EKSPLORASI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) ORGANIK DAN POTENSINYA SEBAGAI AGENS ANTAGONIS *Ralstonia solanacearum* SECARA *IN VITRO*

Oleh

ANI SOFIANA

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

MALANG

2019

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

EKSPLORASI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) ORGANIK DAN POTENSINYA SEBAGAI AGENS ANTAGONIS *Ralstonia solanacearum* SECARA *IN VITRO*

OLEH

ANI SOFIANA

155040200111019

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

repository.ub.ac.id

PERNYATAAN

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

Malang, Juli 2019

Ani Sofiana

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian	:	Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Organik dan Potensinya sebagai Agens Antagonis *Ralstonia solanacearum* secara *In vitro*
Nama	:	Ani Sofiana
NIM	:	155040200111019
Program Studi	:	Agroekoteknologi
Jurusan	:	Hama dan Penyakit Tumbuhan

Disetujui
Pembimbing Utama,

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

Diketahui,
Ketua Jurusan

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

Tanggal Persetujuan: 24 JUL 2019

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

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

Penguji II

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304841014 1 001

Penguji III

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

Penguji IV

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

Tanggal Lulus : 01 AUG 2019

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

Skripsi ini kupersembahkan untuk

Kedua orang tua tercinta dan Kakak serta Adikku tersayang

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

Ani Sofiana. 155040200111019. Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) dan Potensinya sebagai Agens Antagonis *Ralstonia solanacearum* secara *In vitro*. Dibawah bimbingan Luqman Qurota Aini, SP., M.Si., Ph.D sebagai Pembimbing Utama.

Cabai rawit merupakan salah satu komoditas pertanian yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Produktivitas tanaman cabai yang rendah disebabkan oleh permasalahan hama dan penyakit dan tingkat kesuburan tanah rendah. Salah satu OPT yang menyerang tanaman cabai rawit adalah patogen penyebab penyakit layu bakteri. Penyakit layu bakteri disebabkan oleh patogen *Ralstonia solanacearum*. Patogen ini memiliki kisaran inang yang luas dan dapat mengakibatkan kegagalan panen hingga 50 %. Keterbatasan efektivitas dari beberapa pengendalian untuk penyakit layu bakteri tetap menjadi masalah serius secara ekonomis. Keberadaan populasi bakteri endofit pada tanaman dapat dijadikan sebagai agens pengendali hayati untuk patogen tanaman dalam upaya untuk memanfaatkan keanekaragaman mikroba yang ada pada lahan organik. Tujuan penelitian ini adalah eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit pada lahan organik untuk mengetahui bakteri yang memiliki potensi antagonis terhadap patogen *R. solanacearum*.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang mulai bulan Januari sampai Juni 2019. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu: 1) Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik; 2) Persiapan bakteri patogen *R. solanacearum*; 3) Seleksi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*; 4) Uji antagonis isolat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik terhadap patogen *R. solanacearum*; 5) Karakterisasi dan identifikasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan yang terdiri dari 5 bakteri endofit terpilih dan 2 kontrol. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam pada taraf kesalahan 5 % dan apabila terdapat perbedaan nyata maka dilakukan uji lanjut dengan DMRT taraf kesalahan 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 38 isolat bakteri endofit hasil eksplorasi, 8 isolat diantaranya mampu menghambat patogen *R. solanacearum* secara *in vitro*. Kemudian dipilih 5 isolat dengan zona hambat terbesar untuk uji antagonis. Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa semua perlakuan mampu menghambat patogen *R. solanacearum*. Berdasarkan uji DMRT dengan taraf kesalahan 5 %, pada 24, 48, dan 72 jam setelah inokulasi, semua perlakuan menunjukkan hasil yang sama dalam menekan *R. solanacearum*. Karakter morfologi isolat kode C3, C4, C5, C6, dan D1 berbeda-beda. Karakter fisiologi dan biokimia isolat kode C3, C4, C5, C6, dan D1 sama. Berdasarkan identifikasi secara morfologi, fisiologi, dan biokimia pada bakteri endofit terpilih yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*, kelima isolat termasuk dalam genus *Erwinia*.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

SUMMARY

Ani Sofiana. 155040200111019. Eksploration of Roots Endophitic Bacteria In Chili Pepper (*Capsicum frutescens* L.) and The Potension as Antagonistic Agents of *Ralstonia solanacearum* on *In vitro* Assays. Under the Guidance of Luqman Qurota Aini, SP., M.Si., Ph.D as the Supervisor.

Chili pepper is one of the agricultural commodities that have high economic value. The low productivity of chili pepper caused by pests and diseases problem and soil fertility is low. One of disease that attack plants is bacterial wilt disease. Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. It has a wide host range and can result up to 50 % crop failure. Limited effectiveness of some controls to bacterial wilt disease remains a serious problem economically. Existence of population of endophytic bacteria in plants can be used as biological control of plant pathogens in an effort to take advantage of microbial diversity that existed at the organic fields. The purpose of this research is exploration of the roots endophytic bacteria on chili pepper plants in organic fields to determine which has the potential antagonist againts pathogen *R. solanacearum*.

Research was conducted in the Central Laboratory of Biological Sciences and Plant Pathology Laboratory, Departement Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang from January to June 2019. This research consists of several stages: 1) Exploration of the roots endophytic bacteria on organic farming; 2) Preparation of pathogenic bacteria *R. solanacearum*; 3) Selection of endophytic bacteria on the chili pepper roots from organic fields that antagonistic to *R. solanacearum*; 4) The test antagonistic of endophytic bacteria isolates from chili pepper roots in organic fields against pathogen *R. solanacearum*; 5) Characterization and identification of endophytic bacteria on the roots of chili pepper that antagonistic to *R. solanacearum*. Research using completely randomized design (CRD) with 7 treatments consists of 5 selected endophytic bacteria and 2 controls. The data were analyzed using ANOVA of 5 % error level and if there was significance different among the treatments, data were analyzed with *Duncan Multiple Range Test* of 5 % error level.

The results showed that 38 isolates of endophytic bacteria from exploration, 8 isolates able to inhibit *R. solanacearum* on *in vitro* assays. Then 5 isolates with the greatest inhibition zone is test the antagonism activity. The results showed that all treatments able to inhibit *R. solanacearum*. Based DMRT with error level of 5 %, on 24, 48 and 72 hours after inoculation, all treatments showed similar results in suppress of *R. solanacearum*. Morphological characteristics of isolate C3, C4, C5, C6, and D1 are different. Physiologycal and biochemical characteristics of isolate C3, C4, C5, C6, and D1 are same. Based on the identification morphology, physiology, and biochemistry in selected endophytic bacteria against *R. solanacearum*, five isolates belong to genus *Erwinia*.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan bimbingan-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan judul "Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Organik dan Potensinya sebagai Agens Antagonis *Ralstonia solanacearum* secara *In vitro*".

Pada kesempatan ini, penulis tidak lupa untuk mengucapkan terimakasih kepada Luqman Qurota Aini, SP., Msi., Ph.D. selaku dosen pembimbing atas segala kesabaran, nasihat, dan arahan dan bimbingannya. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua dan keluarga atas doa dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis. Juga kepada teman-teman Jurusan HPT khususnya angkatan 2017 yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam mengerjakan skripsi ini.

Penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Blitar pada tanggal 29 September 1996 sebagai anak kedua dari dua bersaudara dari Bapak Katiman dan Ibu Leginem. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Kendalrejo 2 Talun, Blitar pada tahun 2002 hingga 2008, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 2 Talun pada tahun hingga 2008 Pada tahun 2011, penulis melanjutkan ke SMAN 1 Garum dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun 2015 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 (S1) Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya melalui jalur SBMPTN. Selama menjadi mahasiswa, penulis menerima beasiswa pendidikan Bidik Misi dari Kemenristekdikti. Pada tahun 2016, penulis terdaftar sebagai Anggota LKM PRISMA. Pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Minat Perlindungan Tanaman, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif sebagai Asisten Mata Kuliah Ilmu Hama Tanaman pada tahun 2019.

DAFTAR ISI

RINGKASAN i
SUMMARY ii
KATA PENGANTAR iii
RIWAYAT HIDUP iv
DAFTAR ISI v
DAFTAR TABEL vi
DAFTAR GAMBAR vii
TABEL LAMPIRAN vi
GAMBAR LAMPIRAN vii
I. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan 3
1.4 Hipotesis 3
1.5 Manfaat 3
II. TINJAUAN PUSTAKA 4
2.1 Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frustescens* L.) 4
2.2 Syarat Tumbuh Tanaman Cabai Rawit 4
2.3 Penyakit Layu Bakteri 6
2.4 Bakteri Endofit 12
III. METODE PENELITIAN 15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian 15
3.2 Alat dan Bahan 15
3.3 Metode Penelitian 15
3.4 Pelaksanaan Penelitian 16
3.5 Variabel Pengamatan 25
3.6 Analisis Data 26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 27
4.1 Hasil Uji Patogenisitas 27
4.2 Hasil Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit 28
4.3 Hasil Seleksi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit Organik yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* 29
4.4 Hasil Pengujian Antagonis Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit Organik terhadap *R. solanacearum* 30
4.5 Karakter Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Bakteri Endofit Tanaman Cabai Rawit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* 32
4.6 Hasil Identifikasi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Bakteri Patogen *R. solanacearum* 38
V. KESIMPULAN DAN SARAN 42
5.1 Kesimpulan 42
5.2 Saran 42
DAFTAR PUSTAKA 43
LAMPIRAN 49

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Nomor Halaman

Teks

1. Perlakuan Uji Antagonis Bakteri Terpilih Hasil Seleksi terhadap *R. solanacearum* secara *In vitro* 19
2. Kategori Diameter Zona Hambat 25
3. Diameter Zona Hambat yang Dihasilkan Bakteri Endofit terhadap Patogen *R. solanacearum* secara *In vitro* 29
4. Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* 30
5. Morfologi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* 32
6. Karakter Fisiologi dan Biokimia Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* 33
7. Hasil Identifikasi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* 38

Lampiran

Nomor Halaman

Teks

1. Hasil Analisis Ragam Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* pada 24 JSI 50
2. Hasil Analisis Ragam Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* pada 48 JSI 50
3. Hasil Analisis Ragam Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* pada 72 JSI 50

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Nomor Halaman

Teks

1. Morfologi Sel *R. solanacearum* pada Perbesaran 1 µm..... 6
2. Isolat Bakteri *R. solanacearum*..... 7
3. Gejala Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Cabai..... 8
4. Siklus Hidup Bakteri Patogen *R. solanacearum*..... 9
5. Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap *R. solanacerum* dengan Metode *Spray* pada Media NA..... 19
6. Bagan Alir Identifikasi Bakteri Hingga Tingkat Genus (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*) (Holt *et al*., 1994)..... 23
7. Bagan Alir Identifikasi Bakteri Patogen Tumbuhan Hingga Tingkat Genus (Schaad *et al*., 2001)..... 24
8. Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri Antagonis..... 25
9. Hasil Uji Patogenisitas..... 27
10. Hasil Eksplorasi Bakteri Endofit Dari Akar Tanaman Cabai Rawit Organik pada 60 HST..... 28
11. Zona Bening yang Dihasilkan Bakteri Endofit pada Pengujian Antagonis terhadap *R. solanacearum* di Cawan Petri selama 72 Jam..... 31
12. Morfologi Koloni Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 33
13. Hasil Uji Hipersensitif..... 34
14. Hasil Uji Gram..... 36
15. Hasil Uji Katalase..... 36
16. Hasil Uji Oksidatif Fermentatif Isolat Bakteri Kode C6 yang Menunjukkan Reaksi Positif (Fermentatif)..... 37
17. Pertumbuhan Koloni Berwarna Putih pada Media YDC..... 38

Lampiran

Nomor Halaman

Teks

1. Sertifikat Pertanian Organik Sampel Tanaman Cabai Rawit..... 51
2. Hasil Seleksi 38 Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 52
3. Hasil Uji Hipersensitif Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 53
4. Hasil Uji KOH Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 54
5. Hasil Uji Pewarnaan Gram Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 55
6. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 56
7. Hasil Uji Pertumbuhan Koloni Kuning pada Media YDC Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 57
8. Hasil Uji Katalase Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*..... 58

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cabai rawit merupakan salah satu komoditas pertanian yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Cabai rawit digunakan untuk memenuhi kebutuhan rumah tangga sebagai bumbu dapur. Selain itu, cabai rawit juga dimanfaatkan sebagai bahan utama industri saus, industri bubuk cabai, dan industri farmasi (Saraswati *et al*., 2012). Rata-rata produktivitas cabai rawit nasional pada tahun 2014 mencapai 5,93 ton/ha. Produktivitas tersebut masih dibawah potensi hasil dari tanaman cabai rawit yakni sebesar 12-20 ton/ha (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2015). Produktivitas tanaman cabai yang rendah disebabkan oleh permasalahan hama penyakit (OPT) dan tingkat kesuburan tanah rendah (Rukmana, 2002).

