2016) menghasilkan isolat *Streptomyces* yang berbentuk bulat mengakar dan koloni tidak beraturan. Warna miselium subsrat yaitu putih, sedangkan warna miselium aerial yaitu kuning keabuan dan putih. *Streptomyces* memiliki bentuk koloni dengan ciri khas tersendiri menyerupai *lichen*, kasar bertepung atau bertekstur mentega (Holt *et al.*, 1994) serta memiliki kemampuan menghambat beberapa jenis mikroba (Khan *et al.*, 2014, dalam Armaida dan Khotimah 2016).

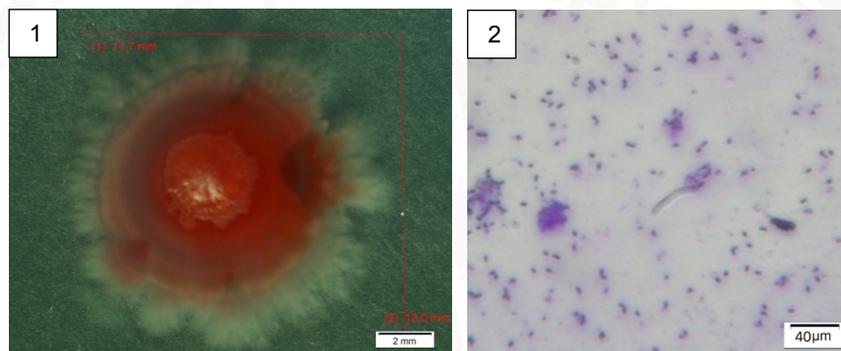


Gambar 4.1. Foto koloni tunggal dan bentuk sel A16 (Genus: *Streptomyces*) pada 16 HSI (1) koloni tunggal A16 pada media SCA (2) bentuk sel koloni A16.



Gambar 4.2. Foto koloni tunggal dan bentuk sel A21 (Genus: *Streptomyces*) pada 16 HSI (1) koloni tunggal pada media SCA (2) bentuk sel koloni A21.

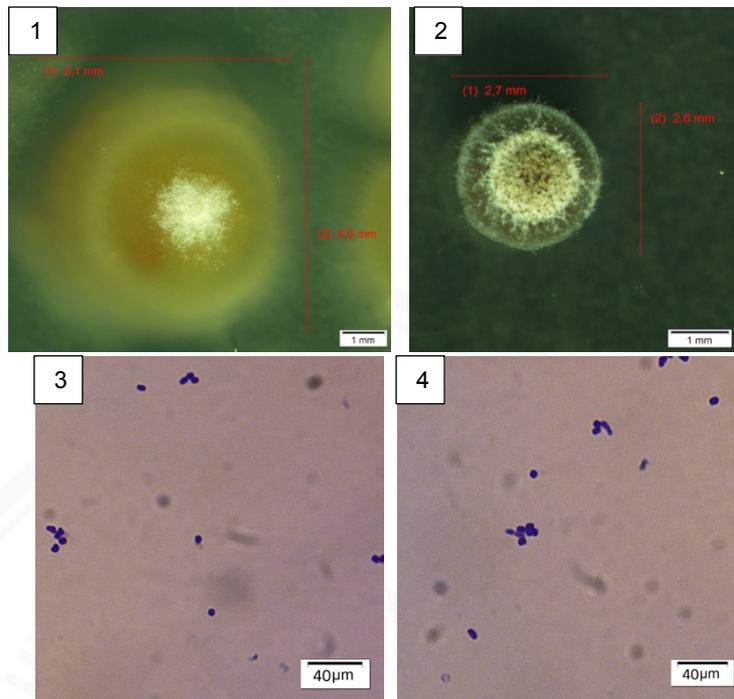
Dari penampakan makroskopis dan mikroskopisnya, isolat A17 dimasukkan pada genus *Corynebacterium*. *Corynebacterium* merupakan genus bakteri yang berasal dari filum Actinobacteria, kelas Actinobacteria, ordo Actinomycetales dan famili Corynebacteriaceae (Holt *et al.*, 1994). Isolat A17 memiliki karakter yang dimiliki genus *Corynebacterium*, yakni pada pengamatan makroskopis terlihat berbentuk bulat dengan bentuk tepian tidak utuh, mempunyai pigmen berwarna merah, bentuk elevasinya cembung dan termasuk dalam kategori bakteri gram positif. Sel dari *Corynebacterium* berbentuk lurus (*straight*) hingga agak melingkar (Gambar 4.3). Menurut Armaida dan Khotimah (2016), *Corynebacterium* menghasilkan pigmen berwarna merah dan berbentuk lurus hingga melingkar (Holt *et al.*, 1994). Gravaenitz dan Bernard (2006) menyatakan bahwa *Corynebacterium* dapat memproduksi pigmen berwarna merah atau hitam.



