

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN LIDAH BUAYA
DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT BUSUK LUNAK**

SKRIPSI

Oleh
ANGGI SARASWATI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2019

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN LIDAH BUAYA
DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT BUSUK LUNAK**

Oleh:

**ANGGI SARASWATI
155040207111073**

**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**

2019

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 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, 8 Juli 2019

Anggi Saraswati

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.

NIP. 19550821 198002 1 002

Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc.

NIK. 2014098805042001

Penguji III

Penguji IV

Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.

NIP. 19720919 199802 1 001

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.

NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

Anggi Saraswati. 155040207111073. Potensi Bakteri Endofit Tanaman Lidah Buaya Dalam Menghambat Penyakit Busuk Lunak. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.

Tanaman lidah buaya mulai banyak dibudidayakan karena memiliki manfaat yang baik antara lain dalam bidang kesehatan, kosmetik dan pangan. Namun dalam budidaya lidah buaya yang dikembangkan terdapat permasalahan salah satunya adanya serangan penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia* sp. Setiap tanaman memiliki ketahanan masing-masing dalam menghambat pertumbuhan patogen yang dibantu oleh mikroorganisme salah satunya bakteri. Bakteri yang berada dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan disebut bakteri endofit. Tetapi sampai saat ini informasi mengenai bakteri endofit lidah buaya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keefektifan bakteri endofit tanaman lidah buaya dalam menghambat patogen *Erwinia* sp. dan mengetahui karakteristik bakteri tersebut

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2018 – April 2019. Tahapan penelitian yaitu isolasi bakteri patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak lidah buaya, isolasi bakteri endofit pada bagian akar dan batang lidah buaya, seleksi, uji hipersensitif bakteri endofit, uji antagonis, dan karakterisasi bakteri sampai tingkat genus.

Berdasarkan hasil isolasi patogen dari tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak diperoleh sebanyak 12 isolat bakteri. Dari pengujian karakterisasi, identifikasi dan patogenesitas ditemukan 2 isolat bakteri tergolong kedalam genus *Erwinia* sp. yang diperkirakan sebagai patogen *Erwinia chrysanthemi* penyebab busuk lunak tanaman lidah buaya. Hasil isolasi bakteri endofit pada tanaman lidah buaya didapatkan sebanyak 86 isolat bakteri yang terdiri dari 48 isolat dari bagian akar dan 38 isolat dari bagian batang. Seleksi bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam menghambat patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak sebanyak 39 isolat. Enam isolat dengan penghambatan tertinggi dipilih untuk digunakan dalam uji antagonis lanjutan yaitu isolat B3.3C, A1.4B, B3.3B, A5.2A, A.1.1B dan B1.5A. Pengujian antagonis yang dilakukan didapatkan hasil bahwa keenam isolat bakteri endofit memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik dibanding bakterisida Streptomisin dengan rerata penghambatan tertinggi ditunjukkan pada isolat A5.2A, B3.3C dan B3.3B. Identifikasi dan karakterisasi pada bakteri antagonis yang memiliki kemampuan dalam menghambat patogen *Erwinia* sp. didapatkan hasil sebanyak 5 isolat tergolong kedalam genus *Pantoea* sp. yaitu isolat B3.3C, B3.3B, A1.4B, A1.1B dan B1.5A serta 1 isolat tergolong kedalam genus *Erwinia* sp. yaitu isolat A5.2A

SUMMARY

Anggi Saraswati. 155040207111073. Endophytic Bacteria Potential of Aloe Vera Plants in Inhibiting Soft Rot. Under the guidance of Luqman Qurata Aini, SP., M.Sc., Ph.D. as the Main Advisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. as a Second Advisor.

Aloe vera plants are widely cultivated because they have good benefits in the fields of health, cosmetics and food. But in the development of aloe vera, there were problems, one of which was the attack of soft rot caused by the bacteria *Erwinia* sp. Each plant has its own resistance in inhibiting the growth of pathogens assisted by microorganisms, one of which is bacteria. Bacteria that are in plant tissues without causing damage are called endophytic bacteria. But until now information about aloe vera endophytic bacteria is still limited. This study aims to examine the effectiveness of aloe vera endophytic bacteria in inhibiting pathogen *Erwinia* sp. and know the characteristics of these bacteria

The research was conducted at the Laboratory of Plant Diseases Department of Plant Pests and Diseases of the Faculty of Agriculture, Brawijaya University Malang in December 2018 - April 2019. The stages of the research were the isolation of pathogenic bacteria *Erwinia* sp. the causes of soft aloe vera, isolation of endophytic bacteria in the roots and aloe stem, selection, hypersensitivity test of endophytic bacteria, antagonistic test, and bacterial characterization to the genus level.

Based on the results of isolation of pathogens from soft rot of the aloe vera plant obtained 12 bacterial isolates. From characterization, identification and pathogenicity tests found 2 isolates belonging to the genus *Erwinia* sp. it is thought that the pathogen *Erwinia chrysanthemi* causes soft rot of the aloe vera plant. The result isolation of endophytic bacteria in aloe vera plants was obtained as many as 86 bacterial isolates consisting of 48 isolates from the root section and 38 isolates from the stem section. Selection of endophytic bacteria that have the ability to inhibit pathogens *Erwinia* sp. causes of soft rot as many as 39 isolates. Six isolates with the highest inhibition were selected for use in the advanced antagonist test, namely isolates B3.3C, A1.4B, B3.3B, A5.2A, A.1.1B and B1.5A. The antagonistic test conducted showed that the six endophytic bacterial isolates had better inhibitory ability than bactericidal Streptomycin with the highest inhibition rate shown in isolates A5.2A, B3.3C and B3.3B. Identification and characterization of antagonistic bacteria that have the ability to inhibit pathogens *Erwinia* sp. the results obtained as many as 5 isolates belonging to the genus *Pantoea* sp. there are isolates B3.3C, B3.3B, A1.4B, A1.1B and B1.5A and 1 isolate belonging to the genus *Erwinia* sp. namely A5.2A isolates

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Selama penulisan skripsi, penulis mendapatkan bimbingan dan saran serta bantuan baik moril maupun materil yang mendukung penyelesaian skripsi dengan judul “Potensi Bakteri Endofit Tanaman Lidah Buaya dalam Menghambat Penyakit Busuk Lunak”. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas segala nasihat dan bimbingannya kepada penulis
2. Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. selaku pembimbing skripsi yang mendampingi penulis dengan memberikan segala arahan, kesabaran, kritik maupun saran
3. Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. selaku penguji atas nasihat, saran dan arahan kepada penulis
4. Kedua orang tua Made Arjaya dan Etik Wahmiarti, serta kakak Aditya Prabawa yang tak henti memberikan cinta, kasih sayang, doa maupun dukungan
5. Teman spesial I Putu Indra Matarisvan yang tak henti memberikan doa, saran maupun dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi
6. Serta rekan-rekan seperjuangan angkatan 2015 yang telah memberi doa, dukungan, bantuan dan kebersamaan selama ini

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya.

Malang, Juli 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara dari Bapak Made Arjaya dan Ibu Etik Wahmiarti yang dilahirkan di Surabaya, 03 Februari 1997. Pendidikan awal yang ditempuh penulis diawali di TK Bhayangkari Sidoarjo pada tahun 2001-2003, melanjutkan Sekolah Dasar di SD Lab Undiksha Singaraja pada tahun 2003-2009, kemudian Sekolah Menengah Pertama di SMP Lab Undiksha Singaraja pada tahun 2009-2012 dan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Singaraja pada tahun 2012-2015. Pada tahun 2015, penulis melanjutkan pendidikan di Program Studi S-1 Agroekoteknologi dengan mengambil minat Perlindungan Tanaman jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

Selama menempuh pendidikan di Perguruan Tinggi, penulis memiliki pengalaman sebagai asisten praktikum dan mengikuti kegiatan kepanitiaan. Penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Dasar Perlindungan Tanaman, Dasar Budidaya Tanaman dan Teknologi Produksi Tanaman. Sedangkan kegiatan kepanitiaan yang pernah diikuti penulis antara lain sebagai Koordinator Divisi Konsumsi dalam acara Pasca Rantai VI 2015, Staf Divisi Konsumsi dalam acara Hindu's Brahmacharya Competition, Koordinator Divisi Konsumsi dalam acara Bulan Ulang Tahun Unika Hidha 2016 dan Panitia Divisi SPV dalam acara Pengenalan Kehidupan Kampus Mahasiswa Universitas Brawijaya dan acara Open House Lembaga Kedaulatan Mahasiswa

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Lidah Buaya	4
2.2 Penyakit Busuk Lunak Lidah Buaya	6
2.3 Bakteri Endofit	8
2.4 Mekanisme Bakteri Endofit Masuk ke dalam Tanaman	9
III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Metode Penelitian	10
3.4 Pelaksanaan Penelitian	10
3.5 Variabel Pengamatan	19
3.6 Analisis Data	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Deskripsi Penyakit Busuk Lunak Lidah Buaya	20
4.2 Bakteri Patogen Tanaman Lidah Buaya	21
4.3 Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit yang Menghasilkan Zona P penghambatan Terhadap Patogen <i>Erwinia</i> sp.	27
4.4 Uji Hipersensitif Bakteri Endofit pada Tanaman Tembakau	28
4.5 Uji Antagonis Bakteri Endofit Terhadap <i>Erwinia</i> sp.	29
4.6 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis	31
4.7 Pembahasan	35
V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan Bakteri Endofit dan Streptomisin dalam Menghambat Patogen <i>Erwinia sp.</i>	15
2.	Karakteristik Fisiologi dan Biokimia Bakteri dari Tanaman Bergejala Busuk Lunak	25
3.	Rerata Zona Penghambatan Bakteri Endofit dengan Patogen <i>Erwinia sp.</i> ..	29
4.	Karakteristik Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Bakteri Antagonis	32

Nomor	Lampiran Teks	Halaman
1.	Analisis Ragam Zona Penghambatan Enam Isolat Bakteri Antagonis Terhadap Patogen <i>Erwinia sp.</i>	47
2.	Seleksi 86 Isolat Bakteri Endofit yang Menghasilkan Zona Penghambatan Terhadap <i>Erwinia sp.</i>	48
3.	Uji Hipersensitif 53 Isolat Bakteri Endofit yang Menghasilkan Zona Penghambatan Terhadap <i>Erwinia sp.</i> pada Tanaman Tembakau	49
4.	Hasil Seleksi 39 Isolat Bakteri Endofit dalam Menghambat <i>Erwinia sp.</i> ..	50

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tanaman Lidah Buaya Bergejala Busuk Lunak akibat Patogen <i>Erwinia chrysanthemi</i>	7
2.	Identifikasi Bakteri hingga Tingkat Genus	18
3.	Tanaman Lidah Buaya dengan Gejala Penyakit Busuk Lunak	20
4.	Beberapa Isolat Bakteri Berumur 48 Jam pada Media NA Hasil Isolasi dari Tanaman Lidah Buaya Bergejala Busuk Lunak	21
5.	Gejala yang Timbul pada Uji Patogenesitas Tanaman Lidah Buaya setelah 7 HSI	22
6.	Gejala yang Timbul pada Uji Busuk Lunak Umbi Kentang setelah 7 HSI	23
7.	Gejala yang Timbul pada Uji Hipersensitif Tanaman Tembakau dari Isolat Bakteri Tanaman Lidah Buaya Bergejala Busuk Lunak	24
8.	Beberapa Isolat Bakteri Berumur 48 Jam pada Media NA Hasil Isolasi dari Tanaman Lidah Buaya Sehat	27
9.	Gejala yang Timbul pada Uji Hipersensitif Tanaman Tembakau dari Isolat Bakteri Endofit Tanaman Lidah Buaya	28
10.	Hasil Uji Antagonis Bakteri Endofit dengan Patogen <i>Erwinia</i> Sp. Berumur 24 Jam	30
11.	Hasil Karakterisasi Morfologi Bakteri Antagonis	32
12.	Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri Antagonis Isolat A5.2A	33
13.	Hasil Uji Pertumbuhan Oksidatif Fermentatif Bakteri Antagonis Isolat A5.2A	34
14.	Hasil Uji Pertumbuhan Bakteri Antagonis pada Media YDC	34
Lampiran		
Nomor	Teks	Halaman
1.	Denah Rancangan Acak Lengkap	45
2.	Dokumentasi Hasil Perbanyakan	46
3.	Identifikasi Isolat Bakteri Patogen dari Tanaman Lidah Buaya Bergejala Busuk Lunak	51
4.	Karakteristik Morfologi Bakteri Antagonis	52
5.	Hasil Uji KOH Bakteri Antagonis	53
6.	Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Antagonis	54
7.	Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif Bakteri Antagonis	55
8.	Hasil Uji Media YDC Bakteri Antagonis	56

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman lidah buaya merupakan tanaman yang cukup dikenal karena mudah ditanam dan mudah ditemui baik di dataran rendah maupun dataran tinggi. Lidah buaya (*Aloe vera*) berasal dari Afrika dan masuk ke Indonesia sekitar abad ke-17 yang dapat berperan dalam pertumbuhan ekonomi nasional untuk memberi kesejahteraan dalam lapangan pekerjaan yang luas bagi masyarakat (Santoso, 2003; Soekartawi, 2005). Selain itu, usaha industri rumah tangga lidah buaya kini mulai berkembang diantaranya digunakan sebagai bahan obat-obatan, makanan, minuman maupun produk kosmetika. Menurut Data Statistika Biofarmaka, pada tahun 2015 luas lahan lidah buaya terbesar yaitu di Kalimantan Barat dengan hasil panen sebanyak 10.095.525 kg. Lidah buaya memiliki kandungan senyawa saponin, antrakuinon dan kuinon yang berperan dalam membunuh kuman maupun sebagai antibiotik dan pereda rasa sakit (Sudarto, 1997). Adanya manfaat dan peluang yang tinggi dari lidah buaya untuk diolah menjadi berbagai macam produk menyebabkan diperlukan peningkatan dalam hasil tanaman lidah buaya.