Salah satu OPT yang menyerang tanaman cabai rawit adalah patogen penyebab penyakit layu bakteri. Penyakit layu bakteri disebabkan oleh patogen *Ralstonia solanacearum*. Patogen ini memiliki kisaran inang yang luas dan dapat mengakibatkan kegagalan panen hingga 50 % (Zhenita, 2011). Pada wilayah tropis, penyakit layu bakteri dapat mengakibatkan hingga kegagalan panen (Alfarez *et al*., 2010). Pengendalian penyakit layu bakteri yang diterapkan oleh sebagian besar petani adalah penggunaan pestisida sintetis. Aplikasi pestisida sintetis oleh petani menggunakan dosis yang berlebihan dan secara intensif. Menurut penelitian Saputra *et al*. (2015), penggunaan pestisida sintetis tersebut dilaporkan tidak efektif. Beberapa upaya pengendalian penyakit layu bakteri dilakukan untuk meminimalkan serangan penyakit melalui praktik budidaya dan pengembangan varietas tahan, tetapi semua menunjukkan keberhasilan yang terbatas (Maji dan Chakrabartty, 2014). Keterbatasan efektivitas dari beberapa pengendalian untuk penyakit layu bakteri tetap menjadi masalah serius secara ekonomis (Hayward 1991). Untuk menghadapi tantangan tersebut diperlukan inovasi teknologi pengendalian penyakit tanaman yang lebih berlanjut. Salah satu pendekatan pengendalian yang dapat digunakan untuk menekan penyakit layu bakteri pada tanaman cabai rawit adalah melalui pendekatan Pengelolaan Hama Terpadu (PHT).

Sistem pertanian dengan prinsip PHT merupakan pengelolaan OPT dengan memadukan beberapa cara pengendalian melalui pendekatan yang lebih mengutamakan peran agroekosistem. Salah satu prinsip dalam PHT adalah pemanfaatan musuh alami untuk pengendalian OPT. Musuh alami dapat dimanfaatkan dari sumber daya hayati dalam agroekosistem berupa seleksi mikroba bermanfaat yang berperan sebagai agens pengendali untuk patogen tanaman (Hasyim *et al*., 2015). Mikroba bermanfaat tersebut dapat diseleksi dan diisolasi dari lahan pertanian organik.

Pertanian organik adalah sistem pertanian yang mendukung dan mempercepat biodiversitas, siklus biologi dan aktivitas biologi tanah (IFOAM, 2005). Dalam sistem pertanian organik, terdapat biodiversitas mikroba yang lebih tinggi dibandingkan pertanian konvensional. Pada lahan dengan sistem pertanian organik, pH tanah netral dan bahan organik yang lebih tinggi dibandingkan lahan konvensional sehingga kemungkinan berpengaruh pada peningkatan diversitas mikroba dalam tanah (Li *et al*., 2012). Dengan adanya biodiversitas mikroba pada lahan organik, dimungkinkan terdapat keragaman mikroba pada tanah dan tanaman. Mikroba yang hidup pada jaringan tanaman disebut sebagai mikroba endofit.

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang sebagian atau seluruh dari siklus hidupnya dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit bagi tanaman inang. Bakteri endofit hidup pada jaringan yang sehat seperti berbagai macam jaringan, biji, akar, batang dan daun. Tanaman mendapatkan manfaat dengan keberadaan bakteri endofit ini seperti memacu pertumbuhan tanaman dan meningkatkan resistensi tanaman dari berbagai macam patogen melalui produksi antibiotik (Bandara *et al*., 2006). Keberadaan populasi bakteri endofit pada tanaman dapat dijadikan sebagai agens pengendali hayati untuk patogen tanaman dalam upaya untuk memanfaatkan keanekaragaman mikroba yang ada pada lahan organik. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan melakukan eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit pada lahan organik untuk mengetahui bakteri yang memiliki potensi antagonis terhadap patogen *R. solanacearum*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat bakteri endofit pada akar tanaman cabai rawit organik yang berpotensi antagonis terhadap patogen *R. solanacearum* ?
2. Bagaimanakah mekanisme bakteri endofit pada akar tanaman cabai rawit organik dalam menekan pertumbuhan patogen *R. solanacearum* ?
3. Bagaimanakah karakter bakteri endofit pada akar tanaman cabai rawit organik yang berpotensi antagonis terhadap patogen *R. solanacearum* ?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini antara lain, untuk:

1. Mengkaji isolat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang berpotensi antagonis terhadap patogen *R. solanacearum*.
2. Mengetahui mekanisme bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik dalam menekan pertumbuhan patogen *R. solanacearum.*
3. Mengetahui karakter bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang berpotensi antagonis terhadap patogen *R. solanacearum.*

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan adalah terdapat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang berpotensi sebagai agens antagonis patogen *R. solanacearum.*

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian adalah mengetahui isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai agens antagonis untuk pengendalian patogen penyebab layu bakteri *R. solanacearum* pada tanaman cabai rawit secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frustescens* L.)

Menurut Simpson (2010), klasifikasi tanaman cabai rawit termasuk dalam Kingdom : Plantae, Divisi : Magnoliophita, Kelas : Magnoliopsida, Ordo : Solanales, Famili : Solanaceae, Genus : Capsicum, dan Spesies : *Capsicum frutescens* L. Menurut Alif (2017) morfologi tanaman cabai rawit terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Akar tanaman cabai rawit termasuk dalam kategori akar serabut. Akar cabai rawit terdiri atas akar primer dan akar sekunder. Batang tanaman cabai rawit berwarna hijau tua dan berkayu. Panjang batang berkisar 30-37,5 cm dan berdiameter 1,5-3 cm. Daun tanaman cabai rawit berwarna hijau dengan bentuk bulat dan agak lebar dan ujung meruncing. Bunga tanaman cabai rawit berwarna putih, kuning muda, ungu, atau tergantung varietas yang digunakan. Posisi bunga ada yang menggantung, horizontal, dan tegak. Buah cabai rawit berbentuk bulat telur, lurus, atau lengkung dengan ujung meruncing. Biji cabai rawit berbentuk bulat pipih dengan diameter 2-2,5 mm. Biji berwarna putih hingga kuning.

2.2 Syarat Tumbuh Tanaman Cabai Rawit

Menurut Cahyono (2003), keadaan iklim dan tanah merupakan komponen penting untuk menciptakan kondisi lingkungan yang sesuai agar pertumbuhan tanaman cabai rawit lebih optimal.

a. Keadaan iklim

Keadaan iklim yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman cabai rawit adalah suhu udara, kelembaban udara, curah hujan, dan cahaya matahari.

1. Suhu udara

Kisaran suhu yang sesuai bagi pertumbuhan tanaman cabai merah sekitar 18-30^{o}C. Namun demikian, tanaman cabai rawit memiliki toleransi yang tinggi terhadap suhu udara panas maupun suhu udara dingin. Suhu sangat mempengaruhi proses metabolisme tanaman dan pada akhirnya juga mempengaruhi proses pembentukan buah cabai. Pada kondisi suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah, buah cabai yang terbentuk lebih kecil sehingga dapat menurunkan produksi tanaman. Selain itu, suhu yang tidak sesuai akan

menurunkan kualitas biji yang dihasilkan sehingga juga akan berdampak pada bibit yang kurang berkualitas.

2. Kelembaban udara

Agar dapat tumbuh optimal, tanaman cabai rawit memerlukan kondisi kelembaban udara yang sesuai. Kelembaban udara yang terlalu rendah dapat menyebabkan tanaman mengalami klorosis. Tingkat kekeringan yang terlalu tinggi dapat menyebabkan tajuk menjadi layu serta daun dan buah cabai gugur sebelum waktu panen. Udara yang terlalu lembab akan menyebabkan pembusukan akar. Akar yang membusuk akan mengakibatkan tanaman menjadi layu dan mati. Kelembaban udara yang cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman cabai rawit sekitar 60 %.

3. Curah hujan

Curah hujan berpengaruh terhadap pembungaan dan pembuahan. Pada saat berbunga dan berbuah, tanaman cabai rawit tidak tahan terhadap curah hujan yang tinggi. Tanaman cabai rawit memerlukan iklim yang hangat dan kering. Intensitas hujan yang sering dapat menyebabkan bunga gugur sehingga produksi buah rendah. Selain itu, curah hujan terlalu tinggi dapat menyebabkan busuk pada buah. Sebaliknya, curah hujan yang rendah mengakibatkan terhambatnya pembuahan karena tepung sari menjadi tidak berfungsi. Agar dapat tumbuh dengan optimal, tanaman cabai rawit memerlukan kondisi curah hujan berkisar antara 600-1250 mm/tahun.

4. Cahaya matahari

Pada setiap fase pertumbuhannya, tanaman cabai rawit memerlukan intensitas penyinaran dan lama penyinaran yang berbeda. Pada masa awal pertumbuhan, tanaman memerlukan cahaya matahari dengan intensitas rendah. Penyinaran cahaya matahari secara langsung dengan intensitas besar dapat menyebabkan kematian tanaman. Oleh karena itu, pada masa awal pertumbuhan tanaman harus diberi naungan. Saat menjelang fase generatif, tanaman cabai rawit memerlukan sinar matahari penuh (tidak memerlukan naungan).

b. Tanah

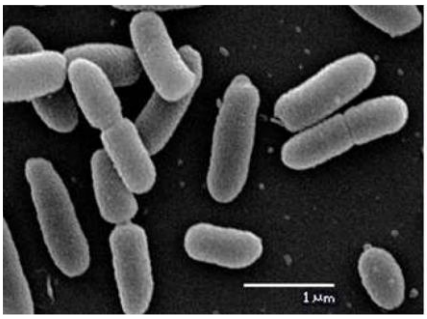
Jenis tanah yang paling cocok untuk budidaya cabai rawit adalah jenis tanah mediteran dan aluvial, dengan keadaan tanah yang memiliki solum tanah dalam,

tidak berpadas, memiliki sifat (fisik, kimia, dan biologi) yang sesuai bagi pertumbuhan tanaman. Namun, tanaman cabai rawit masih toleran apabila ditanam pada tanah berpasir sampai lempung atau liat. Agar dapat berproduksi dengan baik, tanah berpasir atau berlempung diberi penambahan pupuk organik, pengapuran, dan pengolahan tanah intensif serta pembuatan saluran drainase. Cabai rawit mampu tumbuh optimal pada tanah dengan nilai pH 5,5- 6,5. Jika pH tanah kurang dari 5,5 maka tanah dilakukan penambahan kapur pertanian. Pada pH rendah, ketersediaan beberapa unsur hara tanaman sulit diserap oleh akar tanaman, sehingga terjadi kekurangan beberapa unsur hara yang akan menurunkan produktivitas tanaman.

2.3 Penyakit Layu Bakteri

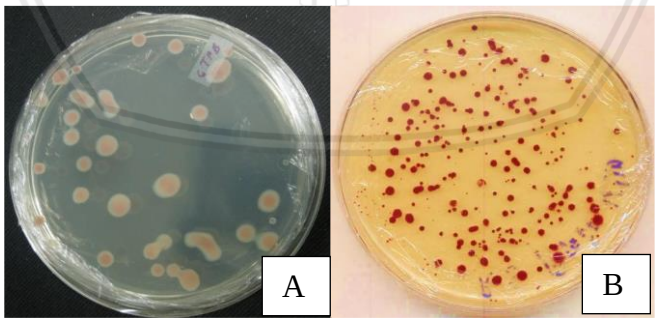
Patogen penyebab

Menurut Yabuuchi *et al*. (1995), bakteri *R. solanacearum* secara taksonomi termasuk dalam Kingdom : Bakteri, Filum : Proteobakteria, Kelas : Betaproteobakteria, Ordo : Burkholderiales, Famili : Burkholderiaceae, Genus : Ralstonia, dan Spesies : *Ralstonia solanacearum*. *R. solanacearum* termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif, morfologi sel berbentuk batang pendek, sel tunggal berukuran 0,5-1,5 µm, dan tidak membentuk spora (Gambar 1) (Sousa *et al*., 2016). Menurut Anitha *et al*. (2003) bahwa isolat bakteri yang virulen pada umumnya tidak memiliki flagel dan tidak mampu bergerak (non-mobil). Pada isolat avirulen, bakteri mampu bergerak dengan menggunakan 1-4 buah flagel polar. Tans *et al*. (2001) menyatakan bahwa flagela berfungsi untuk bergerak cepat ke arah rangsangan inang, dan kecepatan tersebut sangat menentukan virulensi bakteri pada tahap awal infeksi dan kolonisasinya pada inang.