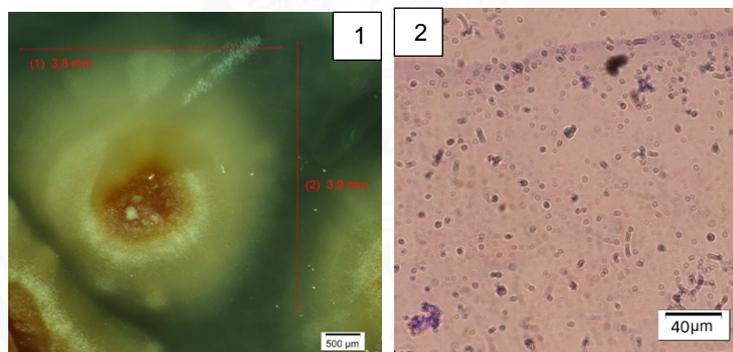
Gambar 4.3. Foto koloni tunggal dan bentuk sel A17 (Genus: *Corynebacterium*) pada 16 HSI (1) koloni tunggal pada media SCA (2) bentuk sel koloni A17.

Isolat A18, A19 dan A20 masuk kedalam genus *Micrococcus*. *Micrococcus* merupakan genus bakteri yang berasal dari filum Actinobacteria, kelas Actinobacteria, ordo Actinomycetales dan famili Micrococcaceae (Holt *et al.*, 1994). Isolat A18, A19 dan A20 memiliki karakter yang dimiliki genus *Micrococcus*, yakni pada pengamatan makroskopis terlihat berbentuk bulat dengan bentuk tepian utuh, bentuk elevasinya cembung dan termasuk bakteri gram positif. Pada isolat A18 memiliki warna putih kekacelatan dan isolat A19 memiliki warna putih (Gambar 4.4), pada A20 memiliki warna makroskopis kuning keoranyean (Gambar 4.5). Ketiga isolat tersebut termasuk dalam kategori bakteri gram positif dan sel berbentuk kokus. Menurut Armaida dan Khotimah (2016), secara makroskopis genus *Micrococcus* mempunyai bentuk bulat, berelevasi cembung dengan tepian koloni yang tidak rata atau utuh. Warna miselium substrat yaitu putih kekuningan, sedangkan warna miselium aerial yaitu

putih dan jingga kekuningan. sel dari genus ini berbentuk kokus atau diplokokus dan berukuran 0,2 – 0,7 μm .



Gambar 4.4. Foto koloni tunggal dan bentuk sel A18 dan A19 (Genus: *Micrococcus*) pada 16 HSI di media SCA (1) koloni A18 (2) koloni A19 (3) bentuk sel koloni A18 (4) bentuk sel koloni A19.



Gambar 4.5. Foto koloni tunggal dan bentuk sel A20 (Genus: *Micrococcus*) pada 16 HSI (1) koloni tunggal A20 pada media SCA (2) bentuk sel koloni A20.

4.2. Isolasi penyakit bercak daun pada kopi (*Cercospora coffeicola*)

Patogen *Cercospora coffeicola* diambil dari daun yang menunjukkan gejala penyakit bercak daun pada tanaman kopi. Gejala yang ditemukan pada daun tanaman kopi yang menunjukkan bercak berbentuk bulat beraturan hingga tidak beraturan, dengan warna cokelat tua hingga kuning menggradasi sampai ke bagian tengah, pada bagian tengah terdapat warna kuning atau putih keabuan

terkadang terlihat serbuk berwarna putih keabuan pada bagian tengah serta warna kekuningan disekeliling daerah bercak (Gambar 4.6).