Dalam pertanaman lidah buaya juga sering ditemui kendala yang menghambat pertumbuhan tanaman, salah satunya adanya serangan penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi*. Laporan pertama kali adanya serangan penyakit ini yaitu pada tahun 1992 di Kepulauan Karibia yang ditandai dengan jaringan tanaman yang membusuk dan berair (De Laat *et al.*, 1994). Penyakit busuk lunak dapat menyebabkan kerusakan baik dari batang hingga ke bagian daun tanaman. Apabila tanaman sudah mulai terserang penyakit tersebut, maka kandungan dan manfaat dalam lidah buaya akan terkontaminasi hingga tanaman tidak dapat dimanfaatkan kembali dan serangan yang semakin parah dapat menyebabkan kematian tanaman. Menurut Taryono dan Rosman (2003), serangan penyakit ini menyebabkan kehilangan hasil yang serius pada tanaman.

Setiap tanaman memiliki ketahanan masing-masing terhadap serangan penyakit, termasuk dalam tanaman lidah buaya. Didalam tanaman terdapat mikroorganisme bakteri yang ikut berperan dalam menghambat patogen tanpa menyebabkan sakit pada tanaman yang disebut bakteri endofit. Menurut Tan dan Zou (2001), endofit merupakan mikroorganisme jenis bakteri (termasuk

actinomycetes) atau jamur yang dapat hidup di seluruh bagian tanaman baik diluar maupun didalam sel jaringan sehat. Bakteri endofit sendiri juga memiliki nilai penting dalam membantu menjaga kesehatan tanaman, antara lain berperan sebagai antagonis dalam menghambat patogen, menginduksi ketahanan sistemik dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan lingkungan (Hallman, 1997). Karena memiliki manfaat yang baik bagi tanaman, bakteri endofit dapat digunakan sebagai pengendali hayati dalam mengendalikan penyakit tanaman.

Dari hasil penelitian yang sudah pernah dilakukan oleh Puspawati (2011) bahwa bakteri endofit yang berhasil ditemukan dan diidentifikasi pada jaringan daun lidah buaya yaitu golongan Actinomycetes. Hingga saat ini informasi mengenai bakteri endofit pada tanaman lidah buaya masih terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai bakteri endofit khususnya pada bagian batang dan akar tanaman lidah buaya yang berperan dalam menghambat patogen tanaman

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana potensi bakteri endofit tanaman lidah buaya dalam menghambat patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak?
2. Bagaimana karakteristik bakteri endofit yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dalam penelitian ini, antara lain:

1. Mengkaji keefektifan bakteri endofit tanaman lidah buaya dalam menghambat patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak
2. Mengetahui karakteristik bakteri endofit yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan penelitian ini, antara lain:

1. Bakteri endofit tanaman lidah buaya berpotensi dalam menghambat patogen *Erwinia* sp.
2. Bakteri endofit yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. memiliki karakter yang bervariasi

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi:

1. Bagi pemerintah, yaitu dapat memberikan informasi mengenai bakteri endofit yang berperan dalam penghambatan patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak lidah buaya
2. Bagi masyarakat, yaitu untuk memberikan peluang masyarakat dalam berkreasi dari bahan dasar lidah buaya baik sebagai bahan makanan, kosmetik maupun obat alami tanpa hambatan adanya penyakit busuk lunak
3. Bagi mahasiswa, yaitu untuk melatih dan mempraktikkan secara langsung dalam meneliti bakteri lidah buaya dan memperluas ilmu mengenai bakteri endofit pada tanaman lidah buaya

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Lidah Buaya

Tanaman lidah buaya diduga berasal dari Afrika, terutama Mediterania, kemudian menyebar ke Arab, India, Eropa, Asia Timur dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Di Indonesia, tanaman lidah buaya dibawa oleh petani keturunan Cina yang kemudian dibudidayakan karena diyakini memiliki khasiat untuk mengatasi panas dalam. Tanaman lidah buaya merupakan jenis tanaman CAM (*Crassulacee Acid Metabolism*) yang tahan terhadap kekeringan. Pada malam hari, stomata atau mulut daun akan membuka sehingga uap air dapat masuk (Furnawanthi, 2003).

2.1.1 Klasifikasi Lidah Buaya

Klasifikasi tanaman lidah buaya menurut Sudarto (1997), yaitu tergolong dalam divisi Spermatophyta, sub divisi Angiospermae, kelas Monocotyledoneae, bangsa Liliflorae, suku Liliaceae, genus Aloe dan spesies *Aloe vera*. Menurut Hendrawati (2015), jenis yang dikembangkan di Asia termasuk Indonesia adalah *Aloe chinensis* yang berasal dari China.

2.1.2 Budidaya Tanaman Lidah Buaya

Secara umum tahapan budidaya pada tanaman lidah buaya sebagai berikut:

1. Pembibitan

Tanaman lidah buaya diperbanyak secara vegetatif dengan cara memindahkan anakan dari induknya yang telah berumur diatas dua tahun. Anakan akan tumbuh pada bagian batang tanaman lidah buaya. Anakan yang digunakan sebagai bibit diusahakan memiliki 1 – 2 daun dengan panjang 3 – 5 cm (Taryono dan Rosman, 2003). Langkah pembibitan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu ditanam pada bedengan ataupun dipolybag dengan lama pembibitan sekitar 3 – 5 bulan.

2. Penanaman

Penanaman lidah buaya dapat dilakukan pada pagi atau sore hari diawal musim hujan ataupun akhir musim kemarau. Bibit lidah buaya ditanam pada lubang tanam yang telah diberi pupuk kandang sekitar 1,5 kg per lubang tanam. Setelah 1-2 MST (minggu setelah tanam) dilakukan penyulaman di lahan dengan cara

mengganti tanaman yang mati atau pertumbuhannya kurang baik dengan tanaman baru.

3. Perawatan

Perawatan yang dilakukan dapat berupa penyiangan gulma dan membersihkan bagian tanaman yang terserang hama dan penyakit. Daun bagian bawah yang telah berwarna kekuningan dan terserang penyakit perlu dibersihkan sehingga tidak dapat menularkan pada tanaman lainnya. Selain itu daun juga dijaga agar tidak tertimbuh tanah yang akan menyebabkan kebusukan

4. Panen

Menurut Hatta *et.al* (2001), tanaman lidah buaya sudah dapat dipanen pada umur 12 – 18 bulan setelah tanam. Daun hasil panen kemudian dilap dengan kain bersih untuk selanjutnya dibungkus dengan kertas koran dan dimasukkan kedalam keranjang. Penanganan pascapanen diperlukan agar daun tidak terluka atau patah karena dapat menurunkan kelas mutunya

2.1.3 Syarat Tumbuh Tanaman Lidah Buaya

1. Iklim

Tanaman lidah buaya dapat tumbuh pada daerah basah maupun daerah kering. Hal ini disebabkan pada musim kemarau bagian stomata daun lidah buaya dapat tertutup rapat untuk menghindari hilangnya air daun sehingga tanaman tahan terhadap kekeringan (Furnawanthi, 2002). Kondisi suhu optimum yang diperlukan lidah buaya berkisar antara 16-33 °C dengan curah hujan rata-rata 3.500 mm/tahun (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian 2008)

2. Ketinggian tempat

Lidah buaya dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi yang memiliki daya adaptasi yang tinggi. Namun kebanyakan tanaman lidah buaya ditanam pada ketinggian kurang dari 1.000 m dari atas permukaan laut (Padua, *et al.* 1999)

3. Tanah

Menurut Taryono dan Rosman (2003), tanaman lidah buaya dapat tumbuh dengan baik pada jenis tanah yang memiliki drainase baik, kandungan bahan organik yang tinggi dan pH 5,5 - 6,0. Kesuburan tanah pada lapisan olah sedalam

30 cm diperlukan karena tanaman lidah buaya memiliki sistem perakaran yang dangkal (Furnawanthi, 2002).

2.1.4 Manfaat Lidah Buaya

Lidah buaya memiliki berbagai macam kandungan yang menyebabkan tanaman ini banyak diproduksi dalam bidang farmasi, kosmetika dan makanan. Menurut Pusat Pengembangan Herba Medika UI (2003), lidah buaya memiliki cairan kuning yang mengandung aloin yang merupakan senyawa antrakuinon yang dapat digunakan sebagai obat pencuci perut, obat batuk, obat asma dan gangguan pencernaan. Selain itu lidah buaya juga dapat digunakan untuk permasalahan kulit berupa penyembuhan luka bakar dan mengurangi nyeri dari gigitan serangga. Menurut Eshun and He (2004), Gel lidah buaya mengandung aloin kristal sebanyak 30% yang dapat merangsang pertumbuhan rambut dan menjaga kelembaban kulit. Selain itu gel lidah buaya mengandung beragam antibiotik dan anti cendawan yang berpotensi untuk menghambat mikroorganisme penyebab penyakit (Chowa, 2005). Saat ini produk berbahan dasar lidah buaya yang umumnya sudah dikembangkan sebagai bahan kosmetika dapat berupa produk shampoo, sabun, ataupun lotion (Marwati dan Hermani, 2006).

Selain itu lidah buaya juga memiliki berbagai macam kandungan, diantaranya mengandung asam amino, lemak, vitamin (A, B1, B2, B12, C dan E), mineral (kalsium, magnesium) dan enzim (sellulase, amylase, katalase) dan lain-lain. Menurut Changa (2006), lidah buaya memiliki kandungan yang berfungsi sebagai antibiotik, antiseptik, antibakteri, antivirus, antijamur, anti infeksi, anti peradangan dan anti pembengkakan. Dengan banyaknya kandungan yang ada pada tanaman lidah buaya menjadikan tanaman tersebut memiliki peluang yang baik untuk dikembangkan.

2.2 Penyakit Busuk Lunak Lidah Buaya

Penyakit busuk lunak pada tanaman lidah buaya disebabkan oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi* biovar 3 (Sinonim *Pectobacterium chrysanthemi*) (Mandal dan Maiti 2005; Charkowski, 2006). Namun analisis terbaru bahwa patogen *Pectobacterium chrysanthemi* dapat digolongkan kedalam kelompok dan genus baru dengan nama yang diusulkan yaitu *Dickeya* (sesuai nama peneliti, microbiologist Robert S. Dickey). Menurut Samson *et al.* (2005), *Dickeya* dibagi

ke dalam 7 spesies berdasarkan klasifikasi dan patovarnya yaitu *D. dianthicola*, *D. Dadantii*, *D. Zeae*, *D. chrysanthemi* *bv. Chrysanthemi*, *D. chrysanthemi* *bv. Parthenii*, *D. Paradisiaca*, dan *D. Dieffenbachiae*. Penyakit busuk lunak tanaman lidah buaya yang disebabkan oleh *Erwinia chrysanthemi* biovar 3 masuk kedalam golongan *Dickeya dadantii* (De Laat *et al.*, 1994; Mandal dan Maiti, 2005). Bakteri tersebut dapat menyebabkan lunak pada jaringan tanaman karena memiliki kemampuan untuk mendegradasi pektat (Pemberton, 2004). Penyebaran penyakit ini diduga melalui percikan air dan tanah.



Gambar 1. Tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak akibat patogen *Erwinia chrysanthemi* (Supriadi dkk, 2002)

Penyakit busuk lunak menyerang tanaman pada bagian daun hingga menjalar ke bagian batang tanaman (Gambar 1). Menurut Kawuri (2010), gejala kerusakan tanaman tergantung pada spesies bakteri yang menginfeksi tanaman. Selain itu, jumlah bakteri yang menyerang pada tanaman dapat mempengaruhi tingkat kerusakan tanaman. Beberapa faktor yang dapat meningkatkan perkembangan penyakit antara lain suhu, tingkat kerentanan tanaman, irigasi yang berlebihan, drainase yang buruk dan kurangnya kebersihan lahan. Mekanisme bakteri patogen masuk dan menyebabkan penyakit tanaman menurut Purnomo (2006), sebagai berikut:

1. Inokulasi, merupakan kontak pertama kali patogen dengan tanaman inang
2. Penetrasi, merupakan proses masuknya patogen kedalam jaringan tanaman inang melalui lubang-lubang alami, luka tanaman, ataupun perantara (vektor)

3. Infeksi, merupakan proses patogen mulai memanfaatkan nutrisi pada jaringan tanaman
4. Invasi, merupakan tahapan pertumbuhan patogen ke sel-sel jaringan sekitar sehingga tanaman mulai mengalami gejala kerusakan
5. Penyebaran, dimana bakteri patogen mulai menyebar dan berpindah dari sumbernya ke tempat lain (inang baru)

2.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang tumbuh dan berkembang pada jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan tanaman (Hallmann, 2001). Menurut Rosenblueth and Martinez- Romero (2006), bakteri endofit memiliki potensi baik dalam bidang pertanian yang dapat digunakan sebagai penghasil hormon pemacu pertumbuhan tanaman, biofertilizer, biokontrol, pelarut fosfat dan mampu menambat nitrogen bebas di udara sehingga dapat diserap oleh tanaman. Menurut Strobel *et al.* (2003), tanaman memiliki satu atau lebih jenis bakteri endofit yang berperan sebagai antibakteri. Bakteri endofit memiliki kemampuan dalam menghambat patogen melalui penyediaan senyawa sekunder dan mampu memacu pertumbuhan tanaman sehingga dapat tumbuh dengan optimal. Bakteri endofit melakukan penetrasi ke dalam jaringan tanaman dan berkolonisasi sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi (Pal *et al.* 2012).