Gambar 1. Morfologi Sel *R. solanacearum* pada Perbesaran 1 µm (Sousa *et al*., 2016)

R. solanacearum dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan sistem klasifikasi ras dan biovar. Dalam sistem ras, pengelompokan didasarkan pada ragam jenis tanaman inang. Ras bakteri *R. solanacearum* dibedakan lima jenis ras. Ras 1 memiliki inang famili Solanaceae dan inang bukan Solanaceae seperti kacang tanah, buncis, kecipir, bunga matahari, dahlia, lili, anturium, dan stroberi (CABI, 2006). Ras 2 menyerang pisang dan *Heliconia* sp.. Ras 3 pada umumnya ditemukan di dataran tinggi bersuhu dingin, terutama menyerang famili Solanaceae seperti kentang, tomat dan tanaman hias geranium. Ras 4 menyerang jahe, dan ras 5 menyerang tanaman murbei. Secara geografis, penyebaran ras 3 sangat luas meliputi seluruh dunia, menyerang beragam jenis inang meliputi tanaman budidaya dan bahkan pada tumbuhan liar. Dalam sistem biovar, identifikasi bakteri dibedakan melalui uji reaksi biokimia berdasarkan kemampuannya menggunakan karbohidrat dan oksidasi alkohol. Dalam sistem biovar, *R. solanacearum* dibedakan menjadi 5 biovar (Bv 1 hingga Bv 5). Biovar 1 bereaksi negatif terhadap tiga jenis disakarida (selobiosa, maltosa, dan laktosa) dan 3 jenis alkohol (dulsitol, manitol, dan sorbitol). Biovar 2 bereaksi positif terhadap tiga jenis disakarida dan tidak mampu mengoksidasi 3 jenis alkohol. Biovar 3 dapat mengoksidasi disakarida dan alkohol. Biovar 4 mampu mengoksidasi alkohol. Biovar 5 mampu mengoksidasi disakarida dan hanya mengoksidasi manitol (Denny dan Hayward, 2001; Tahat dan Sijam, 2010).



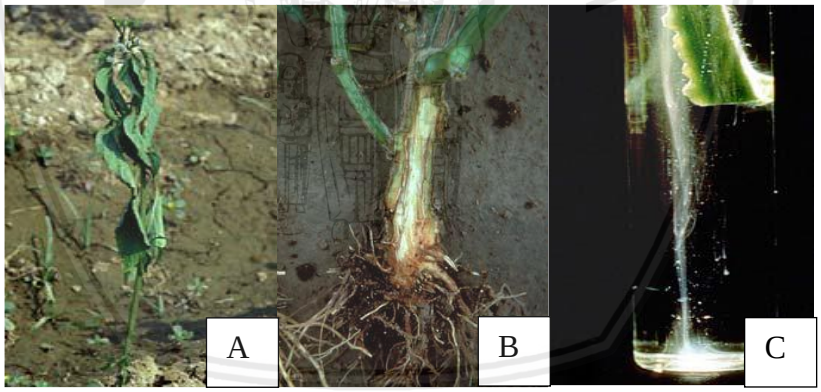
Gambar 2. Isolat Bakteri *R. solanacearum* (A) Virulen; (B) Avirulen (Kumar *et al*., 2017)

R. solanacearum dapat diisolasi dengan menumbuhkannya pada media selektif *Triphenil Tetrazolium Chloride* (TZC). Bakteri yang bersifat virulen memiliki ciri-ciri seperti bentuk koloni tidak beraturan, berlendir warna merah muda di bagian tengah, dan dikelilingi oleh lendir berwarna putih dengan elevasi

dari permukaan koloni konveks (Gambar 2A). Sedangkan koloni yang avirulen berwarna merah, tidak berlendir, bulat, dan elevasi agak menonjol (Gambar 2B) (Kumar *et al*., 2017).

Gejala penyakit layu bakteri

Gejala penyakit akibat patogen *R. solanacearum* dibedakan menjadi 2 yakni gejala eksternal dan gejala internal. Gejala eksternal ditandai dengan layu daun-daun di bagian bawah (Gambar 3A). Setelah beberapa hari seluruh daun menjadi layu permanen, sedangkan warna daun tetap hijau, kadang-kadang sedikit kekuningan (Meilin, 2014). Gejala internal terjadi pada sistem perakaran dan jaringan pembuluh pengangkutan. Pada tanaman sehat tidak ditemukan gejala diskolorasi atau kerusakan warna pada jaringan pembuluh. Jika bagian batang tanaman layu dipotong melintang, maka tampak bagian empulur dan kayu berwarna kecoklatan (Gambar 3B). Selain itu, akan muncul massa bakteri yang dari batang tanaman yang terinfeksi apabila direndam dalam akuades (Gambar 3C) (Gerkauskas, 2004).



Gambar 3. Gejala Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman Cabai (A) Gejala Layu pada Tanaman; (B) Diskolorisasi Jaringan Pembuluh Pada Batang Akibat Infeksi *R. solanacearum*; (C) Massa Bakteri yang Muncul dari Batang Tanaman yang Terinfeksi (Gerkauskas, 2004)

Siklus hidup *R. solanacearum*

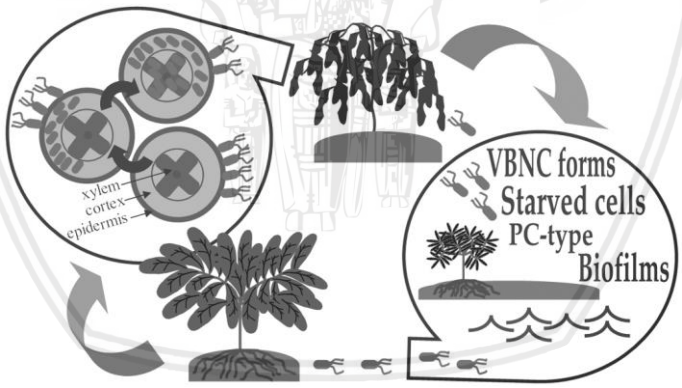
Alfarez *et al*. (2010) menjelaskan bahwa siklus hidup patogen *R. solanacearum* dalam menginfeksi tanaman inang melalui berbagai tahapan meliputi kolonisasi bakteri pada akar, infeksi kortikal, dan penetrasi jaringan xilem (Gambar 4).

1. Kolonisasi akar

Setelah melakukan lokalisasi akar tanaman inang, *R. solanacearum* dapat masuk melalui luka fisik dan atau melalui lubang alami. Kemudian bakteri melekat pada bagian akar pada zona pemanjangan akar dan akar lateral. Bakteri melekat pada bagian akar tersebut karena penghalang berupa epidermis lebih lemah pada bagian dalam jaringan. Apalagi, zona pemanjangan akar adalah tempat utama untuk eksudasi akar tanaman. Bagian bakteri yang menempel pada zona akar adalah pili. Selain itu, flagela bakteri juga ikut berperan dalam proses kolonisasi akar.

2. Infeksi kortikal pada akar

Infeksi bakteri dimulai dari bagian akar yang sebelumnya telah terdapat koloni bakteri dan bagian akar lateral sekunder. Karena terjadi infeksi oleh bakteri, maka jaringan korteks pada kedua zona ini memiliki ruang antar sel yang telah diinvasi dan mengandung bakteri. Didalam ruang antar sel, bakteri memperoleh nutrisi dari polimer pektin dari lamela tengah dengan memanfaatkan enzim pektinolitik.



Gambar 4. Siklus Hidup Bakteri Patogen *R. solanacearum* (Alfarez *et al*., 2010)

3. Infeksi jaringan vaskuler dan penetrasi xilem

Infeksi berkembang pada jaringan parenkim vaskuler yang menandakan bakteri telah melewati endodermis. Endodermis berfungsi sebagai penghalang bagi patogen karena dinding sel tersusun atas suberin dan senyawa fenolik. Oleh karena itu, bakteri membuat jalan lain agar dapat melewati endodermis. Bakteri masuk ke jaringan vaskuler melalui zona pemanjangan akar dan akar lateral. Pada zona tersebut, endodermis tidak sepenuhnya terdiferesiasi. Sedangkan pada bagian akar lateral mudah untuk dimasuki patogen karena tempat eksudasi akar. *R.*

solanacearum menginfeksi ruang interselular parenkim vaskular yang berdekatan dengan pembuluh xilem, yang akhirnya juga diinvasi bakteri. Kemudian bakteri patogen menembus dan mengisi pembuluh xilem. Dinding sel dihancurkan oleh enzim hidrolitik yang disekresikan oleh *R. solanacearum*. Dalam pembuluh xilem, patogen bergerak di seluruh batang ke bagian atas tanaman.

Meskipun motilitas bisa membantu patogen menyebar dari pembuluh yang terinfeksi ke jaringan dalam tanaman inang, *R. solanacearum* bersifat non-motil dalam pembuluh xilem. Penggandaan ekstensif dan produksi EPS menyebabkan penyumbatan pembuluh xilem mengakibatkan tanaman layu. Tanaman dengan gejala infeksi berat lama kelamaan akan mati. Bakteri *R. solanacearum* menyebar ke tanah dan hidup saprofit dalam tanah atau air kemudian bakteri menginfeksi tanaman inang lain.

Faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit layu bakteri

Terjadinya penyakit pada tanaman dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu adanya patogen yang virulen, lingkungan yang mendukung perkembangan patogen, dan tanaman inang yang rentan (Sopialena, 2017). Tingkat virulensi bakteri *R. solanacearum* akan menunjang perkembangan bakteri sehingga menimbulkan gejala serangan yang cukup parah. Menurut Goto (1992), dalam proses infeksi bakteri terhadap tanaman ada beberapa faktor virulen yang diproduksi oleh bakteri diantaranya enzim pendegradasi dinding sel dan senyawa ekstraselular polisakarida (EPS) (Genin dan Boucher, 2002). EPS dapat mengurangi fungsi sistem pembuluh angkut (xilem), dengan menghambat aliran air sehingga mengakibatkan kelayuan (*wilting*) tanaman.

Faktor lingkungan yang mempengaruhi perkembangan bakteri yaitu suhu dan kelembaban. Bakteri berkembang baik pada suhu dan kelembaban yang tinggi. Suhu optimum untuk perkembangan bakteri *R. solanacearum* sekitar 27-37^{o}C, sedangkan pada suhu 15^{o}C bakteri tidak berkembang (Yadi dan Rais, 2009). Berdasarkan penelitian Yuliastuti *et al*. (2018), kelembaban yang sesuai untuk perkembangan bakteri *R. solanacearum* adalah 86 %. Selain itu, faktor tanaman juga mempengaruhi perkembangan patogen. Tingkat ketahanan suatu kultivar tanaman tidak tetap, tapi dipengaruhi oleh virulensi dan patogenisitas patogen yang dapat berubah cepat yang dapat mematikan jaringan tumbuhan. Tingkat

ketahanan tanaman dapat dibagi menjadi dua, yaitu ketahanan terhadap penyakit yang dikendalikan secara genetik dan ketahanan tanaman setelah adanya rangsangan dari patogen sehingga tanaman toleran terhadap penyakit yang diakibatkan oleh patogen (Semangun, 1996).

Pengendalian penyakit layu bakteri

Menurut Rahayu (2013), pengendalian penyakit layu bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti penggunaan varietas tahan, penggunaan benih sehat, pergiliran tanaman, dan pengendalian kimiawi, dan pengendalian hayati.

a. Penggunaan varietas tahan

Penggunaan varietas tahan merupakan langkah yang praktis dalam pengendalian penyakit layu bakteri. Namun, seringkali varietas tahan yang dikembangkan di suatu daerah menjadi rentan apabila ditanam di daerah lain. Perubahan ketahanan tersebut diakibatkan oleh perbedaan strain atau perbedaan lingkungan sehingga sifat ketahanan tidak muncul.

b. Penggunaan benih sehat

R. solanacearum dapat terbawa dalam benih cabai, maka penularannya melalui benih berpotensi merugikan untuk areal tanam yang semula tidak terdapat kejadian penyakit layu. Oleh karena itu di areal tanam yang bersih dari penyakit layu, diperlukan benih sehat tidak membawa patogen. Agarwal dan Sinclair (1997) menyatakan bahwa pengujian kesehatan benih sangat diperlukan untuk mendapatkan jaminan mutu patologis bahwa benih tidak membawa sumber penyakit, atau untuk memperkecil peluang penyebaran penyakit melalui benih.

c. Pergiliran tanaman

Rotasi tanaman cabai dengan tanaman selain inang seperti kedelai, dan serealia (padi, jagung, sorgum, gandum, tebu) dapat memutus siklus perkembangan *R. solanacearum* di lahan setempat sehingga mengurangi kejadian penyakit layu. Sebaliknya, budidaya intensif cabai ataupun inang lainnya akan meningkatkan populasi bakteri di tanah. Manfaat rotasi dalam mengendalikan *R. solanacearum* ditunjukkan Adhikari dan Basnyat (1998) pada penelitian tomat varietas rentan yang ditanam di lahan bekas jagung dan kacang tunggak, ternyata dapat menunda 1-3 minggu munculnya gejala layu dan menekan intensitas penyakit 20-26%.

d. Pengendalian kimiawi

Pengendalian kimiawi umumnya diterapkan pada tanaman hortikultura. Pengendalian penyakit layu bakteri dapat menggunakan bakterisida. Bakterisida yang digunakan seperti streptomisin sulfat. Bakterisida ini mampu mengendalikan penyakit layu bakteri pada nilam, tomat, dan cabai. Antibiotik streptomisin sulfat cukup efektif dalam menekan penyakit layu bakteri pada nilam (Asman dan Sitepu, 1998).

e. Pengendalian hayati

Beberapa mikroba antagonis telah dilaporkan mampu berperan sebagai agens pengendali hayati *R. solanacearum*. Bakteri antagonis seperti *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* sp. berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman sehat dan efektif menekan patogen *R. solanacearum* (Rahayu, 2013).