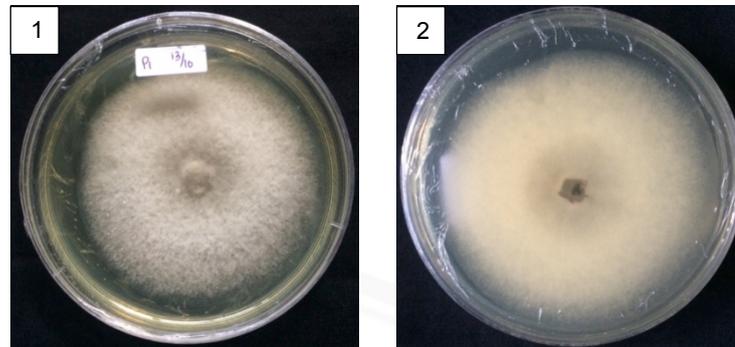


Gambar 4.6. Gejala bercak daun pada tanaman kopi

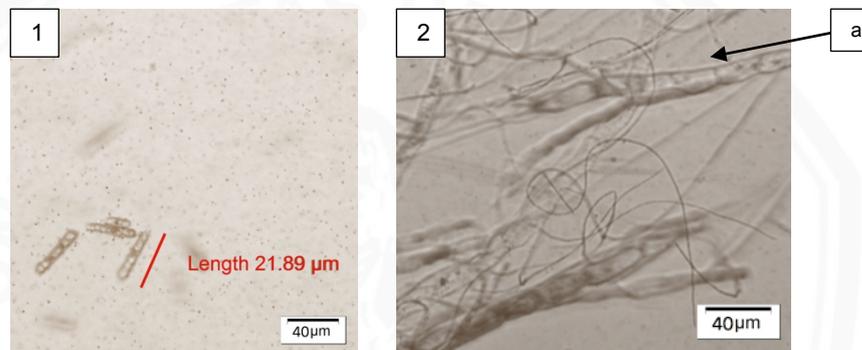
Koloni *C. coffeicola* yang ditemukan dan dibiakkan pada media PDA berwarna keabu-abuan pucat dan terdapat bercak gelap yang tidak teratur pada permukaan atas koloni dan berwarna abu-abu pucat yang mendominasi disertai dengan warna abu-abu yang lebih tua pada permukaan bawah cawan (gambar 4.7). Menurut Shivas *et al.*, (2015) koloni *Cercospora* sp. pada media PDA berwarna keabu-abuan pucat disertai dengan bercak yang lebih gelap tidak beraturan yang tumbuh pada media, serta bentuk yang tidak beraturan (*irregular*). *Cercospora coffeicola* dapat menyerang hampir seluruh spesies kopi, termasuk kopi arabika dan kopi robusta yang banyak ditanam di Indonesia. Penyakit bercak daun ini tersebar luas hampir diseluruh dunia dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Phengsintham *et al.*,2013).

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mikroskop menggunakan perbesaran 400x. Penampakan *Cercospora coffeicola* secara mikroskopis mempunyai pigmen berwarna coklat cenderung gelap dengan konidia *Cercospora coffeicola* memiliki bentuk berupa silinder panjang dengan sekat yang didalamnya, konidiospora tidak memiliki cabang dan bersepta (Gambar 4.8). Menurut Phengsintham *et al.*, (2013), konidiospora pada *C. coffeicola* muncul dari stromata, tidak bercabang, memiliki septa dan berbentuk silinder lurus hingga melengkung dan berwarna coklat sedang hingga berwarna gelap. Konidia *C. cercospora* berbentuk *acicular* (seperti jarum) hingga *obclavate*

(seperti silinder hingga bentuk buah labu) yang lurus hingga melengkung, bersepta dan berdinding tipis.



Gambar 4.7. Foto penampakan koloni (pada media PDA) *Cercospora coffeicola* pada umur 7 HSI (1) permukaan atas (2) permukaan bawah.



Gambar 4.8. Foto mikroskopis *Cercospora coffeicola* pada umur 7 HSI (1) konidia (2) bentuk konidiospora: a. konidiospora bersepta dan tidak bercabang.

4.3. Daya hambat actinomycetes terhadap *Cercospora coffeicola*

Uji antagonis dilakukan secara in vitro. 6 jenis isolat actinomycetes diuji langsung dengan isolat *Cercospora coffeicola* dan diamati setiap hari. Terdapat 7 perlakuan dimana 1 perlakuan kontrol dan 6 perlakuan actinomycetes (tabel 4.2) dengan patogen penyakit.

Tabel 4.2. Perlakuan uji antagonisme isolat actinomycetes dengan *C. coffeicola*.