Bakteri endofit memiliki berbagai macam senyawa aktif, seperti antimikroba, antibiotik, anti kanker dan antioksidan (Strobel dan Daisy, 2003; GUO *et al.*, 2008). Ketersediaan hara maupun produksi hormon diperlukan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hormon-hormon yang dapat menunjang pertumbuhan seperti auksin, sitokinin dan giberelin (Ergun *et al.*, 2002; Kharwar, 2008). Dalam menyediakan hara, bakteri endofit mampu memfiksasi nitrogen dan mampu melarutkan fosfat (Lugtenberg and Kamilova, 2009), menyediakan unsur Fe melalui siderophor dan menghasilkan fitohormon seperti giberelin dan sitokinin (Miller dan Berg, 2009). Menurut Hurek (1998), tanaman akan bersimbiosis dengan bakteri baik secara langsung dengan mengikat hara dari udara ataupun secara tidak langsung yaitu setelah bakteri mati akan terjadi proses mineralisasi dari bakteri sehingga hara akan menjadi tersedia bagi tanaman. Jumlah bakteri endofit yang ada

didalam tanaman ditentukan oleh beberapa faktor seperti umur tanaman, tempat tumbuh tanaman , jenis tanaman dan teknik isolasi (Hallmann *et al.*, 1997).

2.4 Mekanisme Bakteri Endofit Masuk ke dalam Tanaman

Mekanisme bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman, yaitu mula-mula bakteri melakukan pencarian inang dengan bergerak mendekati bagian perakaran tanaman. Menurut Agarwal dan Shende (1987), kontak pertama antara bakteri dengan tanaman terjadi diluar sel dan umumnya masuk pertama kali melalui perakaran dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektiase atau masuk pada bagian atas tanaman seperti pada batang, bunga ataupun bagian tanaman lainnya (Kobayashi dan Palumbo, 2000). Diduga bakteri mampu masuk kedalam jaringan tanaman melalui luka dan pori-pori sebagai tahap awal perkembangan tanaman. Quadt-Hallmann *et al.*, (1997), menyatakan bahwa terdapat beberapa cara bakteri masuk kedalam jaringan tanaman, yaitu melalui stomata, lentisel, luka alami, titik tumbuh akar lateral, serangan pada dinding sel maupun melalui penyerapan unsur hara. Bakteri yang telah memasuki jaringan tanaman akan berkoloni menyebar keseluruh bagian tanaman. Menurut Hallman *et al.*, (2001), peningkatan populasi bakteri endofit umumnya tergantung pada ketersediaan nutrisi dalam jaringan tanaman yang bermanfaat bagi perkembangan bakteri endofit seperti ketersediaan senyawa asam amino, glukosa dan sukrosa.

Didalam jaringan tanaman, bakteri endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman tanpa menyebabkan kerusakan. Sedangkan tanaman mendapat keuntungan aktifitas bakteri endofit dalam memproteksi tanaman melawan patogen dan penyediaan hara (Tanaka *et al.*, 1999). Menurut Long *et al.*, (2008), bakteri endofit membantu penyerapan nutrisi dengan cara pelarutan fosfat, mengikat besi (iron chelation) ataupun fiksasi nitrogen. Interaksi antara tanaman dengan bakteri endofit dapat bersifat netralisme yang tidak memiliki efek negatif pada tanaman inang, mutualisme yang menguntungkan tanaman inang dan bakteri endofit, atau komensalisme yang hanya menguntungkan tanaman inang atau bakteri endofit (Bacon dan Hinton, 2007)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2018 – April 2019

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain, timbangan analitik, mortal dan pistil, panci, kompor listrik, autoklaf *type* HL – 36Ae Hirayama, cawan petri diameter 9 cm, jarum ose, stik L, tabung reaksi, bunsen, botol media, pinset, gelas ukur, jarum suntik, gunting, gelas obyek, *cover glass*, mikroskop kamera OLYMPUS SZX7 *series*, kamera, mikropipet, dan *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) *type*: H.S. 079S

Bahan yang digunakan adalah tanaman lidah buaya, media Nutrient Agar (NA), aquadest steril, media Oksidatif-Fermentatif (OF), spirtus, minyak parafin, alkohol 70%, alkohol 96%, media *yeast extract dextrose carbonat* (YDC), media basal (anaerob) KOH 3%, *tissue* steril, kertas saring, kristal violet, iodine, safranin, tanaman tembakau, umbi kentang, dan media nutrient broth (NB).

3.3 Metode Penelitian

Terdapat beberapa tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini, yaitu isolasi bakteri patogen dari tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak, uji patogenesitas, uji busuk lunak pada umbi kentang, uji hipersensitif pada tanaman tembakau dan identifikasi. Sedangkan isolasi bakteri endofit tanaman lidah buaya dilakukan pada bagian akar dan batang tanaman lidah buaya sehat, uji antagonis dalam cawan petri (*in vitro*) terhadap isolat bakteri *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak, uji hipersensitif pada tanaman tembakau, serta karakterisasi dan identifikasi sampai tingkat genus bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap isolat bakteri *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Isolasi Bakteri Patogen

Sampel tanaman bergejala busuk lunak diambil dari lahan pertanaman lidah buaya di Desa Lebo Madiredo, Kecamatan Pujon Malang.

1) Isolasi bakteri dari tanaman sakit

Dalam mendapatkan bakteri penyebab penyakit busuk lunak, dilakukan pengambilan sampel tanaman sakit yang memiliki gejala kerusakan berupa daun yang menjadi busuk berair dan menimbulkan bau yang tidak sedap (Kardinan dan Ruhnayat, 2003). Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran yang ditumbuhkan pada media Nutrient Agar (NA). Dalam jurnal Leo Y dkk (2014), bahwa pengenceran dilakukan dengan menghaluskan sampel tanaman yang akan diisolasi, kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan aquades yang dilakukan hingga tabung pengenceran mencapai 10⁻⁷. Isolat bakteri yang muncul dari hasil pengenceran ditumbuhkan pada media NA baru dengan metode cawan gores (streak method) sehingga didapatkan koloni tunggalnya

2) Uji patogenesis pada tanaman lidah buaya

Dalam menentukan bakteri yang bersifat patogenik, perlu dilakukan pengujian patogenesis pada tanaman inang. Uji patogenesis dilakukan menurut Supriadi (2002), yaitu dengan cara meneteskan suspensi bakteri pada daun lidah buaya kemudian jaringan daun dilukai dengan jarum. Pengamatan gejala penyakit ini diamati setiap hari selama 7 hari untuk mendapatkan gejala kerusakan yang sama dengan serangan penyakit busuk lunak.

3) Uji busuk lunak pada umbi kentang

Uji busuk lunak dilakukan pada umbi kentang sehat yang diinfiltrasi dengan suspensi bakteri *Erwinia* sp. Metode uji busuk lunak yang digunakan menurut Haque *et al* (2009), dengan cara permukaan umbi kentang disterilisasi menggunakan aquades steril dan alkohol 70% kemudian dikering anginkan. Kentang dilubangi dengan menggunakan ujung mikropipet tip steril, kemudian diinokulasikan suspensi bakteri sebanyak 50 µl. Selain itu juga dilakukan perlakuan kontrol menggunakan aquades steril. Umbi kentang diinkubasi ditempat lembab dan ditutup menggunakan plastik wrap selama 7 hari

4) Uji hipersensitif pada tanaman tembakau

Uji hipersensitif merupakan suatu pengujian yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sifat patogenik bakteri yang diujikan. Pengujian dilakukan dengan cara mencampurkan biakan murni bakteri patogen berumur 24 jam pada aquades steril dan menyuntikan suspensi bakteri tersebut ke bagian daun tanaman

tembakau. Kemudian dilakukan pengamatan selama 7 hari untuk melihat kenampakan gejala nekrosis dan layu pada tanaman tembakau. Kerusakan yang cepat sebagai akibat suspensi bakteri merupakan suatu reaksi hipersensitif yang dimunculkan oleh tanaman (Garcion, 2007)

Selain itu, pengujian yang dilakukan untuk memastikan patogen yang digunakan yaitu *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak, maka dilakukan karakterisasi dan identifikasi berdasarkan Schaad *et al.*, (2001)

1) Uji Gram

a. Uji Gram dengan KOH 3%

Bakteri yang telah berumur 24 jam disuspensikan dengan menggunakan gelas obyek yang telah ditetesi KOH 3%. Dari suspensi tersebut dilakukan pengecekan dengan cara menarik suspensi menggunakan jarum ose. Apabila saat penarikan tidak membentuk benang, maka mendapatkan hasil yang tergolong Gram positif. Apabila saat penarikan membentuk benang, berlendir dan tampak lengket maka tergolong reaksi negatif

b. Uji Gram dengan Pengecatan Gram

Bakteri yang telah berumur 24 jam dibuat suspensi dengan menggunakan gelas obyek yang di atasnya berisi aquades steril dan dipanaskan di atas bunsen hingga mengering. Kemudian dilakukan pengecatan dengan menggunakan kristal violet sebanyak 2-3 tetes selama 20 detik, lalu dicuci dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan kembali di atas bunsen. Langkah selanjutnya tetesi dengan menggunakan larutan iodine selama 1 menit dan kemudian dicuci dengan air mengalir serta dikeringkan di atas bunsen. Pengecatan selanjutnya menggunakan safranin selama 20 detik dan dicuci dengan menggunakan air. Langkah terakhir amati dibawah mikroskop, apabila menunjukkan warna ungu atau biru maka bakteri gram positif sedangkan apabila menunjukkan warna merah maka tergolong kedalam bakteri gram negative

2) Uji Katalase

Pada uji katalase dilakukan dengan menggunakan biakan bakteri endofit berumur 24-48 jam yang koloninya diambil satu lup dengan menggunakan jarum ose. Letakkan koloni tersebut di atas preparat lalu ditetesi dengan H₂O₂ 3%. Reaksi positif akan ditandai dengan munculnya gelembung udara. Gelembung udara ini

terbentuk apabila bakteri tersebut memiliki enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen.

3) Uji Oksidatif – Fermentatif

Identifikasi dengan pengujian Oksidatif-Fermentatif dilakukan dengan menggunakan 2 tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 5 ml media selektif (media OF). Media yang digunakan terdiri atas NaCl 5 g, KH_2PO_4 0.3 g, pepton 2 g, agar 3 g dan Brometilenblue (1%) 3 ml. Bahan tersebut dilarutkan kedalam aquades dengan pH 7,1 yang disterilkan pada suhu $121^\circ C$ selama 25 menit. Setelah disterilisasi, setiap tabung ditambahkan dengan 0,5 ml larutan glukosa 10%. Selanjutnya isolate bakteri berumur 24 jam dimasukkan kedalam media pada kedua tabung dengan salah satu tabung ditutup dengan menggunakan minyak parafin cair steril sebanyak 2 ml dan tabung lainnya tetap dibiarkan terbuka. Kedua tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 7 – 14 hari. Hasil dari inkubasi tersebut akan menghasilkan sifat fermentatif apabila kedua tabung terjadi perubahan warna menjadi kuning. Hal ini bakteri dapat tumbuh secara anaerob (fermentasi). Sedangkan akan memunculkan reaksi oksidatif apabila pada media yang ditutup parafin cair steril tidak mengalami perubahan warna dan pada media yang tidak ditutup parafin akan mengalami perubahan warna menjadi kuning.

4) Pertumbuhan pada Media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC)

Apabila bakteri pada pertumbuhan anaerob menghasilkan gram positif maka akan dilakukan pengujian pertumbuhan pada media YDC. Komposisi media YDC yaitu terdiri dari yeast ekstrak 10 g, glukosa 20 g, $CaCO_3$ 20 g dan agar 15 g. Bahan-bahan tersebut dicampur dan dilarutkan dengan menggunakan aquades 1 liter dan dididihkan. Media tersebut disterilkan pada suhu $121^\circ C$ dalam waktu 30 menit. Kemudian lakukan penggoresan bakteri yang diujikan pada media YDC dan diinkubasi pada suhu $30^\circ C$. Selanjutnya melakukan pengamatan setelah 48 jam, apabila muncul koloni berwarna kuning maka tergolong reaksi positif yang masuk kedalam genus *Pantoea*. Sedangkan apabila koloni bakteri tidak berwarna kuning maka tergolong dalam genus *Erwinia*

3.4.2 Isolasi Bakteri Endofit

Pengambilan bakteri endofit tanaman lidah buaya dilakukan dengan melakukan isolasi dari bagian tanaman lidah buaya sehat. Sampel tanaman lidah

buaya sehat diambil dari lahan pertanaman lidah buaya di Desa Lebo Madiredo, Kecamatan Pujon Malang. Isolasi bakteri endofit dilakukan pada bagian batang dan akar lidah buaya. Akar tanaman lidah buaya yang diisolasi yaitu pada bagian ujung akar yang masih terus berkembang dan pada bagian batang lidah buaya yang diisolasi yaitu pada bagian ujung dekat dengan perakaran. Isolasi bagian tanaman sehat dilakukan dengan cara pengenceran menggunakan 10 ml aquades hingga tabung pengenceran 10^{-7} dan setiap pengencerannya ditumbuhkan pada media Nutrien Agar (NA) (Hadioetomo, 1993). Sebelum dilakukan pengenceran, bagian tanaman yang akan diisolasi di haluskan terlebih dahulu dengan menggunakan mortal dan pistil untuk memudahkan dalam pengenceran. Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-7} . Dari tiap tabung, sebanyak 100 μ L disebar diatas permukaan media NA dan diinkubasi selama 24 – 48 jam (Darmayasa, 2008)

Bakteri yang tumbuh pada media Nutrien Agar (NA) disetiap pengencerannya diambil dan ditanam pada media Nutrient Agar (NA) baru dengan metode streak atau teknik penggoresan untuk menghasilkan bakteri koloni tunggal. Metode streak yang dilakukan adalah dengan menggunakan 3 kuadran untuk memudahkan dalam pengamatan pertumbuhan bakterinya.

3.4.3 Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap Patogen *Erwinia* sp.

Bakteri endofit yang telah berhasil diisolasi kemudian dilakukan pengujian antagonis terhadap patogen penyakit busuk lunak *Erwinia* sp. Uji antagonis dilakukan dengan metode spray (pengkabutan) menurut Kawaguchi *et al.*, (2008), dimana bakteri yang telah dibiakkan selama 48 jam diambil dengan menggunakan jarum ose untuk dibuat suspensi dengan tambahan aquades steril. Selanjutnya menyiapkan kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan kedalam suspensi bakteri endofit selama ± 1 menit dan ditiriskan selama 2 jam. Kertas saring yang telah kering ditanam dimedia pada cawan petri berukuran 9 cm dan diinkubasi selama 1 hari. Kemudian menambahkan khloroform pada tutup biakan cawan petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam dan selanjutnya biakan dikabutkan dengan suspensi bakteri patogen. Seluruh perlakuan diinkubasi selama 3 hari dan dilakukan pengukuran dengan menggunakan penggaris untuk diameter zona hambat yang terbentuk.