2.4 Bakteri Endofit

Bakteri endofit yaitu mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dan akan bersaing dengan patogen serta keberadaannya dalam jaringan tanaman tidak membahayakan inangnya (Hayward, 1994; Tan dan Zou, 2001). Bakteri endofit berasal dari lingkungan dan masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, dan luka melalui akar lateral (Kaga *et al*., 2009). Penggunaan bakteri endofit yang bersifat antagonis ini memiliki kelebihan dibanding dengan penggunaan mikroba antagonis lain yakni bakteri endofit sudah terbentuk dalam tanaman yang akan tetap bertahan selama perkembangan tanaman dan memberikan perlindungan bagi tanaman (Hayward, 1994). Salah satu jenis bakteri endofit yang berperan sebagai agens antagonis patogen tanaman adalah bakteri antagonis. Bakteri antagonis dapat menginduksi resistensi tanaman terhadap patogen dengan cara mengaktifkan lintasan sinyal dan melibatkan hormon asam jasmoik dan etilen tanaman. (Nurhayati, 2011).

Mekanisme penghambatan bakteri endofit terhadap patogen

Sturz (2006), menyatakan bahwa bakteri endofit ditemukan mampu melawan invasi fitopatogen. Adapun empat mekanisme penghambatan bakteri terhadap patogen sebagai berikut:

a. Kompetisi sumber daya (unsur hara)

Sebagai contoh siderofor (*chelator*), dihasilkan oleh bakteri untuk bersaing memanfaatkan unsur-unsur mineral spesifik sehingga dapat menghambat patogen tanaman untuk memenuhi unsur tersebut.

b. Antibiosis

Bakteri mampu memproduksi metabolit antibakteri, antijamur dan antinematoda. Beberapa antibiotik telah diidentifikasi, seperti yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp. menghasilkan antibiotik *phenazine*, *Agrobacterium* sp. memproduksi *agrocin* 84, dan *xanthobacin* yang dihasilkan oleh *Stenotrophomonas* sp..

c. Aktivitas enzim litik

Bakteri mendegradasi dinding sel patogen atau mengakibatkan gangguan pada bagian-bagian tertentu. Sebagai contoh enzim kitinase yang diproduksi oleh *Serratia plymuthica* dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan spora dan elongasi jaringan (*germ tube*) pada *Botrytis cinerea*. Sedangkan enzim ß-1,3-glucanase yang disintesis dari *Paenibacillus* sp. dan *Streptomyces* sp. menyebabkan lisis pada dinding sel jamur *Fusarium oxysporum*.

d. Sistem resistensi pada tanaman

Bakteri mempengaruhi gen ketahanan dengan melalui produksi jasmonat. Hormon ini dapat memicu signal pertahanan tanaman dengan menghasilkan gen-gen yang berhubungan dengan pertahanan tanaman untuk induksi resistensi terhadap patogen (De Vos *et al*., 2005).

Bakteri endofit pada tanaman cabai

Dalam penelitian Fitriyah (2015) bakteri endofit pada tanaman cabai merah telah berhasil diisolasi. Dari 109 isolat, 8 isolat mampu menekan perkembangan patogen tanaman *Colletotrichum* sp. Berdasarkan karakterisasi dan identifikasi isolat menunjukkan bahwa isolat merupakan bakteri dari genus *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Sedangkan pada penelitian Yanti *et al*. (2018), semua isolat bakteri endofit tanaman cabai yang berhasil diisolasi mampu menekan penyakit layu akibat patogen *Ralstonia* dan *Fusarium*. Setelah dilakukan identifikasi, semua isolat termasuk dalam genus *Bacillus*. *Bacillus* merupakan agen pengendali hayati yang banyak digunakan untuk pengendalian patogen tular tanah (Zhang, 2009).

Bakteri dari genus *Pseudomonas* merupakan bakteri endofit yang berperan sebagai agen biokontrol pada tanaman, agen fitoremediasi, dan pemacu pertumbuhan tanaman (Ryan *et al*., 2008). Haas dan Devago (2005) menyebutkan bahwa *Pseudomonas* sp. dapat mengeluarkan senyawa antibiotik, siderofor, dan metabolit sekunder lainnya yang sifatnya dapat menghambat aktivitas patogen.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang mulai bulan Januari sampai Juni 2019.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu: *coolbox*, timbangan analitik, penggaris, *autoclave tipe HL-36 Ae Hirayama*, *laminar air flow cabinet* (LAFC) tipe H.S. 079S, vorteks, jarum ose, cawan Petri diameter 9 mm, mikroskop kamera *Olympus Szx7 series*, panci, pinset, Bunsen, rak tabung reaksi, mortar, pistil, mikropipet Vitlab dig 100-1000 µl, *mikrotube*, tip, kaca objek, jarum suntik, batang pengaduk, gunting, *cutter*, botol media, tabung Erlenmeyer, *beaker glass*, *stick* L, *sprayer*, tabung reaksi, plastik *wrap*, kompor listrik, *freezer*, pipet, kamera, pH meter, dan pelubang kertas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu: akar tanaman cabai rawit organik, isolat *R. solanacearum*, label, media *Nutrient Agar* (NA), media Oksidatif Fermentatif (1 L air dibutuhkan Pepton 2 g, NaCl 5 g, KH_2PO_4 0,3 g, dan bromtimolblue 1 % sebanyak 3 ml), media *Yeast Dextrose Agar* (YDC)(yeast 10 g, glukosa 20 g, $CaCO_3$ 20 g, dan agar 15 g), media King's B (1 L air dibutuhkan Pepton 20 g, KH_2PO_4 1,5 g, $MgSO_4.7H_2O$ 1,5 g, gliserol 15 ml, agar 15 g), media *Nutrient Broth* (NB), *malachyte green*, minyak imersi, parafin cair, alumunium foil, iodin, safranin, kristal violet 5 %, bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat 2 ml/l, kertas saring, kloroform, akuades steril, spiritus, alkohol 70 %, alkohol 96 %, larutan H_2O_2, KOH 3 %, dan NaOCl 5 %, plastik, tisu steril, tanaman cabai rawit varietas Bhaskara dan tanaman tembakau.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu: 1) Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik; 2) Persiapan bakteri patogen *R. solanacearum*; 3) Seleksi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*; 4) Uji antagonis isolat bakteri

endofit dari akar tanaman cabai rawit organik terhadap patogen *R. solanacearum*; 5) Karakterisasi dan identifikasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Eksplorasi bakteri endofit

Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik meliputi berbagai tahapan yakni pembuatan media, pengambilan sampel, dan isolasi serta purifikasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik.

1. Pembuatan media

Media NA sebanyak 10 g dibuat dengan melarutkannya ke dalam 500 ml akuades steril dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk, kemudian dituangkan ke dalam botol media. Botol kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada temperatur 121^{o}C selama 2 jam.

2. Pengambilan sampel

Metode pengambilan sampel dengan mengacu pada Amaresan *et al*. (2014) dengan beberapa modifikasi. Sampel akar diambil dari pertanian organik cabai rawit dari CV Kurnia Kitri Ayu Farm, Kecamatan Sukun, Kota Malang. Tanaman sampel yang dipilih adalah tanaman cabai rawit yang sehat dan diambil bagian akar aktif. Kemudian sampel akar dikumpulkan dan dimasukkan dalam kantong plastik yang steril dan siap untuk dilakukan isolasi sampel dalam laboratorium.

3. Isolasi dan purifikasi bakteri endofit akar tanaman cabai rawit organik

Metode pada sterilisasi sampel berdasarkan (Balosi *et al*., 2014) yang telah dimodifikasi. Sampel akar tanaman cabai rawit dicuci dengan air mengalir. Sampel akar diambil sebanyak 5 g. Sterilisasi sampel dilakukan dengan perendaman NaOCl 5 % selama 3 menit, alkohol 70 % selama 2 menit, dan akuades steril sebanyak 4 kali. Setelah itu, sampel ditiriskan pada tisu steril. Kemudian sampel dipotong dengan ukuran ± 1 cm. Sebagai kontrol, air akuades rendaman terakhir sebanyak 100 µl ditanam pada media NA. Sterilisasi permukaan sampel dapat dikatakan berhasil apabila tidak tumbuh mikroba pada media NA.

Metode isolasi bakteri yang digunakan berdasarkan (Munif *et al*., 2012) dengan beberapa modifikasi. Metode isolasi bakteri dilakukan dengan metode

pengenceran bertingkat. Sampel akar ditumbuk hingga halus dengan ditambahkan akuades steril. 1 ml suspensi akar cabai rawit dimasukkan ke tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril dan dihomogenkan dengan vorteks selama 5 menit. Setelah itu, dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} hingga 10^{-5}. Pengenceran dilakukan dengan memasukkan 1 ml suspensi akar ke dalam 9 ml akuades steril. Setiap pengenceran bertingkat dilakukan pengocokan. Pada masing-masing pengenceran sebanyak 0,1 ml suspensi disebar dalam cawan Petri yang berisi media NA. Suspensi kemudian diratakan dengan *stick* L. Setelah itu, cawan Petri kemudian dibungkus dengan platik wrap dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang.

Pemurnian isolat dilakukan dengan metode gores (*streak plate*). Koloni yang menunjukkan morfologi yang berbeda diambil dan digoreskan pada media NA steril. Isolat bakteri kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri diamati untuk mengetahui bakteri tumbuh seragam atau masih tercampur dengan koloni bakteri lain. Apabila masih terdapat koloni lain dalam cawan Petri maka dilakukan pemisahan hingga diperoleh kultur murni.

Persiapan bakteri patogen *R. solanacearum*

Bakteri patogen *R. solanacearum* diperoleh dari koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Persiapan bakteri patogen *R. solanacearum* melalui 2 tahapan yakni peremajaan isolat bakteri *R. solanacearum* dan uji patogenisitas. Peremajaan berdasarkan Inggriani *et al*. (2014). Jarum ose yang akan digunakan untuk mengambil isolat dipanaskan diatas Bunsen. Setelah itu, isolat bakteri *R. solanacearum* diambil 1 ose dan digoreskan pada media NA, lalu dibungkus dengan plastik wrap. Isolat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Uji patogenisitas berdasarkan metode Nasrun *et al*. (2007) dengan modifikasi, isolat diinokulasikan ke tanaman cabai rawit varietas Bhaskara berumur 2 minggu setelah tanam. Sebanyak 10 ose bakteri patogen dilarutkan dengan NB sebanyak 125 ml dan suspensi dihomogenkan dan dishaker selama 2 hari dengan kecepatan 200 rpm. Kemudian, tanaman cabai rawit dilukai bagian pangkal akar dan dinokulasi bakteri *R. solanacearum* dengan cara penyiraman. Apabila setelah beberapa hari timbul gejala layu maka reaksi dinyatakan positif. Gejala serangan lain ditandai dengan jaringan batang yang mengalami

diskolorisasi warna menjadi kecoklatan. Selain itu, apabila batang tanaman yang terinfeksi direndam dalam akuades steril muncul seperti asap berwarna putih menandakan massa bakteri yang keluar.