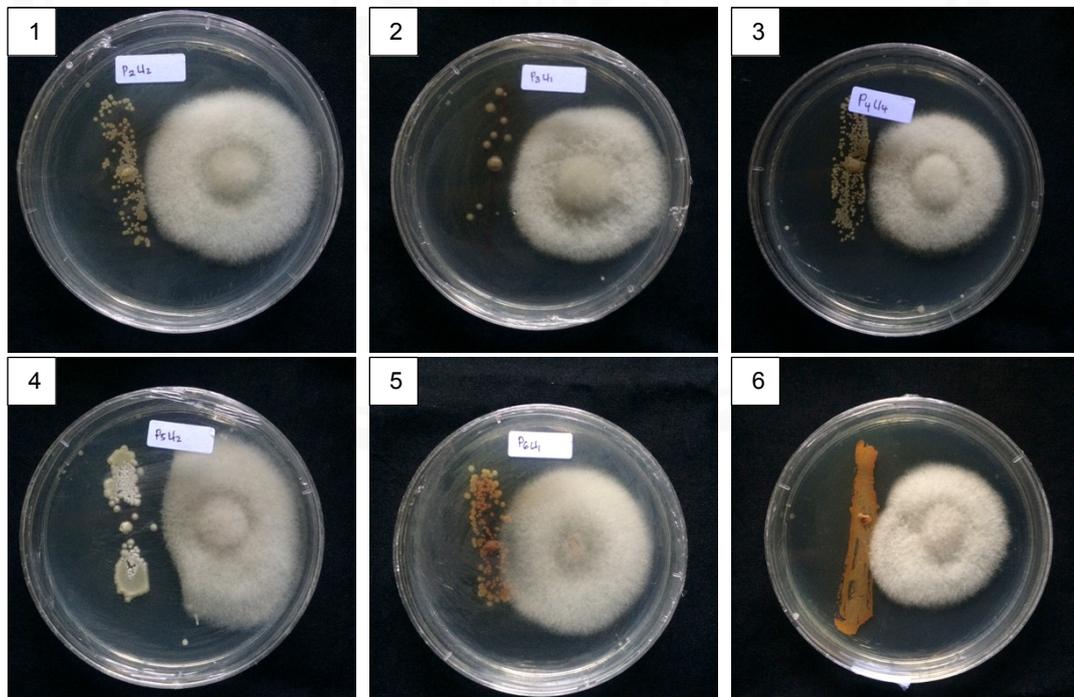
Nama perlakuan	Keterangan
P1	Perlakuan kontrol (jamur patogen <i>Cercospora coffeicola</i>).
P2	Isolat A16 (Genus: <i>Streptomyces</i>) dengan jamur patogen.
P3	Isolat A17 (Genus: <i>Corynebacterium</i>) dengan jamur patogen.
P4	Isolat A18 (Genus: <i>Micrococcus</i>) dengan jamur patogen.
P5	Isolat A19 (Genus: <i>Micrococcus</i>) dengan jamur patogen.
P6	Isolat A20 (Genus: <i>Micrococcus</i>) dengan jamur patogen.
P7	Isolat A21 (Genus: <i>Streptomyces</i>) dengan jamur patogen.

Pengamatan dilakukan selama 4 hari hingga perlakuan kontrol menyentuh kertas saring (Gambar 4.9). Setelah itu diukur dengan memasukkan rumus daya hambat antagonis dan dihitung hasilnya menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan dilanjutkan oleh uji BNT dengan taraf 5% untuk melihat perbandingan perbedaan hasil daya antagonis yang telah diujikan.



Gambar 4.9. Perlakuan kontrol uji antagonisme *Cercospora coffeicola* dengan kertas saring pada pengamatan 4 HSI di media PDA.

Gambar 4.10 menunjukkan daya hambat actinomycetes dalam uji antagonis terhadap patogen *C. coffeicola*. Daya hambat actinomycetes yang paling terlihat ada pada perlakuan P5 (Isolat A19, Genus: *Micrococcus*) walaupun hasil tertinggi persentase daya hambat terdapat pada perlakuan P7 (Isolat A21, Genus: *Streptomyces*).



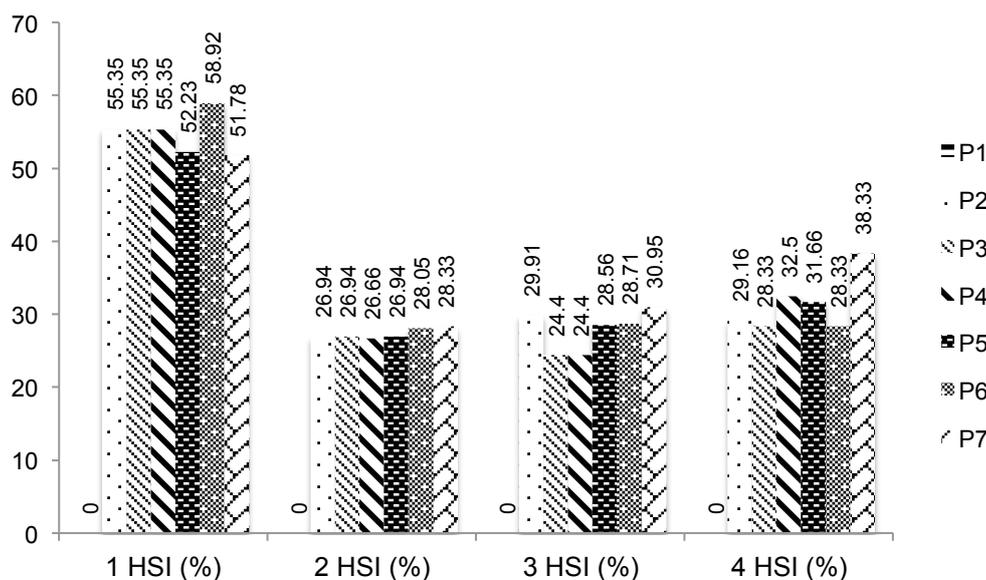
Gambar 4.10. Uji antagonisme antara isolat actinomycetes dengan *C. cercospora* di media PDA pada pengamatan 4 HSI (1) Isolat A16 (2) Isolat A17 (3) Isolat A18 (4) Isolat A19 (5) Isolat A20 (6) Isolat A21.