Penelitian diatur dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan (Tabel 1). Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali, sehingga didapatkan 28 satuan percobaan (Gambar Lampiran 1).

Tabel 1. Perlakuan bakteri endofit dan Streptomisin dalam menghambat patogen *Erwinia* sp.

Kode Perlakuan	Perlakuan
Kode A	Isolat bakteri endofit lidah buaya bagian batang (B1.5A) dengan <i>Erwinia</i> sp.
Kode B	Isolat bakteri endofit lidah buaya bagian batang (B3.3B) dengan <i>Erwinia</i> sp.
Kode C	Isolat bakteri endofit lidah buaya bagian batang (B3.3C) dengan <i>Erwinia</i> sp.
Kode D	Isolat bakteri endofit lidah buaya bagian akar (A1.1B) dengan <i>Erwinia</i> sp.
Kode E	Isolat bakteri endofit lidah buaya bagian akar (A1.4B) dengan <i>Erwinia</i> sp.
Kode F	Isolat bakteri endofit lidah buaya bagian akar (A5.2A) dengan <i>Erwinia</i> sp.
Kontrol Positif	Bakterisida Streptomisin dan <i>Erwinia</i> sp.

3.4.4 Uji Hipersensitif Bakteri Endofit pada Tanaman Tembakau

Bakteri yang akan diuji hipersensitif yaitu bakteri endofit yang dapat menghambat pertumbuhan patogen penyebab penyakit busuk lunak. Uji ini dilakukan untuk memastikan bakteri yang menghambat patogen *Erwinia* sp. tidak bersifat patogenik. Biakan bakteri endofit disuspensikan dengan menggunakan aquadest steril dan diinfiltrasi sebanyak 1 ml ke bagian daun tembakau. Kenampakan sebagai akibat suspensi bakteri tersebut, yaitu apabila bakteri bersifat patogen maka akan menunjukkan gejala nekrosis yang disertai layu pada bagian tanaman yang telah diinfiltrasi suspensi bakteri. Pengamatan dilakukan selama 24 jam hingga 96 jam.

3.4.5 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis sampai Tingkat Genus

Bakteri yang diidentifikasi yaitu bakteri endofit yang tidak menyebabkan kerusakan pada tanaman tembakau dan dapat menghambat patogen *Erwinia* sp.

penyebab busuk lunak lidah buaya. Karakterisasi bakteri endofit secara morfologi yang diamati yaitu bentuk, tepi, elevasi dan warna koloni. Karakterisasi dan identifikasi yang digunakan yaitu berdasarkan Schaad *et al.* (2001), meliputi uji Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram, uji Oksidatif-Fermentatif, dan uji pertumbuhan pada media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (Gambar 2).

1) Uji Gram

a. Uji Gram dengan KOH 3%

Bakteri yang telah berumur 24 jam disuspensikan pada kaca preparat yang telah ditetesi KOH 3%. Dari suspensi tersebut dilakukan dengan cara menarik-narik suspensi menggunakan jarum ose. Apabila saat penarikan tidak membentuk benang, maka mendapatkan hasil yang tergolong gram positif. Apabila saat penarikan membentuk benang, berlendir dan tampak lengket maka tergolong reaksi negatif

b. Uji Gram dengan Pengecatan Warna

Bakteri yang telah berumur 24 jam dibuat suspensi dengan menggunakan gelas obyek yang di atasnya berisi aquades steril dan dipanaskan di atas bunsen hingga mengering. Kemudian dilakukan pengecatan dengan menggunakan kristal violet sebanyak 2-3 tetes selama 20 detik, lalu dicuci dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan kembali di atas bunsen. Langkah selanjutnya tetesi dengan menggunakan larutan iodin selama 1 menit dan kemudian dicuci dengan air mengalir serta dikeringkan di atas bunsen. Pengecatan selanjutnya menggunakan safranin selama 20 detik dan dicuci dengan menggunakan air. Langkah terakhir amati dibawah mikroskop, apabila menunjukkan warna ungu atau biru maka bakteri gram positif sedangkan apabila menunjukkan warna merah maka tergolong kedalam bakteri gram negative

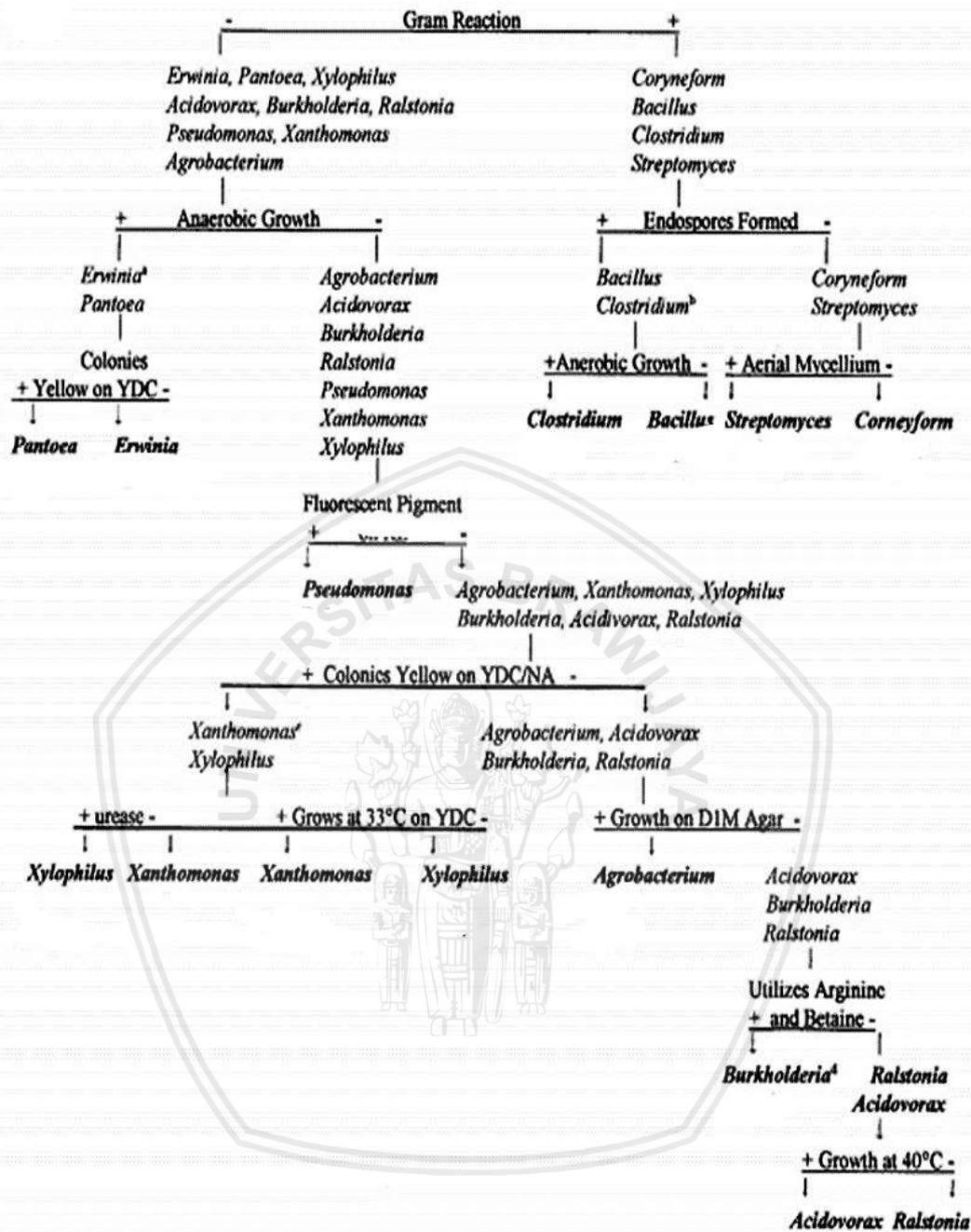
2) Uji Oksidatif - Fermentatif

Identifikasi uji Oksidatif-Fermentatif dilakukan dengan menggunakan 2 tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 5 ml media selektif (media OF). Media terdiri atas NaCl 5 g, KH_2PO_4 0.3 g, pepton 2 g, agar 3 g dan Brometilenblue (1%) 3 ml. Bahan tersebut dilarutkan kedalam aquades dengan pH 7,1 yang

disterilkan pada suhu 121°C selama 25 menit. Setelah disterilisasi, setiap tabung ditambahkan dengan 0,5 ml larutan glukosa 10%. Selanjutnya isolat bakteri berumur 24 jam dimasukkan kedalam media pada kedua tabung dengan salah satu tabung ditutup dengan menggunakan minyak parafin cair steril sebanyak 2 ml dan tabung lainnya tetap dibiarkan terbuka. Kedua tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 7 – 14 hari. Hasil dari inkubasi tersebut akan menghasilkan sifat fermentatif apabila kedua tabung terjadi perubahan warna menjadi kuning. Dalam hal bakteri dapat tumbuh secara anaerob (fermentatif) dan menunjukkan mampu memfermentasi glukosa. Sedangkan akan memunculkan reaksi oksidatif apabila pada media yang ditutup parafin cair steril tidak mengalami perubahan warna dan pada media yang tidak ditutup parafin akan mengalami perubahan warna menjadi kuning. Jika terjadi perubahan warna pada kedua tabung antara media ditutup parafin dan tidak ditutup parafin maka bakteri bersifat fermentatif. Sedangkan apabila perubahan warna hanya pada media tanpa parafin maka bakteri bersifat oksidatif (Schaad, 2001)

3) Pertumbuhan pada Media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC)

Komposisi media YDC yaitu terdiri dari yeast ekstrak 10 g, glukosa 20 g, CaCO₃ 20 g dan agar 15 g. Bahan-bahan tersebut dicampur dan dilarutkan dengan menggunakan aquades 1 liter dan didihkan. Media tersebut disterilkan pada suhu 121°C dalam waktu 30 menit. Kemudian melakukan penggoresan bakteri yang diujikan pada media YDC dan diinkubasi. Selanjutnya melakukan pengamatan setelah 48 jam, apabila muncul koloni berwarna kuning maka tergolong reaksi positif yang masuk kedalam genus *Pantoea* sp. Sedangkan memunculkan reaksi negatif apabila koloni bakteri berwarna putih yang termasuk dalam genus *Erwinia* sp.



Gambar 1. Identifikasi bakteri hingga tingkat genus (Schaad *et al.*, 2001)

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Pengukuran Zona Hambat Bakteri Antagonis

Zona hambat yang terbentuk dalam pengujian antagonis diukur dengan menggunakan penggaris pada umur 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Zona hambat diukur secara vertikal dan horizontal yang kemudian dirata-ratakan. Data diameter digunakan untuk menunjukkan kemampuan atau daya hambat bakteri endofit tanaman lidah buaya terhadap patogen *Erwinia* sp. dengan menggunakan rumus:

$$\text{Zona Hambat} = \frac{\text{DH} + \text{DV}}{2}$$

Keterangan:

DH adalah diameter horizontal (cm)

DV adalah diameter vertikal (cm)

3.5.2 Dokumentasi Zona Hambatan Bakteri Endofit terhadap Patogen *Erwinia* sp.

Dokumentasi merupakan variabel kualitatif yang dipergunakan sebagai bukti tingkat daya hambat bakteri endofit terhadap bakteri *Erwinia* sp. Dokumentasi yang dilakukan yaitu setelah inkubasi selama 24 jam.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan percobaan pada cawan petri dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Penyakit Busuk Lunak Lidah Buaya

Salah satu penyakit utama yang menyerang tanaman lidah buaya yaitu penyakit busuk lunak. Umumnya penyakit ini menyerang tanaman lidah buaya pada bagian daunnya. Menurut Wright (1998), bakteri *Erwinia chrysanthemi* memiliki peranan yang besar sebagai penyebab penyakit busuk lunak pada lidah buaya. Gejala serangan tanaman yang ditemui di lapangan yaitu tanaman berwarna coklat kehitaman, rebah dan mengeluarkan bau tidak sedap (Gambar 3). Kenampakan pada tanaman lidah buaya dengan gejala tersebut jelas nampak berbeda dengan pertumbuhan tanaman lidah buaya sehat. Hal ini sesuai penelitian Kardinan dan Ruhnayat (2003) bahwa gejala busuk lunak lidah buaya ditandai dengan busuk berair dan terjadi perubahan warna daun menjadi coklat hingga berwarna hitam.