Seleksi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*

Uji antagonis dilakukan dengan menyeleksi isolat bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis terhadap *R. solanacearum* secara invitro. Uji antagonis dilakukan dengan menggunakan metode *spray* (pengkabutan) (Kawaguchi *et al*., 2008) yang telah dimodifikasi. Isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 ose untuk dibuat suspensi. Bakteri dimasukkan dalam akuades 1 ml dan kemudian dihomogenkan. Kertas saring dengan diameter 5 mm yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam suspensi selama 2 menit dan ditiriskan selama 2 jam. Kertas saring dimasukkan ke dalam media NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

Pengamatan dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri di sekitar kertas saring. Apabila bakteri telah tumbuh, maka tutup cawan petri ditetesi kloroform 500 µl menggunakan mikropipet dalam keadaan terbalik. Kemudian dibiarkan selama 1 jam. Pada permukaan biakan bakteri diberi suspensi bakteri patogen *R. solanacearum* dengan cara pengkabutan. Suspensi bakteri patogen dibuat dengan mengambil 5 ose dan melarutkannya dengan 10 ml akuades steril dalam *sprayer*. Suspensi kemudian disemprotkan pada permukaan cawan yang telah terdapat biakan bakteri endofit. Biakan bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang kemudian dilakukan pengukuran zona hambat. Selanjutnya diameter zona bening diukur dengan penggaris.

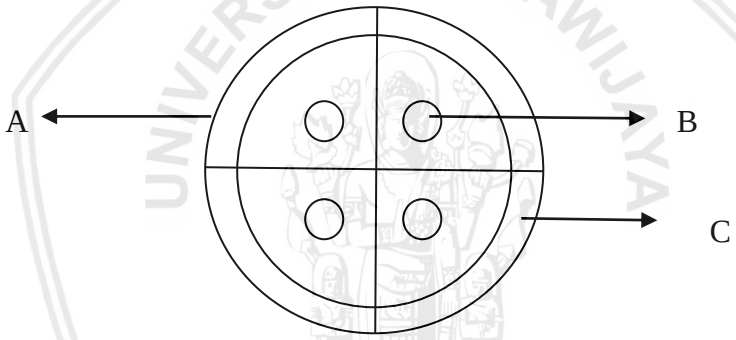
Uji antagonis isolat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik terhadap *R. solanacearum*

Uji antagonis isolat bakteri endofit menggunakan metode sama seperti pada seleksi bakteri yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* (Gambar 5). Lima isolat terbaik dengan diameter zona hambat tertinggi dan memunculkan zona bening dengan jelas dari seleksi bakteri antagonis dipilih untuk pengujian antagonis. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan terdiri dari 5 isolat bakteri endofit

terpilih dan 2 kontrol (Tabel 1). Kontrol terdiri dari kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif dengan menggunakan bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat. Sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades steril.

Tabel 1. Perlakuan Uji Antagonis Bakteri Terpilih Hasil Seleksi terhadap *R. solanacearum* secara *In vitro*

No.	Perlakuan
1.	Isolat C3
2.	Isolat C4
3.	Isolat C5
4.	Isolat C6
5.	Isolat D1
6.	Bakterisida
7.	Kontrol



Gambar 5. Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap *R. solanacearum* dengan Metode *Spray* pada Media NA (Kawaguchi *et al*., 2008), Keterangan: (A) Cawan Petri; (B) Kertas Saring yang telah Direndam Suspensi Bakteri Endofit; (C) Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Karakterisasi dan identifikasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*

Karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri endofit dilakukan dengan mengamati kenampakan makroskopis berdasarkan pigmentasi, bentuk, tepian koloni dan elevasi (Waluyo, 2016). Karakterisasi dan identifikasi bakteri juga dilakukan dengan uji fisiologi dan biokimia. Identifikasi mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994) dan (Schaad *et al*., 2001). Bagan alir identifikasi bakteri ditunjukkan pada Gambar 6 dan Gambar 7. Tahapan uji fisiologi dan biokimia bakteri sebagai berikut:

a. Uji hipersensitif

Bakteri ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Bakteri diambil dengan jarum ose dan dibuat menjadi suspensi ke dalam akuades steril. Uji dimulai dengan menginfeksi daun tembakau dengan suspensi bakteri secara perlahan sehingga suspensi menyebar ke dalam jaringan daun tembakau. Apabila timbul gejala nekrosis setelah 24-72 jam setelah inokulasi maka uji dinyatakan positif.

b. Uji Gram

Dalam uji gram bakteri dapat dilakukan dengan dua metode yakni melalui pengujian reaksi KOH dan pewarnaan Gram.

1. Pengujian reaksi KOH

Biakan murni bakteri berumur 24 jam disuspensikan diatas gelas objek yang telah ditetesi KOH 3 %. Preparat yang sudah ditetesi KOH 3 % dan suspensi bakteri diaduk menggunakan jarum ose lalu ditarik keatas. Bakteri Gram negatif akan menunjukkan adanya lendir apabila jarum ose ditarik keatas. Sedangkan bakteri Gram positif apabila jarum diangkat ke atas tidak berlendir.

2. Pewarnaan Gram

Satu jarum ose isolat bakteri digoreskan pada preparat steril lalu ditambahkan akuades steril secara merata. Bagian bawah preparat dilewatkan di atas Bunsen dengan tujuan untuk mengeringkan seluruh bagian preparat. Selanjutnya preparat ditetesi larutan kristal violet 5 % sebanyak 1 tetes dan didiamkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan kemudian difiksasi diatas Bunsen. Selanjutnya preparat ditetesi dengan iodin 1 tetes dan diratakan serta diamkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan diatas Bunsen. Langkah selanjutnya, preparat ditetesi dengan alkohol 96 % sampai zat warna ungu dari kristal violet tidak terlihat, dicuci, dan dikeringanginkan diatas Bunsen. Pada tahap terakhir preparat ditetesi safranin 0,1 % dan dibiarkan selama 20 detik, dicuci dengan air mengalir, dikeringanginkan. Sediaan diamati di bawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan menunjukkan warna merah.

c. Uji oksidatif-fermentatif

Bahan-bahan untuk media sebelumnya dilarutkan dengan akuades dan diukur hingga pH 7,1. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml kemudian disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121^{o}C selama 2 jam. Setelah dingin ditambahkan 0,5 ml glukosa 10 % yang telah disterilkan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan 2 tabung. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media kemudian ditutup dengan parafin sebanyak 2 ml untuk uji fermentatif, sedangkan untuk uji oksidatif tidak ditutup dengan parafin cair. Jika terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung yang ditutup parafin cair maka pertumbuhan bakteri tergolong fermentatif. Apabila tidak terjadi perubahan warna maka pertumbuhan bakteri tergolong oksidatif. Kedua tabung diinkubasi selama 7 hari.

d. Uji katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Enzim katalase berfungsi untuk mengkatalis penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Pengujian aktivitas enzim katalase dimulai dengan mengambil 1 ose bakteri kemudian diletakkan diatas kaca objek yang telah steril. Hidrogen peroksida diteteskan 1 tetes pada gelas objek yang telah terdapat bakteri. Apabila terbentuk gelembung udara, maka uji katalase dinyatakan positif.

e. Pengecatan spora

Pengujian pembentukan spora dilakukan untuk mengetahui keberadaan endospora pada sel bakteri. Langkah dalam pengujian pembentukan endospora bakteri adalah pembuatan suspensi dari isolat bakteri berumur 24 jam. Suspensi dibuat dengan mengambil satu ose bakteri dan diletakkan pada gelas objek. Kemudian ose bakteri pada gelas objek ditambahkan akuades. Selanjutnya, isolat bakteri difiksasi di atas Bunsen. Suspensi ditetesi *malachyte green* sebanyak 2 tetes dan diratakan. Bakteri kemudian difiksasi diatas Bunsen selama 10 menit, ditetesi safranin dan dibiarkan selama 30 detik. Gelas objek kemudian dibilas dengan akuades. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi. Apabila bakteri uji mampu

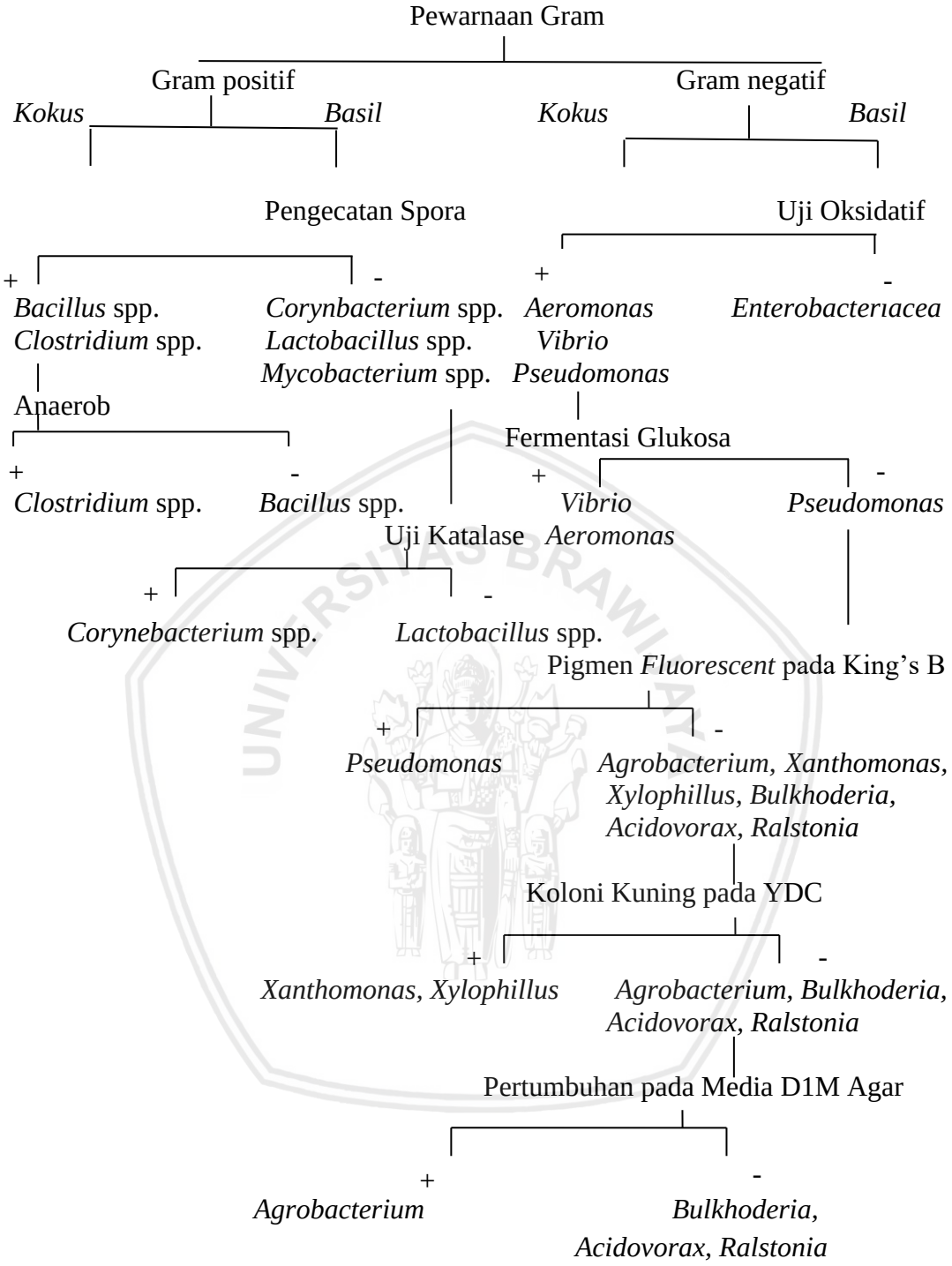
membentuk spora maka akan nampak spora berwarna hijau dan sel vegetatifnya akan nampak berwarna merah.