Hasil tertinggi pada hari pertama diperoleh oleh perlakuan P6 (58,92%) dan yang terendah oleh perlakuan P7 (51,78%). Pada hari kedua, hasil tertinggi diperoleh oleh perlakuan P7 (28,33%) dan yang terendah oleh perlakuan P4 (26,66%). Pada hari ketiga, hasil tertinggi didapatkan oleh perlakuan P7 (30,95%) dan hasil terendah diperoleh dari perlakuan P3 dan P4 (24,4%). Pada hari terakhir (hari keempat), hasil tertinggi didapatkan dari perlakuan P7 (38,33%) dan hasil terendah diperoleh dari perlakuan P6 (28,33%) (Tabel 4.3). Perbandingan daya hambat dari uji antagonis isolat actinomycetes dapat dilihat pada gambar 4.11.

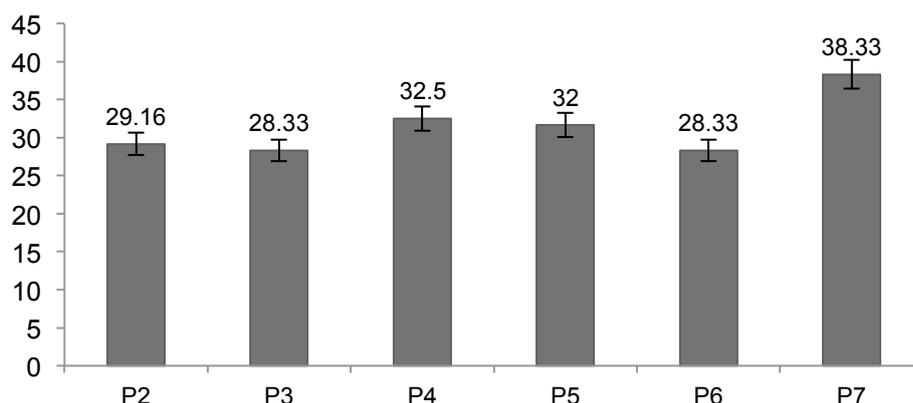
Tabel 4.3. Hasil rerata uji antagonis (%) selama 4 hari.

Perlakuan	1 HSI (%)	2 HSI (%)	3 HSI (%)	4 HSI (%)
P1 (kontrol)	0a	0a	0a	0a
P2 (<i>Streptomyces</i>)	55,35b	26,94b	29,91c	29,16bc
P3 (<i>Corynebacterium</i>)	55,35b	26,94b	24,4b	28,33b
P4 (<i>Micrococcus</i>)	55,35b	26,66b	24,4b	32,5d
P5 (<i>Micrococcus</i>)	52,23b	26,94b	28,56bc	31,66cd
P6 (<i>Micrococcus</i>)	58,92b	28,05b	28,71c	28,33cd
P7 (<i>Streptomyces</i>)	51,78b	28,33b	30,95c	38,33e

Keterangan: P1 (Perlakuan kontrol); P2 (Isolat actinomycetes A16); P3 (Isolat actinomycetes A17); P4 (Isolat actinomycetes A18); P5 (Isolat actinomycetes A19); P6 (Isolat actinomycetes A20); dan P7 (Isolat actinomycetes A21).



Gambar 4.11. Perbandingan daya hambat actinomycetes pada uji antagonisme dari hari pertama sampai dengan hari ke-4.



Gambar 4.12. Perbandingan daya hambat actinomycetes pada uji antagonisme pada hari ke-4.

Kriteria penghambatan antara 6 perlakuan antagonisme actinomycetes dengan patogen *C. coffeicola* dikategorikan sebagai kompetisi dikarenakan pertumbuhan patogen dihambat oleh keberadaan koloni actinomycetes. Kompetisi dapat terjadi pada kompetisi ruang maupun kompetisi nutrisi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Vurukonda *et al* (2018), *Streptomyces* yang diamati mengantagonis patogen dengan cara menekan jalur pertumbuhan patogen. Pada umumnya, bakteri membentuk zona hambat dalam mekanisme antagonisme. Namun, pada uji antagonis yang dilakukan pada isolat actinomycetes, tidak terlihat dengan jelas zona hambat yang terbentuk, walau demikian, penghambatan dapat dilihat dari perbandingan antara perlakuan kontrol dengan perlakuan antagonis dengan isolat. Perbanyak isolat actinomycetes dilakukan pada media SCA namun uji antagonisme terhadap patogen *C. coffeicola* dilakukan pada media PDA. Menurut Saputra dkk (2015), tidak terbentuknya zona hambat dapat terjadi karena keadaan media tumbuh yang dipakai, walau demikian bakteri tetap dapat menekan laju pertumbuhan patogen tanaman.