Gambar 1. Tanaman lidah buaya dengan gejala penyakit busuk lunak

Penyakit busuk lunak tanaman lidah buaya yang disebabkan oleh bakteri genus *Erwinia* sp. merupakan patogen tular tanah yang penyebarannya sangat cepat. Patogen tular tanah sulit dikendalikan karena bakteri ini masih tetap hidup didalam tanah walaupun tanaman bergejala busuk lunak sudah dibersihkan. Menurut petani serangan penyakit busuk lunak umumnya menyerang pertanaman lidah buaya pada usia muda (umur 4 bulan) hingga tanaman usia dewasa (> 1 tahun). Saat ini pengendalian yang dilakukan petani dengan cara mekanik yaitu membersihkan dan membakar bagian tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak

4.2 Bakteri Patogen Tanaman Lidah Buaya

1.2.1 Isolasi Bakteri Patogen dari Tanaman Lidah Buaya Bergejala Busuk Lunak

Isolasi dilakukan pada tanaman lidah buaya bergejala busuk dengan metode pengenceran. Hasil isolasi dan purifikasi bakteri ditemukan 12 isolat bakteri dari bagian tanaman bergejala busuk lunak (Gambar 4). Kenampakan warna dari 12 isolat bakteri yang didapat bervariasi diantaranya berwarna putih bening, putih susu dan kekuningan. Ciri isolat *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak menurut penelitian Febrianti (2008), bahwa koloni bakteri *Erwinia* sp. berwarna kuning, berbentuk lonjong dengan elevasi cembung. Hal ini juga sesuai dengan Holt *et al* (1994) yang menyatakan bahwa genus *Erwinia* memiliki warna koloni kekuningan dengan bentuk koloni bulat hingga lonjong dan permukaan koloni cembung. Selain itu menurut Schaad *et al.* (2001) genus *Erwinia* sp. memiliki bentuk berupa batang lonjong

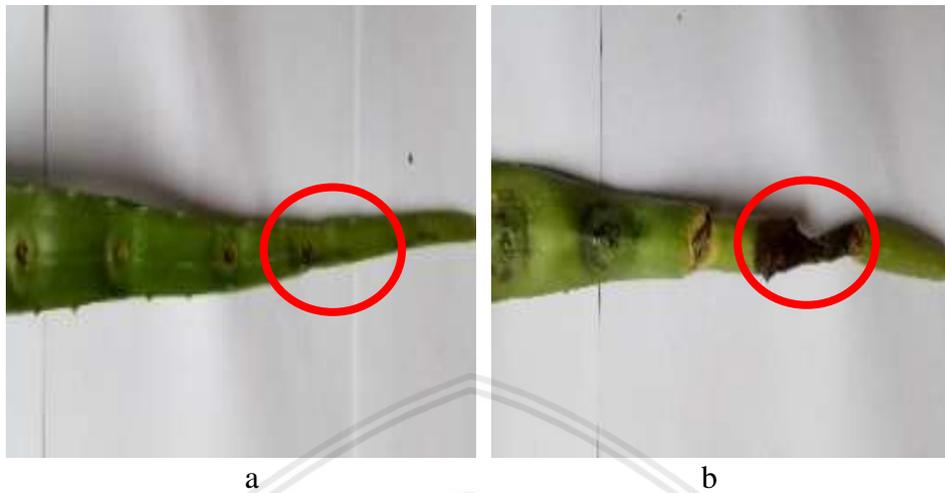


Gambar 2. Beberapa isolat bakteri berumur 48 jam pada media NA hasil isolasi dari tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak

1.2.2 Uji Patogenesitas pada Tanaman Lidah Buaya

Uji patogenesitas 12 isolat bakteri dari tanaman bergejala busuk lunak dilakukan pada tanaman lidah buaya sehat berumur 6 bulan. Hasil yang didapatkan dari pengujian yaitu sebanyak 2 perlakuan isolat bakteri (isolat P2A dan isolat P2B) menunjukkan gejala kerusakan busuk lunak pada tanaman lidah buaya (Gambar 5). Gejala yang ditimbulkan berupa tanaman lidah buaya mulai mengkerut, terjadi perubahan warna menjadi cokelat kehitaman, melunak, berair dan mengeluarkan bau tidak sedap. Hal ini berbeda dengan perlakuan kontrol aquades steril yang tidak menyebabkan kerusakan pada tanaman lidah buaya. Berdasarkan Supriadi (2002),

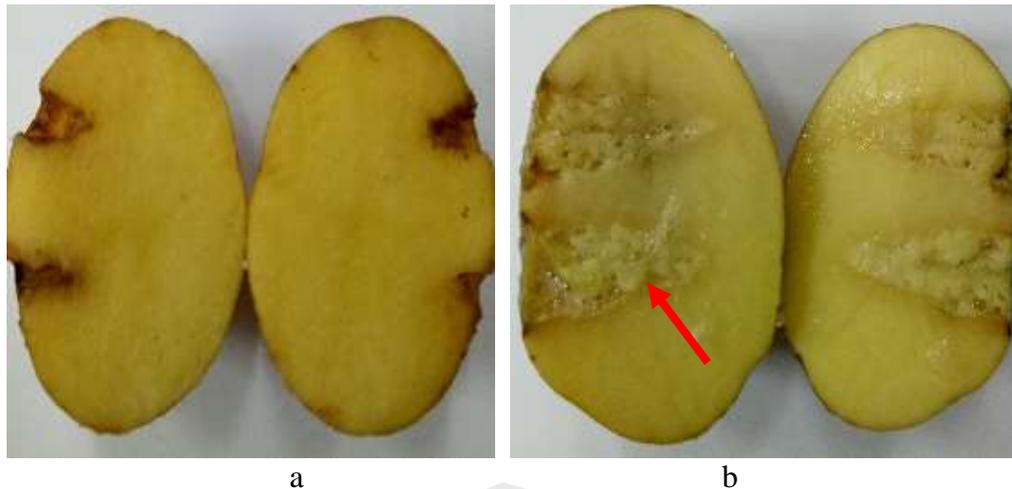
gejala kerusakan akibat serangan bakteri *Erwinia* sp. ditandai dengan jaringan daun menjadi busuk berair (lunak)



Gambar 3. Gejala yang timbul pada uji patogenesis tanaman lidah buaya setelah 7 HSI. (a) perlakuan kontrol dengan inokulasi aquades steril; (b) perlakuan dengan inokulasi isolat P2B menunjukkan gejala busuk lunak

1.2.3 Uji Busuk Lunak pada Umbi Kentang

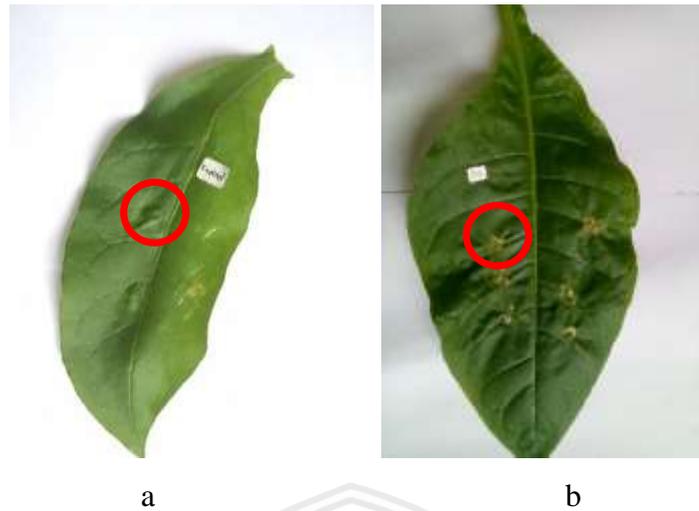
Tujuan dilakukan pengujian busuk lunak pada umbi kentang yaitu untuk mengetahui kerusakan yang ditimbulkan dari patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak tanaman lidah buaya. Menurut Gunawan (2006), bakteri *Erwinia* sp. memiliki kisaran inang yang luas dan dapat menyebabkan kerusakan tanaman baik di lapangan maupun di penyimpanan. Kedua isolat bakteri yang menunjukkan gejala busuk lunak pada tanaman lidah buaya kemudian diinokulasikan pada umbi kentang sehat dan diamati selama 7 hari. Hasil pengujian 2 isolat bakteri terhadap umbi kentang pada 7 HSI menunjukkan gejala busuk dengan jaringan melunak, muncul lendir dan mengeluarkan bau tidak sedap (Gambar 6). Reaksi positif ditunjukkan dengan terjadinya pembusukan pada bagian kentang yang diinokulasikan suspensi bakteri (Masnilah, 2013). Menurut Sinaga (2006), patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak menyerang pada bagian jaringan parenkim dan menghancurkan lamela tengah yang diikuti dengan kematian sel.



Gambar 4. Gejala yang timbul pada uji busuk lunak umbi kentang setelah 7 HSI. (a) perlakuan kontrol dengan inokulasi aquades steril tidak menyebabkan kerusakan busuk lunak; (b) perlakuan dengan inokulasi isolat bakteri P2B menyebabkan kerusakan gejala busuk lunak

1.2.4 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan pada kedua isolat bakteri yang menyebabkan gejala kerusakan busuk lunak pada tanaman lidah buaya dan umbi kentang untuk mengetahui sifat patogenik terhadap tanaman tembakau. Gejala kerusakan berupa nekrotik atau klorosis pada daun tembakau diamati selama 24 – 48 jam (de Boer dan Kelman 2001). Hasil pengamatan yang didapatkan dari uji hipersensitif menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri P2A dan P2B dapat menyebabkan kerusakan berupa nekrotik pada tanaman tembakau (Gambar 7). Menurut Wahyudi *et al* (2011), bahwa reaksi hipersensitif merupakan kematian sel yang cepat akibat terinfeksi bakteri yang bersifat patogen. Gejala yang timbul pada daun tembakau menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki sifat patogenik yang dapat merusak tanaman. Reaksi positif terjadi apabila pada bagian daun tembakau yang diinfiltrasi suspensi bakteri mengalami perubahan warna dan terjadi nekrotik (Masnilah, 2013).



Gambar 5. Gejala yang timbul pada uji hipersensitif tanaman tembakau dari isolat bakteri tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak (a) perlakuan kontrol dengan inokulasi aquades steril tidak mengalami nekrotik; (b) perlakuan dengan inokulasi isolat P2B mengalami nekrotik

1.2.5 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia dari Isolat Bakteri Bergejala Busuk Lunak

Karakterisasi fisiologi dan biokimia bertujuan untuk menentukan genus isolat bakteri. Menurut Charkowski (2006), bakteri patogen genus *Erwinia* sp. dapat menyebabkan kerusakan tanaman berupa layu, busuk batang dan busuk lunak pada beberapa tanaman. Metode yang digunakan berdasarkan Schaad *et al.* (2001), meliputi uji Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram, uji Oksidatif Fermentatif dan uji pertumbuhan pada media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC).

Tabel 1. Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri dari tanaman bergejala busuk lunak

Karakteristik Fisiologi dan Biokimia	Isolat												<i>Erwinia sp.</i> (Schaad <i>et al</i> , 2001)	
	P2A*	P2B*	P2C	P5A	P5B	P7A1	P7A2	P7B	P7C1	P7C2	P7D1	P7D2		
Uji Hipersensitif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	
Uji KOH	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Uji Katalase	Positif	Positif	Positif	Positif	Negatif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Pewarnaan Gram	Merah	Merah	Merah	Merah	-	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil	-	Kokus	Kokus	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Uji OF	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	-	-	-	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
Uji Media YDC	Putih	Putih	Putih	Putih	-	-	-	Kuning	Kuning	Putih	Kuning	Kuning	Kuning	Putih
Patogenesis Lidah Buaya	Busuk lunak	Busuk lunak	Layu	Layu	-	-	-	-	-	Layu	-	-	-	-
Uji Busuk Lunak Umbi Kentang	Busuk lunak	Busuk lunak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

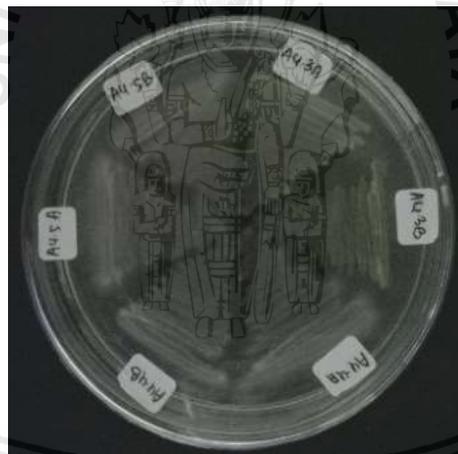
Keterangan` : tanda (-) menunjukkan tidak dilakukan pengujian
 tanda (*) merupakan isolat teridentifikasi sebagai *Erwinia sp.* penyebab busuk lunak lidah buaya yang digunakan dalam uji selanjutnya

Uji karakterisasi dan identifikasi pada 12 isolat bakteri dari tanaman bergejala busuk lunak dengan metode Schaad *et al.* (2001), didapatkan hasil sebanyak 2 isolat yang tergolong kedalam genus *Erwinia* sp. Kedua isolat tersebut yaitu dengan kode isolat P2A dan isolat P2B. Uji Gram pada kedua isolat menunjukkan hasil bakteri tergolong kedalam Gram Negatif (Tabel 2). Hal ini ditunjukkan dengan adanya pengujian KOH ketika isolat bakteri ditetesi KOH 3% dan ditarik menggunakan jarum Ose menghasilkan lendir kental yang mencirikan bakteri Gram negatif. Selain itu pengujian Gram dilakukan dengan uji pewarnaan Gram yang diamati dibawah mikroskop dengan hasil bakteri menunjukkan warna merah dan berbentuk batang. Menurut Hadioetomo (1993), pewarnaan dapat membedakan kelompok bakteri, dimana bakteri yang menunjukkan warna ungu tergolong kedalam Gram positif sedangkan bakteri berwarna merah merupakan bakteri Gram negatif. Menurut Schaad *et al.*, (2001) genus *Erwinia* sp. memiliki sifat reaksi katalase positif yang ditunjukkan dengan adanya gelembung. Hal ini sesuai dengan pengujian katalase pada kedua isolat didapatkan hasil bahwa isolat P2A dan isolat P2B bersifat katalase positif. Pada kedua isolat dalam pengujian Oksidatif Fermentatif didapatkan hasil bahwa isolat P2A dan P2B menunjukkan terjadinya perubahan warna pada tabung tanpa ditutup water agar dan tabung ditutup water agar menjadi warna kuning yang menunjukkan bakteri dapat tumbuh pada kedua tabung dan bersifat Fermentatif. Selain itu, uji pertumbuhan isolat pada media YDC ditunjukkan dengan pertumbuhan isolat berwarna putih yang mencirikan kedua isolat bakteri masuk kedalam genus *Erwinia* sp.

Hasil karakterisasi dan identifikasi pada kedua isolat bakteri yaitu P2A dan P2B yang bergenus *Erwinia* sp. diperkirakan sebagai bakteri patogen *Erwinia chrysanthemi* penyebab busuk lunak. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Supriadi *et al.*, (2001), bahwa pengujian karakterisasi morfologi dan biokimia pada isolat bakteri dari tanaman bergejala busuk lunak adalah *Erwinia chrysanthemi*. Sampel yang digunakan tersebut berasal dari lahan pertanaman lidah buaya di Semplak, Bogor yang merupakan temuan untuk pertama kali di Indonesia. Menurut Balai Karantina, *Erwinia chrysanthemi* tergolong kedalam OPTK A2 yang merupakan organisme pengganggu tumbuhan karantina yang sudah ada di Indonesia namun masih terbatas di wilayah wilayah tertentu.