f. Pigmen *fluorescent* pada media King's B

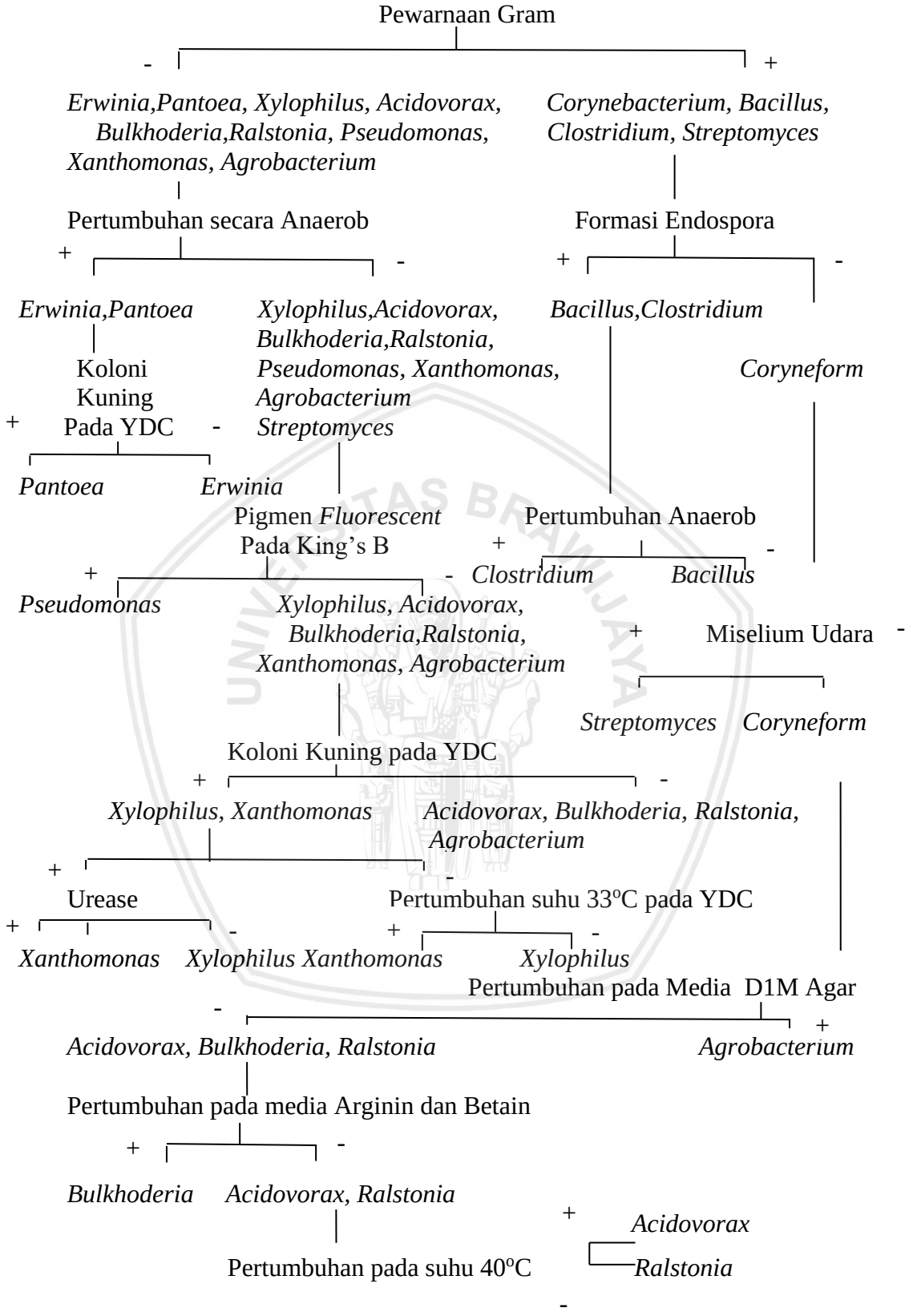
Isolat bakteri ditumbuhkan pada media King's B dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh kemudian diamati dibawah sinar UV. Reaksi positif ditunjukkan dengan koloni yang tampak berpendar dan ditandai dengan terbentuknya pigmen berwarna biru atau hijau. Bakteri yang menunjukkan reaksi positif tergolong bakteri penghasil pigmen *fluorescent*. Sedangkan reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak adanya koloni bakteri yang berpendar sehingga bakteri bukan tergolong kelompok yang memiliki pigmen *flourescent*.

g. Pertumbuhan koloni kuning pada media YDC

Pengujian pada media selektif YDC bertujuan untuk mengetahui bakteri yang tumbuh secara anaerob termasuk dalam genus *Erwinia* atau *Pantoea*. Apabila koloni yang tumbuh pada media berwarna kuning maka bakteri termasuk dalam genus *Pantoea*. Bakteri yang tumbuh berwarna putih maka termasuk dalam genus *Erwinia.* Sedangkan bakteri yang tumbuh secara aerob maka uji pada media YDC digunakan untuk membedakan bakteri termasuk genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas* dengan genus lain. Apabila bakteri yang tumbuh berwarna kuning maka termasuk dalam genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas*. Isolat bakteri dibiakkan pada media YDC dan diinkubasi pada suhu 30^{o}C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat warna koloni yang tumbuh setelah inkubasi.



Gambar 6. Bagan Alir Identifikasi Bakteri hingga Tingkat Genus (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*) (Holt *et al*., 1994)



Gambar 7. Bagan Alir Identifikasi Bakteri Patogen Tumbuhan hingga Tingkat Genus (Schaad *et al*., 2001)

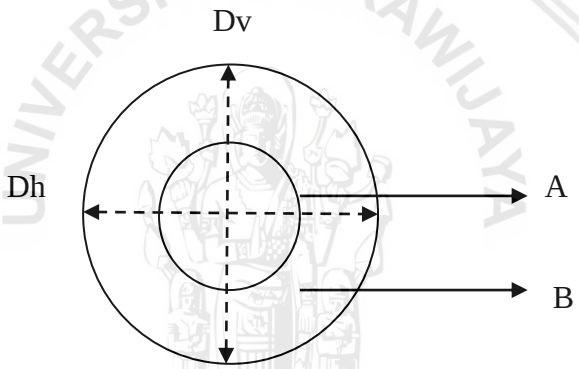
3.5 Variabel Pengamatan

Pengukuran zona hambat bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solanacearum*

Zona hambat adalah tempat dimana bakteri terhambat pertumbuhannya akibat antibakteri atau antimikroba (Pelczar dan Chan, 1986). Diameter zona hambat diketahui dengan mengukur zona bening di sekitar kertas saring (Gambar 8). Pengukuran zona hambat dilakukan dengan cara mengukur diameter zona bening yang muncul setelah diinkubasi selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Diameter zona hambat dapat dihitung dengan mengacu Purnawati (2013):

Diameter Zona Hambat :

$$= \frac{Dv + Dh}{2}$$



Gambar 8. Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri Antagonis (Purnawati, 2013)

Keterangan:

Dv adalah diameter vertikal (mm)
Dh adalah diameter horizontal (mm)
A adalah kertas saring
B adalah bakteri patogen

Menurut Davis dan Stout (1971), kategori diameter zona hambat disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat	Kategori
> 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

Karakterisasi dan identifikasi bakteri endofit berdasarkan morfologi, uji fisiologi dan biokimia

Identifikasi berdasarkan morfologi bakteri dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi makroskopis dengan mengamati secara visual dari kenampakan pigmentasi, bentuk, tepian koloni dan elevasi. Sedangkan identifikasi bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan mengamati sel bakteri dengan uji gram dan pengecatan spora. Pada uji gram, kenampakan bakteri dlilihat dari bentuk dan warna sel dibawah mikroskop dengan perbesaran tertentu. Pada uji pengecatan spora dilakukan pengamatan bentuk sel dan endospora yang dihasilkan bakteri dibawah mikroskop. Sedangkan pada uji fisiologi dan biokimia dilakukan dengan melakukan berbagai pengujian. Uji fisiologi bertujuan untuk untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan aktivitas selnya (Hadioetomo, 1993). Sedangkan uji biokimia digunakan untuk mengetahui aktivitas biokimia atau metabolisme bakteri (Sari, 2014). Uji fisiologi dan biokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji hipersensitif, uji gram, uji oksidatif fermentatif, uji katalase, dan pengecatan spora, pigmen *fluorescent* pada media King's B, dan pertumbuhan koloni kuning pada media YDC.

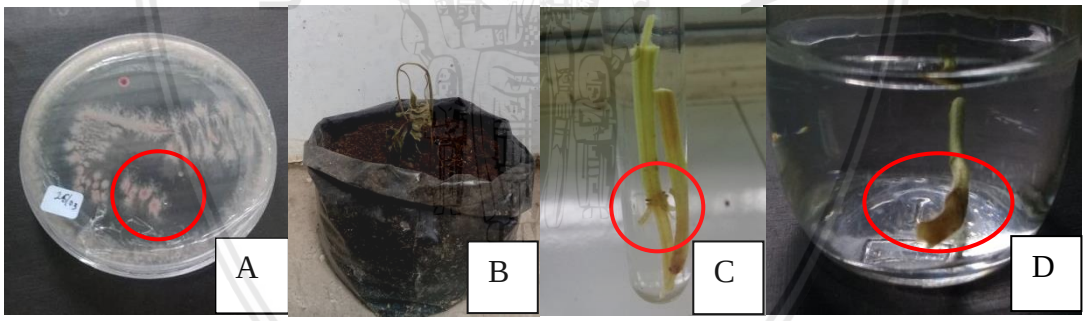
3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji antagonis bakteri endofit terpilih terhadap patogen *R. solanacearum* dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kesalahan 5 % melalui aplikasi Microsoft Excel. Untuk mengetahui perbedaan nyata diantara perlakuan maka dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kesalahan 5 %.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas isolat *R. solanacearum* dilakukan untuk mengetahui virulensi patogen terhadap tanaman inang. Isolat yang digunakan untuk uji patogenisitas adalah isolat yang virulen. Isolat *R. solanacearum* yang virulen adalah isolat yang memiliki warna koloni putih dengan bagian tengah berwarna merah (Gambar 9A). Hasil uji patogenisitas isolat *R. solanacearum* pada tanaman cabai rawit dinyatakan positif. Hal tersebut ditandai berupa gejala layu pada bagian daun tanaman cabai rawit. Gejala muncul pada 3 hari setelah inokulasi. Daun bagian bawah tampak layu dan terkulai. Pada 14 hari setelah inokulasi, daun tanaman mengering dan mati (Gambar 9B). Selain itu, batang tanaman terinfeksi menunjukkan gejala diskolorisasi jaringan pembuluh pada batang menjadi kecoklatan (Gambar 9C). Setelah bagian pangkal batang dibelah dan direndam dalam akuades muncul massa bakteri yang keluar seperti asap dengan warna putih (Gambar 9D).



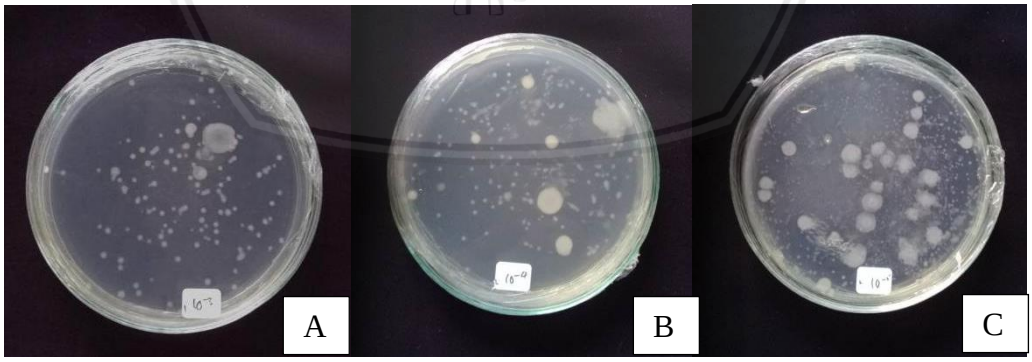
Gambar 9. Hasil Uji Patogenisitas (A) Isolat *R. solanacearum* Pada Media TZC; (B) Gejala Layu Tanaman Cabai Rawit pada 14 Hari Setelah Inokulasi; (C) Diskolorisasi Jaringan Pembuluh Batang; (D) Massa Bakteri pada Bagian Pangkal Batang Tanaman Cabai Rawit yang Direndam dalam Akuades Steril

Menurut Rahayu (2013), gejala serangan *R. solanacearum* adalah layu pada daun-daun bagian bawah. Selanjutnya gejala berupa daun yang telah layu berubah menjadi kecoklatan, batang lunglai, dan kemudian tanaman mengering. Apabila batang atau akar tersebut dipotong melintang dan direndam dalam air jernih akan keluar cairan keruh dari koloni bakteri yang melayang dalam air menyerupai kepulan asap. Gejala penyakit ini akan sama pada tanaman dalam fase

pertumbuhan generatif. Kerusakan warna pada pembuluh batang umumnya disertai tekstur lunak dan basah, dan kondisi demikian merupakan penciri adanya bakteri. Diskolorasi jaringan pembuluh hanya sebagai salah satu indikasi adanya deposit senyawa ekstraseluler dari bakteri jenis virulen. Isolat yang telah diuji patogenisitas dan hasilnya positif selanjutnya digunakan untuk seleksi dan uji antagonis.