Tabel 4.4. Persentase hambat isolat actinomycetes pada uji antagonis

Nama isolat	persentase penghambatan (%)	Kategori penghambatan
A16	29,16	lemah
A17	28,33	lemah
A18	32,5	sedang
A19	31,66	sedang
A20	28,33	lemah
A21	38,44	sedang

Keterangan: persentase penghambatan yang tertera pada tabel 4.4 diambil dari pengamatan uji antagonis pada 4 HSI.

Persentase penghambatan yang paling tinggi diperoleh dari isolat A21 yakni sebesar 38,44% dan termasuk dalam kategori penghambatan yang sedang. Penghambatan terendah terjadi pada perlakuan dengan isolat A17 dan A20 yakni 28,33% dan termasuk dalam kategori penghambatan yang lemah. Menurut Živković *et al* (2010) dalam Nuraini *et al* (2017), persentase daya hambat dikategorikan sebanyak 4 kategori yakni lemah (kategori I) dengan persentase daya hambat < 30%, sedang (kategori II) dengan persentase daya hambat 30 - < 50%, kuat (kategori III) dengan persentase daya hambat sebesar 50 - < 70% dan sangat kuat (kategori IV) dengan persentase daya hambat sebesar $\geq 70 - 100\%$.

Isolat A21 yang menunjukkan daya hambat yang paling besar diantara perlakuan lainnya, diidentifikasi sebagai *Streptomyces* yang mempunyai zat antifungi dalam jumlah yang banyak dan digunakan sebagai agens hayati untuk patogen tanaman. Actinomycetes merupakan bakteri yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik (Dhanasekawan *et al.*, 2005). Oleh karena itu, *Streptomyces* dapat dijadikan opsi sebagai agens pengendali biologis terhadap tanaman yang terkena penyakit. Muthahanas (2004), menyatakan bahwa *Streptomyces* yang ditemukan pada rizosfer tanaman memiliki peranan penting dalam menjaga tanaman tersebut dari serangan patogen akibat jamur maupun bakteri.

Selain *Streptomyces*, genus *Corynebacterium* juga dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati. Menurut Ismail dkk (2011), Bakteri *Corynebacterium* merupakan salah satu agens hayati bersifat antagonis (agens antagonis) yang dapat mengendalikan beberapa jenis OPT bahkan pemanfaatan bakteri *Corynebacterium* di bidang pertanian sudah dikembangkan dengan cara penerapan sistem pengendalian hama terpadu (PHT) dengan cara memaksimalkan penerapan berbagai metode pengendalian hama secara komprehensif dan mengurangi penggunaan pestisida.

Genus *Micrococcus* juga menunjukkan peran mereka sebagai agens biokontrol dengan dua cara, salah satunya adalah dengan metode langsung dimana HCN dan *Siderophore* produksi bersama dengan aktivitas enzim tertentu (selulosa, protease dan kitinase) dan mengakibatkan penghambatan patogen tanaman. Metode tidak langsung termasuk penghambatan jamur patogen

tanaman dengan melakukan aktivitas antijamur terhadap jamur patogen (Sharma dan Saharan, 2016).

Menurut Sharma *et al* (2014), pada umumnya actinomycetes merupakan dekomposer lignoselulosa dan merupakan penghasil antibiotik. Strain dengan kemampuan untuk menurunkan lignoselulosa yang nantinya akan mengantagonis patogen sehingga dapat dijadikan sebagai biokontrol. Doumbou *et al* (1998) dalam Sharma *et al* (2014) menyatakan bahwa actinomycetes menurunkan thaxtomin A, fitotoksin yang diciptakan oleh *S. scabies* yang merupakan patogen tanaman, serta melindungi tanaman kentang dari serangan patogen tersebut. Vernekar *et al* (1999) menemukan alkaline protease inhibitor (API) sebagai protein antijamur terhadap jamur fitopatogen seperti *Alternaria*, *Fusarium*, dan *Rhizoctonia*. Aktivitas API tampaknya terkait dengan kemampuannya untuk menghambat protease alkalin serin jamur, yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan. Selain menghasilkan antibiotik dan menjadi biokontrol, actinomycetes juga mempunyai peran lain. Sherma *et al* (2014) menyebutkan bahwa fungsi actinomycetes diantaranya dapat sebagai sumber senyawa agroaktif, menstimulus pertumbuhan tanaman, agens biopestisida, dapat memproduksi hormon pertumbuhan tanaman, dan berperan dalam bioremediasi.

V. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Hasil eksplorasi actinomycetes dari rizosfer tanaman kopi yakni ditemukan enam jenis isolat actinomycetes dari tiga genus yang berbeda, yaitu dua isolat dari genus *Streptomyces* (Isolat A16 dan A21), satu isolat dari genus *Corynebacterium* (Isolat A17) dan tiga isolat dari genus *Micrococcus* (Isolat A18, A19 dan A21). Hasil uji antagonisme isolat actinomycetes dengan penyakit bercak daun adalah keenam isolat actinomycetes memiliki kemampuan daya antagonis dengan daya hambat lemah hingga sedang dengan persentase 28,33% hingga 38,33%. Persentase daya hambat yang lemah ditemukan pada isolat A16 (29,16%), A17 (28,33%), dan A20 (28,33%) dan persentase daya hambat yang sedang ditemukan pada isolat A18 (32,5%), A19 (31,66%) dan A21 (38,44%). Isolat actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer tanaman kopi dapat berpotensi sebagai agens antagonis yang nantinya dapat menghambat laju pertumbuhan patogen tanaman di kopi.

5.2. Saran

Penelitian ini dapat diteliti lebih lanjut untuk mencari efektivitas actinomycetes lebih dalam sebagai agens hayati dan dapat dilanjutkan dengan uji antagonisme menggunakan media khusus untuk actinomycetes agar dapat melihat perbandingan daya hambat actinomycetes pada masing-masing media. Serta isolat actinomycetes dapat diidentifikasi hingga tahap spesies untuk penelitian selanjutnya.

Daftar Pustaka

- Armaida, E., S. Khotimah. 2016. Karakterisasi actinomycetes yang berasosiasi dengan Porifera (*Axinella* spp.) dari perairan Pulau Lemukutan Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont* Vol. 5 (1) : 68-73. 6hal.
- Atlas, R. 1998. *Principle of microbiology*. Brown publisher. United States
- Dhanasekaran, D., P. Sivamani, A. Panneerselvam, N. Thajuddin, G. Rakakumar dan S. Selvamani. 2005. Biological control of tomato seedling damping off with *Streptomyces* sp. *Plant Pathology Journal* 4(2): 91-95. 5hal
- Denfitri, Y. 2016. Pengamatan beberapa penyakit yang menyerang tanaman kopi (*Coffea* sp.) di desa Mekar Jaya, kecamatan Betara, kabupaten Tanjung Jabung Barat. *Jurnal media Indonesia* Vol. 1(2): 78-74. 8 hal.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2014. Pedoman teknis budidaya kopi yang baik (*Good agriculture practices (GAP) on coffee*). Peraturan menteri pertanian no. 49/Permentan/OT.140/4/2014: Jakarta. 72 hal.
- Doumbou, CL., V. Akimov, dan C. Beaulieu. 1998. Selection and characterization of microorganisms utilizing thaxtomin A, a phytotoxin produced by *Streptomyces scabies*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 4313-4316. 4hal.
- _____. 2017. Statistik perkebunan kopi di Indonesia 2015-2017. Kementerian Pertanian. Jakarta. 98hal.
- Goodfellow, M. & Williams, S.T. 1983. *Ecology of actinomycetes*. University of Liverpool Publisher. Liverpool. 30 hal.
- Graevenitz, A.V. dan K. Bernard. 2006. The genus *Corynebacterium* – medical. *Prokaryotes Journal* Vol. 3 Hal. 819-842. 24hal.
- Hardaningsih, S., Sumartini. 2015. Penyakit-penyakit penting yang disebabkan oleh jamur pada kacang tanah dan cara pengendaliannya. Monograf Balitkabi No. 13. 13 hal.
- Holt, J.G.N.R., Krieg P.A.H., Sneath J.T., Stanley, dan S.T. William. 1994. *Bergey's manual of determination bacteriology* 9th edition. Williams & Wilkins Baltimore. 566 hal.
- Ismail, N., L.A. Taulu dan Bachtiar. 2011. Potensi *Corynebacterium* sebagai pengendali penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi. Seminar Nasional. BPTP Manado. 7hal
- Kelecom, A. 2002. Secondary metabolites from marine microorganisms. *An acad bras. Science* vol. 74(1): 151-170. 20 hal.
- Kementerian Pertanian. 2014. Pedoman teknis pembangunan kebun induk dan kebun entres kopi arabika dan kopi robusta. Peraturan menteri pertanian no 128/Permentan/OT.140/11/2014. 26 hal.
- Khan, S.T., M. Takagi., dan K. Shin-ya.2012. Actinobacteria associated with the marine sponges *Cinachyra* sp., *Petrosia* sp., and *Ulosa* sp. and their culturability. *Microbes and Environments Journal*, Vol. 27 No. 1 Hal. 99 104. 6hal.
- Kurtboke, D.I. 2001. Selective isolation of rare actinomycetes. Queensland CPS: Queensland.