4.3 Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit yang Menghasilkan Zona Penghambatan Terhadap Patogen *Erwinia* sp.

Isolasi bakteri endofit dilakukan pada tanaman lidah buaya sehat bagian akar dan batang dengan metode pengenceran. Bakteri yang tumbuh pada media NA kemudian dilakukan purifikasi sehingga mendapatkan koloni tunggalnya. Hasil isolasi dan purifikasi ditemukan sebanyak 86 isolat bakteri yang terdiri dari 48 isolat pada bagian akar dan 38 isolat pada bagian batang (Gambar 8). Kenampakan isolat bakteri endofit lidah buaya menunjukkan warna yang bervariasi diantaranya terdapat warna putih, putih susu, putih transparan, kuning maupun kuning transparan. Selain itu terdapat isolat bakteri dengan pinggiran yang licin dan ada pula isolat bakteri dengan pinggiran tidak beraturan. Dengan banyaknya variasi kenampakan pada isolat bakteri endofit lidah buaya kemudian akan dilakukan pengujian antagonis untuk mengetahui kemampuan penghambatan isolat bakteri endofit terhadap patogen *Erwinia* sp.



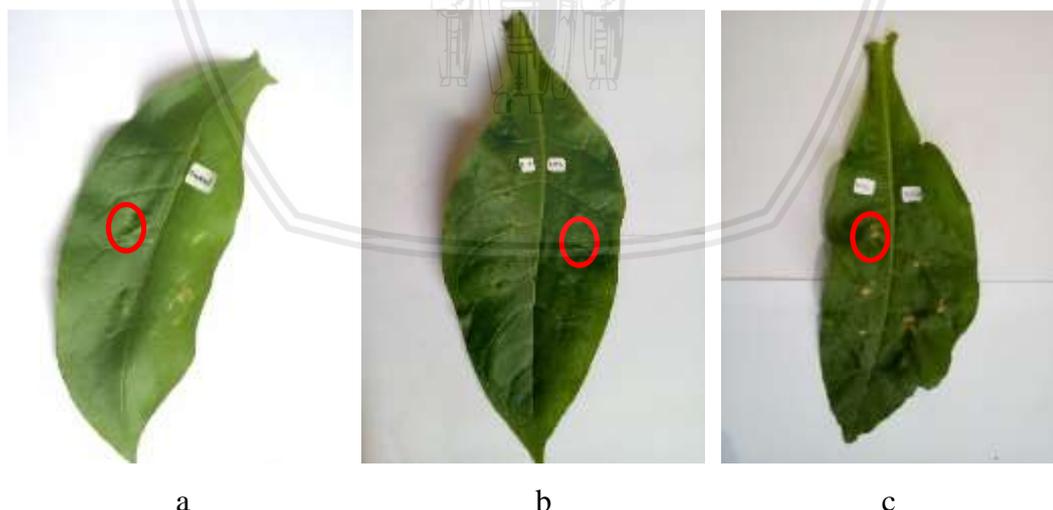
Gambar 6. Beberapa isolat bakteri berumur 48 jam pada media NA hasil isolasi dari tanaman lidah buaya sehat

Bakteri endofit lidah buaya sebanyak 86 isolat, kemudian dilakukan seleksi dengan pengujian antagonis untuk mengetahui keefektifan isolat bakteri endofit dalam menghambat patogen *Erwinia* sp. Hasil yang didapatkan pada seleksi uji antagonis bakteri endofit lidah buaya dengan patogen *Erwinia* sp. didapatkan sebanyak 53 isolat bakteri yang mengeluarkan zona bening dan dapat menghambat patogen *Erwinia* sp (Tabel Lampiran 3). Menurut Hurek *et al* (2011) beberapa mekanisme bakteri antagonis dalam melindungi tanaman dilakukan dengan cara induksi pertahanan tanaman, memproduksi antibiotik (toksin), berkompetisi dalam

ruang dan nutrisi. Berdasarkan Jawetz *et al* (1996) mekanisme kerja antibiotik terhadap sel bakteri patogen yaitu dengan menghambat sintesa protein dan asam nukleat sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Seleksi uji antagonis bakteri endofit lidah buaya memiliki kemampuan penghambatan yang berbeda-beda. Hal ini ditunjukkan dari hasil pengukuran zona hambat yang muncul pada bakteri endofit (Tabel Lampiran 4)

4.4 Uji Hipersensitif Bakteri Endofit pada Tanaman Tembakau

Isolat bakteri endofit yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. kemudian dilakukan pengujian hipersensitif untuk mengetahui sifat patogenik bakteri terhadap tanaman. Sebanyak 53 isolat bakteri yang diuji hipersensitif pada tanaman tembakau didapatkan hasil sebanyak 14 isolat bakteri dapat menimbulkan gejala nekrotik pada daun tanaman tembakau (Gambar 9). Menurut Schaad *et al.* (2001) reaksi hipersensitif merupakan respon ketahanan tanaman terhadap bakteri yang berpotensi menyebabkan penyakit. Berdasarkan Agrios (2005) reaksi positif apabila muncul gejala nekrotik pada bagian daun tembakau yang diinokulasi dengan suspensi bakteri. Berdasarkan hasil uji hipersensitif dapat disimpulkan 39 isolat bakteri yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. tidak termasuk patogen terhadap tanaman (Tabel Lampiran 3).



Gambar 7. Gejala yang timbul pada uji hipersensitif tanaman tembakau dari isolat bakteri endofit tanaman lidah buaya. (a) perlakuan kontrol dengan inokulasi aquades steril tidak mengalami kerusakan; (b) perlakuan dengan inokulasi isolat A1.1B tidak menimbulkan kerusakan; (c) perlakuan dengan inokulasi isolat A1.4C menimbulkan kerusakan

4.5 Uji Antagonis Bakteri Endofit Terhadap *Erwinia* sp.

Penghambatan bakteri patogen *Erwinia* sp. oleh bakteri endofit tanaman lidah buaya diketahui dari nilai zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri antagonis. Isolat bakteri endofit dengan daya penghambatan enam tertinggi kemudian dipilih dan digunakan untuk pengujian antagonis terhadap patogen *Erwinia* sp. Enam isolat bakteri antagonis terpilih yaitu isolat bakteri B3.3C, B3.3B, A1.4B, A5.2A, A1.1B dan B1.5A (Tabel Lampiran 4). Berdasarkan analisis ragam didapatkan hasil bahwa isolat bakteri endofit tanaman lidah buaya menunjukkan zona hambat yang berbeda nyata pada uji penghambatan patogen *Erwinia* sp. (Tabel Lampiran 1). Isolat bakteri endofit lidah buaya memiliki kemampuan penghambatan yang berbeda-beda terhadap patogen *Erwinia* sp. (Tabel 3). Kemampuan penghambatan terendah ditunjukkan oleh Streptomisin dan penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat bakteri A5.2A, B3.3C dan B3.3B pada semua pengamatan

Tabel 2. Rerata zona penghambatan bakteri endofit dengan patogen *Erwinia* sp.

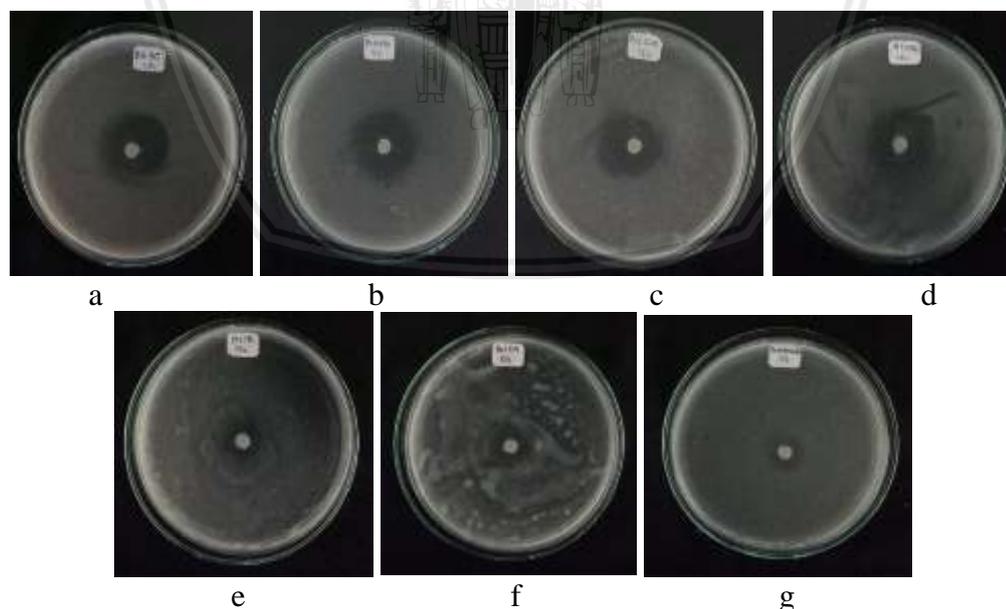
Perlakuan	Rerata zona bening (cm) pada pengamatan		
	Hari ke-1 ± SD	Hari ke-2 ± SD	Hari ke-3 ± SD
Streptomisin	1,08 ± 0,12a	1,08 ± 0,12a	1,08 ± 0,12a
Isolat B1.5A	1,59 ± 0,28b	1,59 ± 0,28b	1,51 ± 0,18ab
Isolat A1.1B	1,66 ± 0,17b	1,61 ± 0,11b	1,58 ± 0,17b
Isolat A1.4B	1,96 ± 0,33bc	1,93 ± 0,39bc	1,88 ± 0,32bc
Isolat A5.2A	2,34 ± 0,23cd	2,30 ± 0,27cd	2,30 ± 0,27cd
Isolat B3.3C	2,43 ± 0,25d	2,38 ± 0,17cd	2,34 ± 0,24cd
Isolat B3.3B	2,55 ± 0,32d	2,55 ± 0,32d	2,51 ± 0,38d

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

Hasil uji antagonis pada bakteri endofit lidah buaya terhadap patogen *Erwinia* sp. menunjukkan enam isolat bakteri endofit memiliki kemampuan dalam menghambat *Erwinia* sp. dengan cara menghasilkan senyawa antibiotik. Mekanisme antibiosis dapat terlihat dari terbentuknya zona bening yang menghambat patogen *Erwinia* sp. (Gambar 10). Hal ini sesuai dengan Prihatiningsih dan Djatmiko (2014) yang menyatakan mekanisme antibiosis ditandai dengan terbentuknya zona hambatan yang menunjukkan adanya senyawa yang dihasilkan sebagai metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan hidup atau berkompetisi berupa enzim, toksin, dan antibiotik. Metabolit sekunder yang diproduksi bakteri antagonis dapat bekerja menghambat atau membunuh bakteri

patogen (Hanafiah *et al.*, 2007; Kusmiati dan Malik, 2002). Tanaman lidah buaya memiliki senyawa antibiotik dan antibakteri berupa Flavonoid, Saponin, Kuinon dan Antrakuinon yang bekerja dengan cara mengganggu dan merusak komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan terganggunya fungsi sel bakteri (Harborne, 1996; Dwidjoseputro, 1994; Voight, 1994; Brooks *et al.*, 2007). Rusaknya dinding sel bakteri dapat menyebabkan cairan didalam sel akan berkurang dan mengalami plasmolisis serta dapat menyebabkan aktifitas metabolisme bakteri akan terganggu (Olivera *et al.*, 2006).

Dalam uji lanjut DMRT menunjukkan hasil isolat bakteri endofit memiliki kemampuan penghambatan yang berbeda-beda terhadap patogen *Erwinia* sp. Kemampuan penghambatan tertinggi antar perlakuan isolat bakteri endofit dengan patogen *Erwinia* sp. yaitu pada isolat A5.2A B3.3C dan B3.3B. Perbedaan penghambatan bakteri terhadap *Erwinia* sp. dapat disebabkan akibat adanya perbedaan aktivitas kandungan konsentrasi senyawa antimikroba yang berperan dalam kompetisi ruang dan nutrisi (Abu bakar *et al.*, 2001). Menurut Lorain (2005) semakin besar konsentrasi antimikroba yang dihasilkan, maka semakin banyak zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga efektivitas penghambatan patogen dapat meningkat dan diameter zona hambat akan semakin meluas



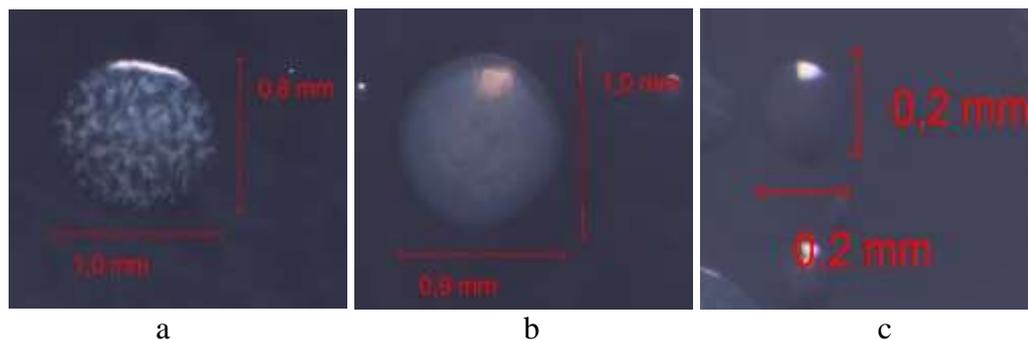
Gambar 8. Hasil uji antagonis bakteri endofit dengan patogen *Erwinia* sp. berumur 24 jam. (a) isolat B3.3C, (b) isolat B3.3B, (c) isolat A5.2A, (d) isolat A1.4B, (e) isolat A1.1B, (f) isolat B1.5A, (g) Streptomisin

Pengujian antagonis menggunakan bakterisida Streptomisin menunjukkan hasil kemampuan penghambatan terendah dibandingkan dengan bakteri endofit lidah buaya. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit lidah buaya memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik dibandingkan Streptomisin. Bakterisida Streptomisin merupakan antibiotik yang langsung bekerja mematikan bakteri dengan cara mencegah sintesis protein (Pratiwi, 2008). Hasil pengujian antagonis didapatkan bahwa bakteri endofit pada hari ke-1, hari ke-2 dan hari ke-3 menunjukkan penurunan kemampuan penghambatan terhadap *Erwinia* sp. Pada hari ketiga, isolat bakteri B1.5A mengalami penurunan penghambatan sehingga memiliki kemampuan penghambatan yang sama dengan bakterisida Streptomisin terhadap *Erwinia* sp. Berdasarkan Semangun (2006) Streptomisin juga berpengaruh terhadap perkembangan bakteri karena berikatan dengan ribosom bakteri dan mencegah sintesis protein.