4.2 Hasil Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit

Hasil eksplorasi bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman cabai rawit pada lahan organik diperoleh 38 isolat bakteri perbedaan morfologi (Gambar 10). Menurut Xia *et al*. (2015), bakteri endofit yang diisolasi dari lahan organik memiliki kelimpahan relatif yang lebih tinggi dibanding konvensional. Hal tersebut karena pada lahan organik mengandung bahan organik untuk pertumbuhan mikroba tanah. Bakteri endofit berasal dari populasi bakteri rizosfer. Bakteri endofit akan mengkolonisasi masuk ke jaringan tanaman. Faktor lain yang mempengaruhi peningkatan kelimpahan mikroba endofit adalah pH tanah. Pada lahan dengan pengelolaan organik memiliki nilai pH yang lebih tinggi dibanding lahan konvensional yang berkaitan dengan kelimpahan dan keenekaragaman bakteri endofit. Bakteri endofit hasil eksplorasi selanjutnya digunakan untuk seleksi antagonis terhadap *R. solanacearum*.



Gambar 10. Hasil Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit Organik pada 60 HST (A) Pengenceran 10^{-3}; (B) Pengenceran 10^{-4}; (C) Pengenceran 10^{-5}

4.3 Hasil Seleksi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit Organik yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Berdasarkan hasil eksplorasi, terdapat 38 isolat bakteri yang selanjutnya dilakukan seleksi kemampuan antagonisnya dalam menghambat *R. solanacearum*. Daya antagonis ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang dihasilkan bakteri antagonis. Zona hambat berupa area bening yang tidak ditumbuhi bakteri patogen (Gambar Lampiran 2). Menurut Harmita dan Radji (2008), zona hambat adalah area jernih yang mengelilingi kertas saring yang telah direndam antimikroba.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat yang Dihasilkan Bakteri Endofit terhadap Patogen *R. solanacearum* secara *In vitro*

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (cm)
1.	A4	0,51
2.	A6	0,77
3.	C3	1,6*
4.	C4	1,44*
5.	C5	1,49*
6.	C6	1,39*
7.	D1	1,61*
8.	D3	0,78

Keterangan: Tanda* menunjukkan bakteri endofit terpilih untuk pengujian antagonis terhadap *R. solanacearum*

Dari 38 isolat bakteri yang berhasil diisolasi, 8 isolat mampu menghambat *R. solanacearum* (Tabel 3). Isolat dengan kode A4, A6, dan D3 isolat termasuk dalam kategori sedang (5-10 mm) dalam menghambat patogen *R. solanacearum* dan isolat dengan kode C3, C4, C5, C6 dan D1 termasuk dalam kategori kuat (10-20 mm) dalam menghambat patogen *R. solanacearum* (Tabel 2). Isolat dengan diameter zona hambat tertinggi adalah isolat kode D1. Isolat dengan diameter zona hambat terendah adalah isolat dengan kode A4. Menurut Pelczar dan Chan (2008), semakin besar zona bening yang dihasilkan, maka semakin besar aktivitas penghambatan bakteri antagonis terhadap bakteri patogen. Dari 8 isolat yang mampu menghasilkan zona hambat dipilih 5 isolat dengan zona hambat tertinggi dan zona hambat paling jelas berupa area bening di sekitar kertas saring yang dipilih untuk pengujian antagonis yakni isolat kode C3, C4, C5, C6 dan D1 (Gambar Lampiran 2).

4.4 Hasil Pengujian Antagonis Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Cabai Rawit Organik terhadap *R. solanacearum*

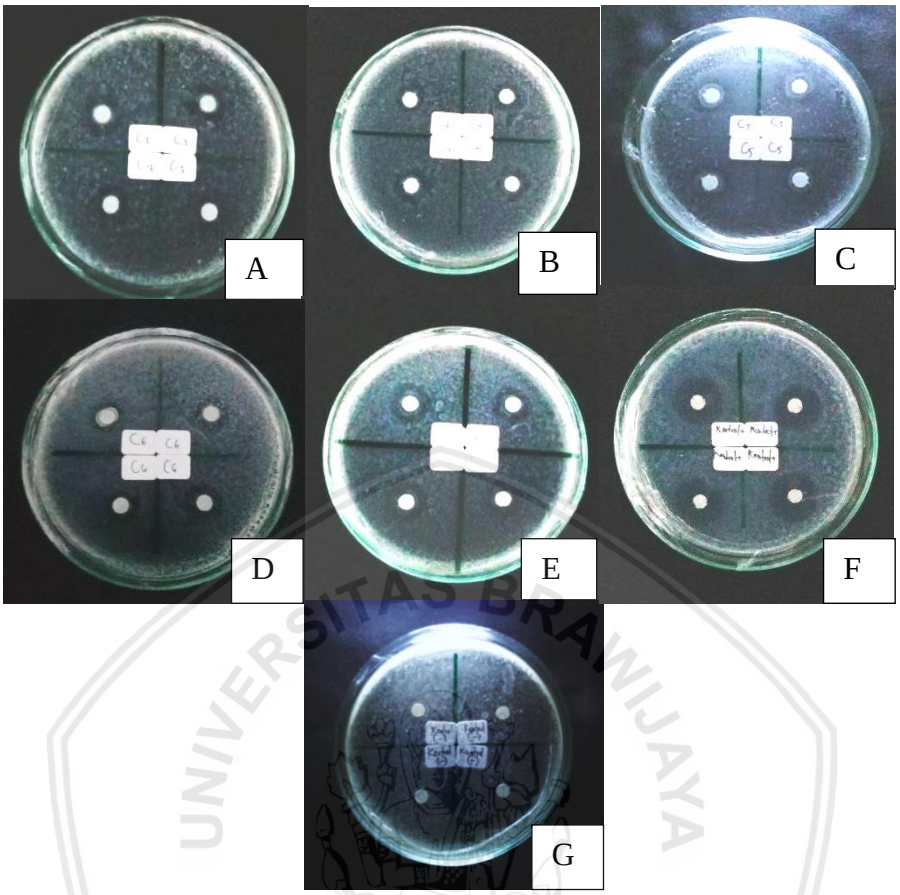
Lima isolat bakteri endofit hasil seleksi selanjutnya digunakan uji antagonis terhadap *R. solanacearum*. Hasil pengujian antagonis dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum*

Perlakuan	Rerata Diameter Zona Hambat (cm)		
	24 JSI±SD	48 JSI±SD	72 JSI±SD
Kontrol	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a
Bakterisida	1,46±0,04 bc	1,46±0,04 bc	1,46±0,04 bc
Isolat C3	1,35±0,07 bc	1,18±0,07 b	1,18±0,07 b
Isolat C4	1,28±0,11 b	1,28±0,11 bc	1,28±0,11 b
Isolat C5	1,31±0,12 bc	1,31±0,12 bc	1,31±0,12 bc
Isolat C6	1,12±0,09 b	1,12±0,09 b	1,12±0,09 b
Isolat D1	1,34±0,20 bc	1,34±0,20 bc	1,34±0,20 bc

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji DMRT taraf kesalahan 5 %; SD= Standar Deviasi; HSI= Hari Setelah Inokulasi

Hasil pengamatan pada semua perlakuan bakteri endofit terpilih yakni isolat dengan kode C3, C4, C5, C6, dan D1 selama 72 jam setelah inokulasi menunjukkan bahwa kelima isolat mampu menghambat patogen *R. solanacearum* (Tabel 4). Berdasarkan hasil analisis ragam dengan taraf kesalahan 5 %, antar perlakuan menunjukkan perbedaan nyata (Tabel Lampiran 1). Berdasarkan uji DMRT dengan taraf kesalahan 5 %, pada 24, 48, dan 72 jam setelah inokulasi, semua perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol negatif (akuades steril). Kelima perlakuan isolat yakni isolat kode C3, C4, C5, C6, dan D1 menunjukkan hasil yang sama dalam menekan *R. solanacearum*. Kelima perlakuan isolat juga menunjukkan hasil yang sama dengan kontrol positif (perlakuan bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat). Hasil uji antagonis semua perlakuan dapat disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Zona Bening yang Dihasilkan Bakteri Endofit pada Pengujian Antagonis terhadap *R. solanacearum* di Cawan Petri selama 72 jam, (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1; (F) Kontrol Positif; (G) Kontrol Negatif

Penghambatan perlakuan semua isolat dengan bakterisida menunjukkan hasil yang sama dalam menghambat patogen *R. solanacearum*. Bakterisida yang digunakan sebagai kontrol positif adalah dengan menggunakan bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat. Menurut Waluyo (2008), streptomisin adalah antibiotik yang berfungsi sebagai bakterisida untuk beberapa bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Streptomisin bekerja dengan menghambat proses sintesis protein bakteri. Menurut Agrios (2005), streptomisin bekerja dengan mengikat secara *irreversibel* ribosom bakteri. Namun, penggunaan streptomisin secara terus-menerus dilaporkan telah memunculkan strain bakteri patogen yang resisten karena mekanisme kerja antibiotik yang bersifat spesifik.

Penghambatan semua isolat terhadap *R. solanacearum* tergolong kuat (1,18-1,34 cm). Artinya, bakteri endofit terpilih mampu melakukan aktivitas penghambatan yang kuat dalam menekan patogen. Sheoran *et al*. (2015) menjelaskan bahwa bakteri endofit secara tidak langsung melindungi tanaman dari serangan patogen melalui produksi zat yang dapat menghambat atau mematikan patogen melalui senyawa antibiotik, siderofor, enzim hidrolisis, dan senyawa antimikroba organik. Zona hambat terbentuk akibat aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri antagonis. Menurut Waluyo (2008), zona hambat yang muncul menandakan terdapat substansi kimia yang dihasilkan mikroorganisme yang mampu menghambat mikroorganisme lain atau disebut juga mekanisme antibiosis. Senyawa antibiotik yang berperan menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri karena senyawa tersebut mampu menghambat sintesis dan metabolisme sel. Mekanisme penghambatan senyawa antibakteri secara umum meliputi mengganggu sintesis dinding sel, mengganggu fungsi membran sel, sintesis protein, sintesis asam nukleat, dan antimetabolit. Menurut Mutschler (1991), antimikroba yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja sebagai bakterisidal, sedangkan yang mempengaruhi sintesis protein bekerja sebagai bakteriostatik. Trisia *et al*. (2018) menjelaskan bahwa bakterisidal adalah mekanisme mematikan bakteri target secara langsung. Sedangkan bakteriostatik bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri target.

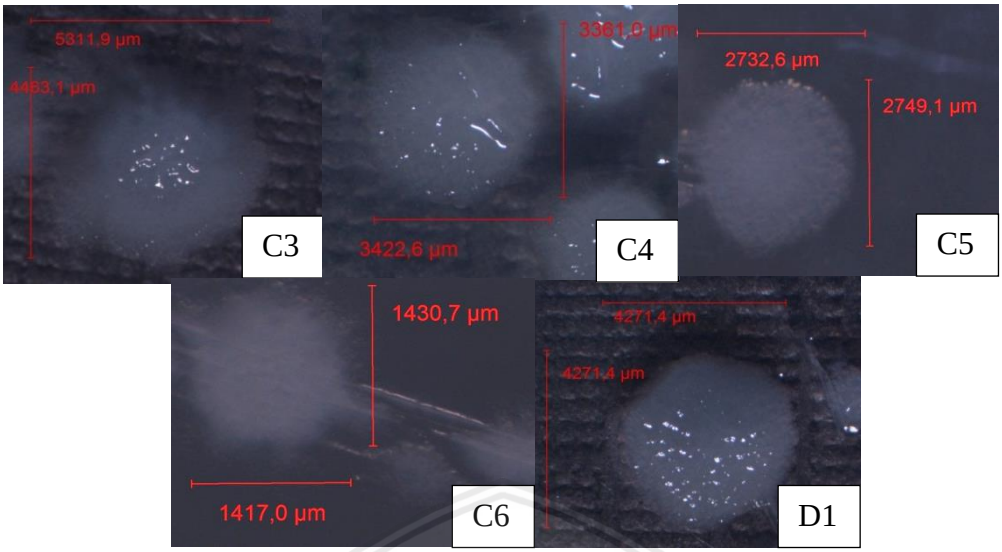
4.5 Karakter Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Bakteri Endofit Tanaman Cabai Rawit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Karakter morfologi

Morfologi koloni bakteri endofit menunjukkan kenampakan yang berbeda-beda. Morfologi dari bakteri endofit dapat dilihat pada Gambar 12 dan Tabel 5.

Tabel 5. Morfologi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap patogen *R. solanacearum*

Isolat	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepi	Elevasi	Mukoid
C3	Bulat	Putih	Bergerigi	Cembung	Tidak
C4	Bulat	Putih	Rata	Rata	Tidak
C5	Bulat	Putih	Rata	Rata	Tidak
C6	Bulat	Putih	Bergerigi	Rata	Tidak
D1	Bulat	Putih	Rata	Cembung	Tidak



Gambar 12. Morfologi Koloni Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Karakter fisiologi dan biokimia

Karakterisasi bakteri endofit juga melalui uji fisiologi dan biokimia. Uji fisiologi dan biokimia yang dilakukan meliputi pengujian Gram (pewarnaan Gram dan pengujian KOH 3 %), pengecatan endospora, uji katalase, uji oksidatif fermentatif, dan uji pertumbuhan pada media YDC. Hasil pengujian secara fisiologi dan biokimia dapat dilihat pada Tabel 6.