- Mekuria T., D, Neuhoff D., dan U, Köpke. 2004. The status of coffee production and the potential for organic conversion in Ethiopia. Conference on International Agricultural Research for Development. 9 hal
- Miyadoh, S. 1997. Atlas of actinomycetes. Asakura publishing Co Ltd: Japan. 223 hal.
- Muthahanas, I. 2004. Potensi *Streptomyces* sp. sebagai agens pengendali biologi *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu pada tanaman cabai [thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Najiyati dan Danarti. 2007. Kopi Budidaya dan Penanganan Pasca Panen. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Narayanasamy, P. 2013. Biological management of diseases of crop. Springer: New York.
- Nelson, S. 2004. *Cercospora* leaf spot on coffee. Flickr picture. 2004.
- Nuraini, F.R., R. Setyaningsih dan A. Susilowati. 2017. Screening and characterization of endophytic fungi as antagonistic agents toward *Fusarium oxysporum* on eggplant (*Solanum melongena*). Jurnal Biodiversitas Vol 18:4. 8hal
- Panggabean, E. 2011. Buku pintar kopi. Agro media pustaka: Jakarta. 240 hal.
- Phengsintham, P., Braun, U., McKenzie, EHC., Chukeatirote, E., Cai, L., dan Hyde, KD. 2013. Monograph of Cercosporoid fungi from Thailand. Plant pathology and quarantine journal. 72 hal.
- Proyek pengendalian hama terpadu perkebunan rakyat. 2002. Musuh alami, hama dan penyakit tanaman kopi. Departemen Pertanian: Jakarta.
- Pujiati. 2014. Isolasi actinomycetes dari tanah kebun sebagai bahan petunjuk praktikum mikrobiologi. Jurnal florea vol. 1(2): 42-46. 5hal.
- Saputra, R., T. Arwiyanto., A. Wibowo. 2015. Uji aktivitas antagonistik beberapa isolat *Bacillus* spp. terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada beberapa varietas tomat dan identifikasinya. Jurnal PSNMBI vol. 1(5):1116-1122. 6hal.
- Sastrahidayat, I.R. 2011. Fitopatologi (Ilmu penyakit tumbuhan). UB Press. Malang. 282 hal.
- Sektiono, A.W., S.N. Kajariyah, dan S. Djauhari. 2016. Uji antagonisme actinomycetes rhizosfer dan endofit akar tanaman cabai (*Capsicum frutescens* L.) terhadap jamur *Colletotrichum capsici* (Syd.) Bult et Bisby. Jurnal HPT Vol 4(1):17-23. 7 hal.
- Semangun, H. 1989. Penyakit-penyakit tanaman perkebunan di Indonesia. UGM Press. Yogyakarta. 808 hal.
- Sengupta, S., A, Pramanik., A, Ghosh., dan M, Bhattacharyya. 2015. Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from unexplored regions of Sundarbans mangrove ecosystem. BMC Journal 15:170. 16 hal.
- Sharma, M., P. Dingi., dan M. Choudhary. 2014. Actinomycetes: sources, identifications and their applications. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences vol 3(2) 801-832. 32hal.

- Sharma, N dan B.S. Saharan. 2016. Role of *Micrococcus luteus* SNSr7 strain NH54PC02 in sustainable agriculture by behaving as biocontrol agent. *International Journal of Microbiology and Allied Sciences* 3(1):1-13. 13hal.
- Shivas, R.G., S.T. Marney., Y.P. Tan., A.R. McTaggart. 2015. Novel species of *Cercospora* and *Pseudocercospora* (*Capnodiales*, *Mycosphaerellaceae*) from Australia. *Fungal Biology Journal* Vol. 119 362-369. 8hal.
- Sulistiyani, N. 2013. Keragaman isolat actinomycetes berdasarkan analisis RFLP terhadap gen NRPS. *Jurnal ilmiah kefarmasian* vol. 3(1):81-94. 14 hal.
- Takisawa, M., R, R. Colwel dan R, T. Hill. 1993. Isolation and diversity of actinomycetes in the Chesapeake bay. *Journal applied environmental microbial* vol. 59: 997– 1002. 6 hal.
- Vernekar J.V., M.S. Ghatge, and V.V. Deshpande. 1999. Alkaline protease inhibitor: a novel class of antifungal proteins against phytopathogeni fungi. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 262: 702-707.
- Vurukonda, SSKP., D. Giovanardi., E. Stefani. 2018. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. *International Journal of Molecular Series.* 19,952. 26hal.
- Yulia, E., N, Istifadah., F, Widiyanti dan H.S Utami. 2017. Antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap jamur *Rigidoporus lignosus* (Klotzch) Imazeki dan penekanan penyakit jamur akar putih pada tanaman karet. *Jurnal agrikultura* vol. 28(1): 47-55. 9 hal.
- Živković, S., S. Stojanović., Ž. Ivanović., V.Gavrilović., T. Popović., dan J Balaž. 2010. Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Arch Biol Sci Belgrade* 62: 611-623. 13 hal.