4.6 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis

4.6.1. Morfologi

Karakterisasi dilakukan pada 6 isolat bakteri endofit terpilih yang lolos seleksi dengan kemampuan penghambatan terbaik terhadap *Erwinia* sp., dan tidak menimbulkan gejala kerusakan pada daun tanaman tembakau. Pengamatan morfologi terbagi menjadi dua yaitu morfologi koloni dan morfologi sel. Pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk koloni, warna, tepian dan elevasi, sedangkan pengamatan morfologi sel meliputi bentuk sel dan sifat Gram yang diamati dibawah mikroskop (Sabdaningsih *et al.*, 2013). Hasil pengamatan morfologi sel didapatkan bahwa keenam bakteri menunjukkan warna merah dan berbentuk batang. Sedangkan pengamatan morfologi koloni menunjukkan hasil yang berbeda-beda (Tabel 4). Sebagian besar koloni bakteri endofit memiliki ciri yang sama, seperti bentuk koloni bundar, elevasi cembung, berwarna putih susu dan tepian yang licin (Gambar 11). Tetapi terdapat beberapa isolat bakteri yang memiliki morfologi koloni yang berbeda dari isolat bakteri lainnya, seperti bentuk bundar dengan tepian timbul, bentuk tidak beraturan, berwarna putih keruh, elevasi datar dan tepi tidak beraturan



Gambar 9. Hasil karakterisasi morfologi bakteri antagonis. (a) isolat B3.3B, (b) isolat A5.2A, (c) isolat A1.1B

Tabel 3. Karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri antagonis

Karakteristik Fisiologi dan Biokimia	Isolat					
	B3.3C	B3.3B	A1.4B	A5.2A	A1.1B	B1.5A
Bentuk	Bundar	Bundar	Bundar	Bundar dengan tepian timbul	Bundar	Tak beraturan dan menyebar
Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Datar
Warna	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih bening	Putih keruh
Tepi	Licin	Licin	Licin	Licin	Licin	Tidak beraturan
Pewarnaan Gram	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah	Merah
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Uji KOH	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Uji OF	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
Uji Media YDC	Kuning	Kuning	Kuning	Putih	Kuning	Kuning
Genus Bakteri	<i>Pantoea</i> sp.	<i>Pantoea</i> sp.	<i>Pantoea</i> sp.	<i>Erwinia</i> sp.	<i>Pantoea</i> sp.	<i>Pantoea</i> sp.

4.6.2. Fisiologis dan Biokimia

Karakterisasi bertujuan untuk menentukan genus isolat bakteri, dilakukan dengan menggunakan metode Schaad *et al.* (2001) meliputi uji Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram, uji Oksidatif Fermentatif dan uji pertumbuhan pada media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC)

1) Uji Gram

a. Uji KOH

Uji KOH 3% yang dilakukan pada enam isolat bakteri antagonis lidah buaya menunjukkan hasil Gram negatif. Pengujian dilakukan dengan meneteskan KOH 3% dan ketika ditarik menggunakan jarum Ose menghasilkan lendir yang kental. Menurut Schaad *et al.* (2001), bakteri yang tergolong kedalam Gram negatif (-)

nampak menghasilkan lendir, kental, lengket dan ketika diangkat dengan jarum Ose seperti benang, sedangkan bakteri Gram positif (+) tidak nampak lendir, encer dan ketika diangkat dengan menggunakan jarum Ose tidak terangkat

b. Uji Pewarnaan Gram

Uji pewarnaan Gram yang diamati dibawah mikroskop pada enam isolat bakteri antagonis lidah buaya menunjukkan hasil berwarna merah yang tergolong kedalam bakteri Gram negatif (Gambar 12). Selain itu, enam bakteri antagonis lidah buaya berbentuk batang (basil) dan memiliki ukuran yang bervariasi. Menurut Schaad *et al.* (2001), bahwa bakteri yang dilakukan pengecatan Gram yang diamati dibawah mikroskop berwarna merah, maka bakteri masuk kedalam Gram negatif. Sedangkan bakteri yang memunculkan warna ungu hingga biru maka bakteri tergolong kedalam bakteri positif



Gambar 10. Hasil uji pewarnaan gram bakteri antagonis isolat A5.2A

2) Uji Oksidatif - Fermentatif

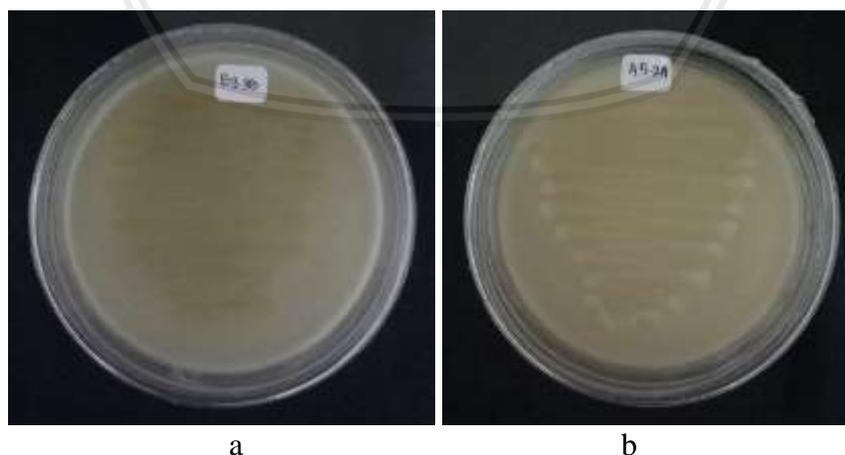
Hasil pengujian Oksidatif Fermentatif (OF) yang diamati selama selama 7 – 14 hari didapatkan bahwa keenam isolat bakteri menunjukkan dikedua tabung antara media yang dilapisi water agar (kondisi anaerob) dan tidak dilapisi water agar (kondisi aerob) berubah warna menjadi kuning (Gambar 13). Menurut Schaad *et al* (2001), apabila terjadi perubahan warna dikedua tabung maka dinyatakan bahwa bakteri menunjukkan pertumbuhan anaerob fakultatif.



Gambar 11. Hasil uji pertumbuhan Oksidatif Fermentatif bakteri antagonis isolat A5.2A

3) Uji Media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC)

Uji pertumbuhan bakteri pada media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC) bertujuan untuk membedakan genus *Pantoea* sp. dan *Erwinia* sp. Teknik yang dilakukan yaitu dengan menggoreskan bakteri antagonis berumur 24 jam pada media YDC. Berdasarkan Schaad *et al.* (2001), bakteri yang diujikan pada media YDC dikatakan positif apabila pertumbuhan koloni bakteri berwarna kuning yang termasuk kedalam genus *Pantoea* sp., sedangkan dikatakan negatif apabila pertumbuhan koloni bakteri berwarna putih yang masuk kedalam genus *Erwinia* sp. Hasil yang didapatkan dari pertumbuhan enam isolat bakteri pada media YDC yaitu lima isolat bakteri menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri berwarna kuning yang tergolong kedalam genus *Pantoea* sp. dan satu isolat bakteri berwarna putih yang tergolong kedalam genus *Erwinia* sp. (Gambar 14).



Gambar 12. Hasil uji pertumbuhan bakteri antagonis pada media YDC. (a) isolat bakteri B3.3B berwarna kuning, (b) isolat bakteri A5.2A berwarna putih

4.7 Pembahasan

Karakterisasi dan identifikasi pada enam isolat bakteri antagonis yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. menunjukkan hasil bahwa lima isolat tergolong kedalam genus *Pantoea* sp. dan satu isolat bakteri tergolong kedalam genus *Erwinia* sp. Berdasarkan Dastager *et al.* (2010) bakteri genus *Pantoea* sp. dan *Erwinia* sp. memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) yang berperan dalam pemanjangan sel, pembelahan sel dan inisiasi akar.

1) Genus *Pantoea* sp.

Bakteri antagonis yang tergolong kedalam genus *Pantoea* sebanyak 5 isolat di antaranya isolat B3.3C, B3.3B, A1.4B, A1.1B, dan B1.5A. Masing-masing isolat bakteri memiliki karakteristik yang bervariasi diantaranya; isolat B3.3C memiliki morfologi bentuk bundar, elevasi cembung, tepian bakteri yang licin dan koloni berwarna putih susu. Pada isolat B3.3B memiliki morfologi berbentuk bundar, elevasi cembung, tepian bakteri yang licin dan koloni berwarna putih susu. Pada isolat A1.4B memiliki morfologi berbentuk bundar, elevasi cembung, tepian bakteri yang licin dan koloni berwarna putih susu. Pada isolat A1.1B memiliki morfologi berbentuk bundar, elevasi cembung, tepian bakteri yang licin dan koloni berwarna putih bening. Dan isolat B1.5A memiliki morfologi bentuk tidak beraturan dan menyebar dengan elevasi datar dengan tepian bakteri yang tidak beraturan serta koloni berwarna putih keruh. Sedangkan hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia didapatkan pengujian KOH 3% menghasilkan lendir yang tergolong kedalam bakteri gram negatif. Pengujian yang dilakukan ke-5 isolat bakteri pada pertumbuhan anaerob menunjukkan bersifat fermentatif karena terjadi perubahan warna pada kedua tabung antara ditutup water agar dan tidak ditutup water agar menjadi warna kuning serta dipengujian akhir pertumbuhan bakteri pada media YDC berwarna kuning. Identifikasi berdasarkan Schaad *et al.*, (2001), karakteristik dengan hasil pewarnaan berwarna merah, uji KOH 3% berlendir, uji Gram negatif, uji pertumbuhan anaerob fermentatif dan pertumbuhan pada media YDC berwarna kuning tergolong kedalam genus *Pantoea* sp.

Umumnya enzim selulase, protease dan kitinase digunakan oleh bakteri untuk menghambat perkembangan patogen terutama patogen tular tanah. Menurut Munif (2001), beberapa jenis bakteri telah dilaporkan dapat menghasilkan enzim kitinase

di antaranya *Pantoea*, *Bacillus*, *Cedecea*, *Comamonas* dan *Pseudomonas*. Enzim kitinase memiliki banyak manfaat, salah satunya dibidang pertanian karena kemampuannya untuk menghidrolisis kitin menjadi N-asetilglukosamin (Herdyastuti *et al.*, 2009). Selain berpotensi sebagai agens antagonis, genus *Pantoea* juga dapat berpotensi sebagai patogen tanaman seperti contohnya *Pantoea stewartii* yang menyebabkan penyakit hawar daun pada tanaman jagung (Coplin *et al.*, 2002).

2) Genus *Erwinia* sp.

Bakteri antagonis yang tergolong kedalam genus *Erwinia* yaitu isolat A5.2A dengan karakteristik morfologi berbentuk bundar dengan tepian timbul, elevasi cembung, tepian bakteri yang licin dan koloni berwarna putih susu. Isolat A5.2A tergolong kedalam bakteri Gram negatif dengan pengecatan warna menghasilkan warna merah dan memiliki bentuk sel batang. Hasil pengujian KOH 3% menghasilkan lendir dan ketika ditarik seperti benang. Pada hasil pengujian anaerob, isolat A5.2A bersifat fermentatif karena terjadi perubahan warna pada kedua tabung antara ditutup water agar dan tidak ditutup water agar menjadi warna kuning. Selain itu pada pengujian akhir pertumbuhan bakteri pada media YDC menunjukkan warna putih. Hasil identifikasi berdasarkan Schaad *et al.*, (2001), karakteristik dengan hasil pewarnaan berwarna merah, uji KOH 3% berlendir, uji Gram negatif, uji pertumbuhan anaerob fermentatif dan pertumbuhan pada media YDC berwarna putih tergolong kedalam genus *Erwinia* sp.

Bakteri genus *Erwinia* banyak dikenal sebagai bakteri patogen yang dapat menyebabkan kerusakan pada beberapa tanaman, namun selain sebagai bakteri patogen tanaman bakteri genus *Erwinia* juga dapat bersifat non patogenik (Charkowski, 2006). Menurut pendapat Nasahi (2010), bakteri antagonis genus *Erwinia* dapat digunakan sebagai pengendalian hayati dalam menghambat patogen tanaman. Bakteri genus *Erwinia* dapat menghasilkan senyawa yang digunakan untuk mendegradasi bakteri lainnya untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya (Tasnim *et al.*, 2013). Selain digunakan sebagai pengendali hayati, bakteri genus *Erwinia* sp. juga dapat menghasilkan fitohormon auksin dan sitokinin yang dapat membantu pertumbuhan tanaman dalam meningkatkan jumlah rambut akar, meningkatkan percabangan dan permukaan akar (Baca dan Elmerick, 2003).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan adalah :

1. Berdasarkan isolasi patogen dari tanaman lidah buaya bergejala busuk lunak diperoleh sebanyak 12 isolat bakteri. Isolat yang tergolong kedalam genus patogen *Erwinia* sp. sebanyak 2 isolat yang diperkirakan sebagai patogen *Erwinia chrysanthemi* penyebab busuk lunak lidah buaya
2. Hasil ekplorasi bakteri endofit lidah buaya diperoleh 86 isolat bakteri dengan rincian pada bagian akar sebanyak 48 isolat dan pada bagian batang sebanyak 38 isolat bakteri.
3. Terdapat 39 isolat bakteri yang dapat menghambat patogen *Erwinia* sp. penyebab busuk lunak dan tidak bersifat patogen tanaman. Ke-6 isolat terpilih dengan zona hambat tertinggi yaitu isolat B3.3C, A1.4B, B3.3B, A5.2A, A.1.1B, dan B1.5A
4. Pengujian antagonis didapatkan hasil bahwa keenam isolat bakteri endofit terpilih memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan Streptomisin dengan rerata penghambatan tertinggi ditunjukkan pada isolat A5.2A, B3.3C dan B3.3B
5. Karakterisasi dan identifikasi 6 isolat bakteri endofit lidah buaya terpilih yaitu isolat B3.3C, B3.3B, A1.4B, A1.1B dan B1.5A yang tergolong kedalam genus *Pantoea* sp. dan isolat A5.2A tergolong kedalam genus *Erwinia* sp.

5.2 Saran

Penelitian bakteri endofit lidah buaya ini merupakan studi tahap awal mengenai potensi bakteri endofit terhadap petogen *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak lidah buaya. Untuk menyempurnakan studi ini, dapat dilakukan dengan adanya penelitian lanjutan mengenai uji coba potensi bakteri di rumah kaca maupun pengujian lanjutan identifikasi hingga mencapai spesiesnya

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, H., A.T Wahyudi, dan M Yuhana. 2001. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Jaspis sp. Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. Ilmu kelautan. Maret 2011.
- Agarwal, S., and S.T Shende. 1987. Tetrazolium reducing microorganisms inside the root of Brassica Brassica species. Current Science 56:187-188
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology 5th Edition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. USA
- Baca, B.E., and C Elmerich. 2003. Microbial Production of Plant Hormones. In C. Elmerich and W.E. Newton (eds.), Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands
- Bacon, C.W., and D.M. Hinton. 2007. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. In: Gnanamanicham SS. Gnanamanicham (ed). Plant-Associated Bacteria. Springer, Berlin. p.155-194.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2008. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri.
- Badan Pusat Statistik. 2015. Statistik Tanaman Biofarmaka Indonesia 2015. Jakarta
- Brooks, G.F., K.C Carroll, J.S Butel, and S.A Morse. 2007. Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology (24th ed.). McGraw-Hill. United States of America.
- Changa, X.L., C. Wang, Y. Feng, dan Z. Liua. 2006. Effect of heat treatment on the stabilities of polysaccharides substances and barbaloin in juice from *Aloe vera* Miller. Carbohydrate Research.
- Charkowski, A., Y. Cui, H. Hasegawa, N. Leigh, and A.K Chatterjee. 2006. The soft rot *Erwinia*. Plant Associated Bacteria, Netherland.
- Chowa, J.T.N., D.A. Williamson, M. Kenneth, and W.J. Gouxa. 2005. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of *Aloe vera* L.J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.
- Coplin, D.L., D.R. Majerczak, Y. Zhang, W.S Kim, S. Jock, and K. Geider. 2002. Identification of *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* by PCR and strain differentiation by PFGE. Plant Dis. 86:304–311.
- Darmayasa, I.B.G. 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lipid) pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari DAM Denpasar. Jurnal Bumi Lestari.
- Dastager, S.G., C.K. Deepa, A. Pandey. 2010. Isolation and characterization of novel plant growth promoting *Micrococcus* sp NII-0909 and its interaction with cowpea. Plant Physiol Biochem, 48: 987-992.

- De Boer, S.H., and A. Kelman. 2001. *Erwinia* soft rot group. Di dalam: Schaad NW, Jones J.B dan Chun W, editor. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Ed ke-3. St Paul: APS Press
- De Laat, P.C.A., J.T.W. Verhoeven, and J.D. Janse. 1994. Bacterial Leaf Rot of Aloe vera L. Caused by *Erwinia chrysanthemi* Biovar 3. European Journal of Plant Pathology 100: 81–84.
- Dwidjoseputro, D. 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta.
- Ergun, N., S.F. Topcuoglu, and A. Yildiz. 2002. Auxin (indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA3), abscisic acid (ABA), and cytokinin production by some species of Mosses and Lichens. Turk. J. Bot. 26: 13-18.
- Eshun, K. and Q. He. 2004. Aloe vera: A valuable ingredient for food, pharmaceutical and cosmetic industries. Int. J. of Aromatherapy. 14(1):15-21
- Febrianti, L. 2008. Uji antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk bakteri pada *Aloe vera*, Skripsi. Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Furnawanthi, I. 2003. Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya Si Tanaman Ajaib. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Garcion, C., O. Lamotte, and J.P. Métraux. 2007. Mechanisms of defence to pathogens: biochemistry and physiology. In: Walters D, Newton A, and Lyon G (Eds.). Induced Resistance for Plant Defense: Sustainable Approach to Crop Protection. pp. 109–132. Blackwell Publishing, Oxford.
- Gunawan, O.S. 2006. Pengaruh Cahaya dan Tempat Penyimpanan Bibit Kentang di Gudang Terhadap Serangan Hama Penyakit Gudang. Bandung.
- Guo, B., Y. Wang, X. Sun, and K. Tang. 2008. Bioactive natural products from endophytes: A Review. Appl. Biochem. and Microbiol. 44(2): 136-142.
- Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek (teknik dan prosedur dasar laboratorium). Jakarta (ID): PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hallmann, J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. In: Jeger MJ and Spense NJ (Eds.). Biotic Interactions in Plant-Pathogen Association. pp. 87–119. Cab International. Wallingford, UK.
- Hallmann, J., A. Quadt-Hallmann, W.F. Mahaffee, and J.W. Kloeper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology 43: 895-914
- Hanafiah K.A., A. Napoleon, dan N. Ghofar. 2007. Biologi Tanah: Ekologi dan Makrobiologi Tanah. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Haque, M.M., M.S Kabir, L.Q Aini, H. Hirata, dan S. Tsuyumu. 2009. SlyA, a MarR Family Transcriptional Regulator, Is Essential for Virulence in *Dickeya dadantii* 3937. Journal of Bacteriology.
- Harborne, J.B. 1996. Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan. (Terj.: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro). ITB. Bandung

- Hatta, M. dan D Sahari. 2001. Usahatani Lidah Buaya (*Aloe vera*). Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Barat.
- Hendrawati, T.Y. 2015. *Aloe Vera* Powder Properties Produced from *Aloe Chinensis* Baker, Pontianak, Indonesia. Journal of Engineering Science and Technology Special Issue on SOMCHE 2014 dan RSCE 2014 Conference, January (2015) 47 – 59. School of Engineering, Taylor's University
- Herdyastuti, N., T.J. Raharjo, Mudasir, and S. Matsjeh. 2009. Chitinase and Chitinolytic Microorganism Isolation, Characteristic and Potential. Jurnal Chemistry. Vol (9)1: 37-47.
- Holt, G.J., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, Stanley, and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Hal 562-570.
- Hurek, B.R., and T. Hurek. 1998. Life in grasses: Diazotrophic endophytes. Trends in Microbiol. 4: 139-144.
- Hurek, B.R. and T. Hurek. 2011. Living inside plants: Bacterial Endophytes. Current Opinion in Plant Pathology
- Kardinan, A. dan A. Ruhnayat. 2003. Budidaya Tanaman Obat Secara Organik. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Kawaguchi A., K. Inoue, and Y. Ichinose. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. Journal Phytopathology. 98(11) :1218-1225.
- Kawuri, R. 2010. Isolasi dan identifikasi penyakit busuk rebah pada *Aloe barbadensis* Mill. Tesis, Universitas Udayana
- Kharwar, R.N., V.C. Verma, G. Strobel, and D. Ezra. 2008 The endophytic fungal complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Current Sci. 2: 228-233.
- Kobayashi, D.Y., and J.D Palumbo. 2000. Bacterial Endophytes and Their Effects on Plants and Uses in Agriculture. New York
- Kusmiati dan A. Malik. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides*. Pbac1 Pada Berbagai Media. Makara, Kesehatan
- Leo, Y., S. Khotimah, dan A. Mulyadi. 2014. Karakter Morfologi Bakteri dari Daun Sehat dan Bergejala Sakit Lidah Buaya (*Aloe vera* var. *barbadensis*). Program Studi Biologi, Fakultas MIPA. Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Long, H.H., D.D. Schmidt, and I.T Baldwin. 2008. Native Bacterial Endophytes Promote Host Growth in a Species-Specific Manner; Phytohormone Manipulations Do Not Result in Common Growth Responses. Journal PLoS ONE, 3(7): e2702.
- Lorain, V. 2005. Antibiotic in Laboratory Medicine. 5 th Edition. London: Williams and Wilkins Co. p 259.
- Lugtenberg, B., and F. Kamilova. 2009. Plant-growth-promoting Rhizobacteria. Annu Rev Microbiol 63:541-56.

- Mandal, K., and S. Maiti. 2005. Bacterial Soft Rot of Aloe Caused by *Pectobacterium chrysanthemi*: A New Report from India. *Plant Pathology* 54: 573– 573.
- Marwati, T., dan Hermani. 2006. Pemanfaatan Bahan Aktif Lidah Buaya (*Aloe vera*) sebagai sediaan kosmetik. *Proceeding Seminar Nasional Tumbuhan Obat XXIX Indonesia*. 24-25 Maret 2006. Solo
- Masnilah, R., A.L. Abadi, T.H. Astono, dan L.Q Aini. 2013. Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame di Jember. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember
- Miller, F.H. and G. Berg. 2009. Characterization of plant growth promoting bacteria from crops in Bolivia. *J Plant Dis Protect* 116 (4): 149-155.
- Munif, A. 2001. Studies on the Importance of Endophytic Bacteria for the Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* on Tomato (Dissertation). Doktor der Agrarwissenschaften. Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- Nasahi, C.Ir.M.S. 2010. Peran Mikroba Dalam Pertanian Organik. Universitas Pajajaran. Bandung
- Olivera, F.C., R.C. Geruza, S.M. Amanda, A.S. Andre, and B. Adriano. 2006, 'Bacteriocin Like Substance Inhibits Potato Soft Rot caused by *Erwinia carotovora*', *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 56, hal. 533-539.
- Padua, L.S., N. Bunyaphatsara, and R.H.M.J. Lemmens. 1999. *Plant Resources of South-East Asia No.12(1): Medicinal and Poisonous Plants 1*. Leiden: Backhuys Publishers.
- Pal A., A. Chattopadhyay, and A.K. Paul. 2012. Diversity and Antimicrobial Spectrum of Endophytic Bacteria Isolated from *Pedicularis foetida* L. *Int J Curr Pharm Res*. 4:123-127.
- Pemberton, C.L., H. Slater, and G.P.C. Salmond. 2004. Chemical signalling by Bacterial Plant Pathogens. Pp. 133–135 In: Gilling M dan Holmes A. *Plant Microbiology*. Garland Science, Abingdon.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*, 154, 158, Jakarta. Erlangga Medikal Series.
- Prihatiningsih, N. and H.A. Djatmiko. 2014. Karakter *Bacillus subtilis* B315 sebagai antibakteri *Ralstonia solanacearum* dan antijamur *Colletotrichum* sp. Seminar Nasional Pengendalian Penyakit pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta
- Purnomo, B. 2006. *Dasar-dasar Perlindungan Tanaman: Penggolongan Penyakit Pathogen Tumbuhan*.
- Pusat Pengembangan Herba Medika, UI. 2003. *Studi Potensi Penggunaan Aloe vera Diversifikasinya pada Industri Farmasi, Kosmetika, Makanan dan Minuman*. Jakarta
- Puspawati, R., P. Adirestuti dan I. Sembiring. 2011. *Pengujian Aktivitas Metabolit Bakteri Yang Hidup Dalam Jaringan Tanaman Lidah Buaya (Aloe vera (L))*.

- Burn.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Jendral Achmad Yani. Bandung
- Rosenblueth, M. and E. Martínez-Romero. 2006. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *MPMI* 19: 827–837
- Sabdaningsih, A., A. Budiharjo dan E. Kusdiyantini. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Biologi*
- Samson, R., J.B. Legendre, R. Christen, M. Fischer-Le Saux, W. Achouak and L. Gardan. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. *Int J Syst Evol Microbiol*
- Santoso, E. 2003. Pengaruh jenis pupuk organik dan mulsa terhadap pertumbuhan tanaman lidah buaya (*Aloe vera mill*). *Jurnal Agron* 31 (3) : 120 – 125.
- Schaad, N., J. Jones, and W. Chun. 2001. *Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd Edition. APS Press. Amerika. Hal 1-71.
- Semangun. 2006. *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sinaga, M.S. 2006. *Dasar-Dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Soekartawi. 2005. *Agribisnis Teori dan Aplikasinya*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Strobel, G.A., and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.* 67(4): 491-502
- Sudarto, Y. 1997. *Lidah Buaya*. Kanisius. Yogyakarta
- Supriadi, N. Ibrahim, dan Taryono. 2002. Karakterisasi *Erwinia chrysanthemi* Penyebab Penyakit Busuk Bakteri Pada Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*). Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor
- Tan, R.X., and Zou. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites, *Nat.Prod. Rep.*, 18:448-459.
- Tanaka, M., H. Sukiman, M. Takebayashi, K. Saito, M. Suto, M.S. Prana, and F. Tomita. 1999. isolation, screening and phylogenetic identification of endophytes from plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment*. 14(4):237–41.
- Taryono dan R. Rosman. 2003. *Teknologi Budidaya dan Diversifikasi Produk Lidah Buaya, Perkembangan Teknologi TRO 15:1*. Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat.
- Tasnim, S., R. Kuwari, dan N.P.A Astiti. 2013. 'Efektivitas Daya Hambat Bakteri *Streptomyces* sp Terhadap *Erwinia* sp Penyebab Penyakit Busuk Rebah Pada Tanaman Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill). *Jurnal Simbiosis*, vol. 1, no. 1, hal. 21-27

Voight, R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. (Terj.: Nurono). Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