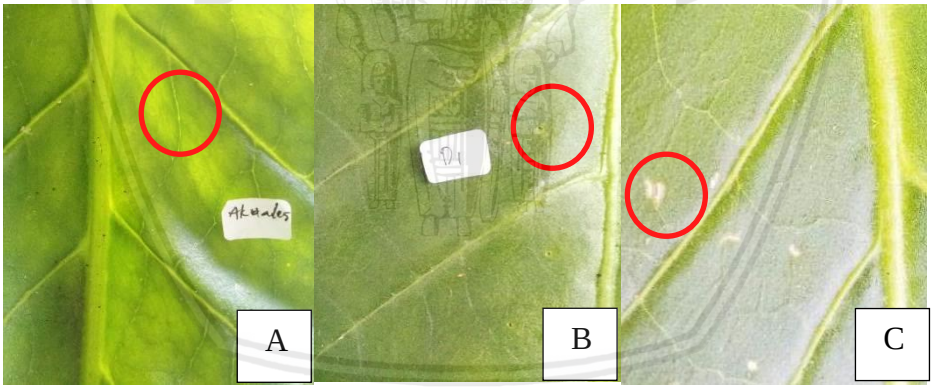
Tabel 6. Karakter Fisiologi dan Biokimia Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*

Pengujian	Kode Isolat				
	C3	C4	C5	C6	D1
Hipersensitif	-	-	-	-	-
Uji Gram	-	-	-	-	-
Pengecatan spora	TU	TU	TU	TU	TU
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Uji katalase	+	+	+	+	+
Uji OF	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
Media Kings'B	TU	TU	TU	TU	TU
Koloni kuning pada Media YDC	-	-	-	-	-

Keterangan: (+) reaksi positif; (-) reaksi negatif; TU=Tidak diuji

1. Hasil uji hipersensitif

Hasil pengujian hipersensitif menunjukkan bahwa kelima isolat yakni bakteri kode C3, C4, C5, C6, dan D1 menghasilkan reaksi negatif. Salah satu reaksi negatif ditunjukkan pada isolat kode D1 (Gambar 13B). Hal tersebut ditandai dengan tidak adanya gejala nekrosis pada daun yang diinfiltrasikan dengan bakteri endofit. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri uji bukan termasuk golongan patogen tanaman. Sebagai kontrol negatif akuades steril diinfiltrasikan ke daun tanaman tembakau (Gambar 13A). Sedangkan sebagai kontrol positif, bakteri patogen *R. solanacearum* diinfiltasikan ke daun tanaman tembakau. Hasil menunjukkan bahwa terdapat gejala nekrosis pada 48 jam setelah inokulasi (Gambar 13C). Menurut Wahyudi *et al*. (2011), reaksi hipersensitif adalah reaksi kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen dan merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen. Reaksi positif ditunjukkan dengan terjadinya nekrosis atau bercak kuning hingga coklat pada daun tembakau yang diinfiltrasi setelah 48 jam.



Gambar 13. Hasil Uji Hipersensitif (A) Kontrol Negatif, Daun Diinfiltrasi dengan Akuades Steril; (B) Bakteri dengan Kode D1; (C) Kontrol Positif, Daun Diinfiltrasi dengan Patogen *R. solanacearum*

2. Hasil uji Gram

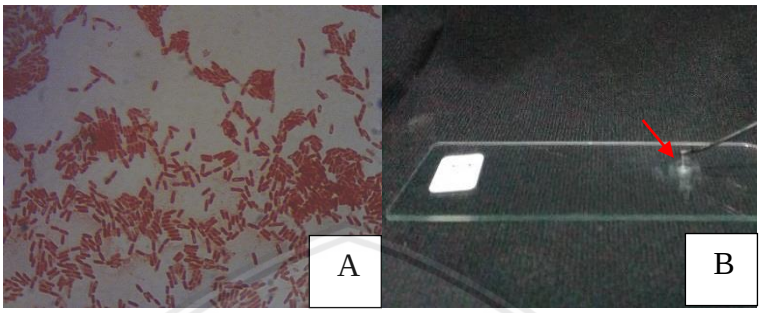
Pengujian Gram dilakukan untuk mengetahui termasuk dalam bakteri gram positif atau bakteri gram negatif. Uji gram terdiri dari dua metode, yakni pewarnaan Gram dan pengujian KOH 3%. Hasil pengujian Gram isolat bakteri endofit menunjukkan kode C3, C4, C5, C6, dan D1 menghasilkan warna merah setelah diamati dibawah mikroskop sehingga kelima isolat termasuk bakteri Gram

negatif (Gambar 14A). Menurut Schaad *et al*. (2001), pengamatan dibawah mikroskop bakteri Gram positif akan berwarna biru atau ungu. Bakteri Gram positif mampu mengikat zat warna kristal violet. Sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah dan tidak mampu mengikat warna kristal violet.

Menurut Lay (1994) pewarnaan gram bertujuan untuk membedakan kelompok bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif. Perbedaan hasil pewarnaan gram disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut sehingga menyebabkan perbedaan reaksi dalam permeabilitas zat warna dan penambahan zat pemucat. Bakteri gram positif adalah bakteri mempertahankan kompleks zat warna yodium primer yang tampak berwarna ungu. Bakteri ini memiliki dinding amorf yang relatif tebal dan asam protoplasma lebih banyak yang diyakini mampu mempertahankan pewarna violet dan kompleks yodium di dalam sel. Bakteri gram negatif didekolorisasi oleh pelarut organik dan menyerap *counterstain* sehingga tampak berwarna merah. Madigan *et al.* (2011) menyatakan bahwa perbedaan reaksi pewarnaan Gram berdasarkan komposisi dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung 90% peptidoglikan dan selebihnya adalah asam tekoat. Sel bakteri Gram positif terlihat berwarna ungu karena dapat membentuk ikatan kompleks dengan pewarna utama (kristal violet) yaitu ungu. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari 5-20 % peptidoglikan, selebihnya adalah polisakarida. Pemberian larutan alkohol 95 % pada sel dapat meningkatkan porositas dinding sel dengan melarutkan lipid pada membran luar, sehingga kompleks ungu akan terlepas dan sel menjadi tidak berwarna. Selanjutnya sel akan berwarna merah karena terwarnai oleh warna pembanding yaitu safranin.

Pada pengujian KOH 3 % menunjukkan hasil bahwa isolat kode C3, C4, C5, C6, dan D1 menunjukkan reaksi positif. Kelima isolat tersebut menghasilkan lendir setelah ditetesi dengan KOH dan ditarik dengan jarum ose sehingga termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif (Gambar 14B). Chandra & Mani (2011) menjelaskan bahwa bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan lemak yang tipis sedangkan Gram negatif memiliki lemak tebal dan berdinding sel tipis yang berada di ruang periplasma. KOH akan merusak lemak (*bilayer lipid*) dan membuat sel bakteri Gram negatif pecah. Sedangkan bakteri

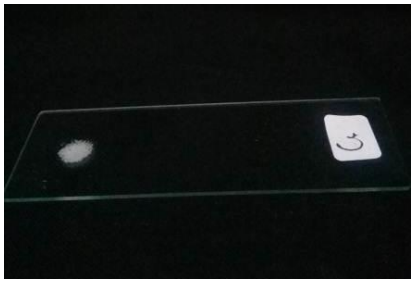
Gram positif akan tetap tidak bereaksi sehingga tidak menghasilkan lendir karena lapisan lemak yang tipis. Berdasarkan dua metode pengujian diatas, bakteri endofit dengan kode C3, C4, C5, C6, dan D1 temasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif.



Gambar 14. Hasil Uji Gram (A) Pewarnaan Gram Isolat Kode D1 Termasuk Bakteri Gram Negatif yang Ditandai dengan Koloni Berwarna Merah; (B) Pengujian KOH 3% Isolat Kode D1 Menghasilkan Lendir Menunjukkan Bakteri Termasuk Gram Negatif

3. Hasil uji katalase

Pada uji katalase yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa kelima bakteri uji bereaksi positif. Hal tersebut ditunjukkan dengan gelembung udara yang terbentuk setelah penetesan larutan H_2O_2 pada bakteri uji (Gambar 15). Bakteri uji memiliki enzim katalase yang berfungsi mengubah hidrogen peroksida menjadi uap air dan oksigen. Murali dan Patel (2017) mengemukakan bahwa mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 terjadi pada proses respirasi. Bakteri menghasilkan komponen salah satunya hidrogen peroksida. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2. Menurut Dewi (2014) hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob.



Gambar 15. Hasil Uji Katalase: Isolat Kode C6 Menghasilkan Reaksi Positif yang Ditunjukkan dengan Gelembung Udara setelah Ditetesi Larutan H_2O

4. Uji oksidatif-fermentatif

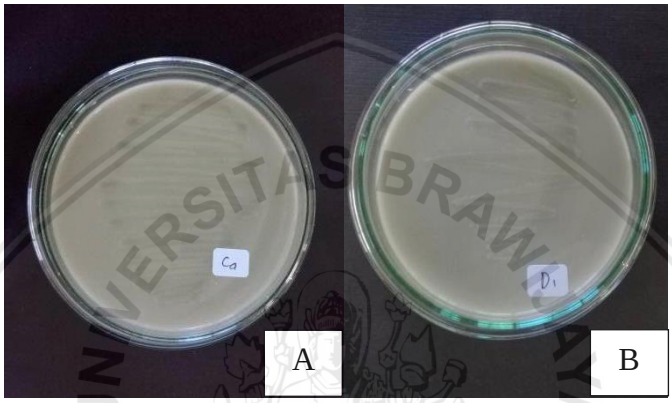
Hasil uji oksidatif-fermentatif kelima bakteri uji menunjukkan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung yang ditutup parafin cair dan tanpa parafin cair (Gambar 16). Bakteri tersebut termasuk golongan bakteri yang bersifat fermentatif. Hal tersebut karena pada bakteri yang ditutup parafin memetabolisme karbohidrat tanpa bantuan oksigen. Menurut Lay (1994), uji oksidatif fermentatif bertujuan untuk menentukan kemampuan mikroba untuk memetabolisme karbohidrat secara oksidatif atau fermentatif. Mikroorganisme yang melakukan metabolisme karbohidrat ditunjukkan oleh perubahan warna media yang awalnya berwarna hijau, akan berubah menjadi kuning. Pada media yang ditutup parafin, bila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning, maka hasil uji menunjukkan bahwa mikroorganisme tersebut memetabolisme karbohidrat secara fermentatif. Sedangkan pada media yang tidak ditutup parafin, bila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning, maka hasil uji menunjukkan bahwa mikroorganisme tersebut memetabolisme karbohidrat secara oksidatif.

Gambar 16. Hasil Uji Oksidatif Fermentatif Isolat Bakteri Kode C6 yang Menunjukkan Reaksi Positif (Fermentatif) (A) Kontrol Ditutup Parafin; (B) Kontrol; (C) Isolat Ditutup Parafin; (D) Isolat Tanpa Parafin

5. Hasil uji pertumbuhan koloni kuning media YDC

Pengujian pertumbuhan koloni kuning pada media YDC berfungsi untuk mengetahui bakteri anaerob termasuk golongan genus *Erwinia* atau *Pantoea* atau

bakteri aerob termasuk dalam genus *Xanthomonas* atau *Xylophilus*. Isolat bakteri kode C3, C4, C5, C6 dan D1 yang ditanam pada media YDC dan diinkubasi selama 48 jam membentuk koloni berwarna putih (Gambar 17). Berdasarkan hal tersebut, kelima isolat bakteri termasuk dalam genus *Erwinia*. Menurut Schaad *et al*. (2001), media YDC digunakan untuk membedakan bakteri dari genus *Erwinia* dan *Pantoea*. Bakteri uji yang tumbuh dengan membentuk koloni berwarna kuning termasuk dalam *Pantoea*. Sedangkan bakteri yang diinkubasi berwarna putih termasuk genus *Erwinia*.



Gambar 17. Pertumbuhan Koloni Berwarna Putih pada Media YDC (A) Isolat Bakteri Kode C4; (B) Isolat Bakteri Kode D1

4.6 Hasil Identifikasi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Bakteri Patogen *R. solanacearum*

Lima isolat bakteri terpilih yang telah dikarakterisasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia kemudian diidentifikasi mengacu pada Schaad *et al*. (2001) dan pedoman *Bergey's Manual of Determinative* (Holt *et al*., 1994). Hasil identifikasi bakteri endofit disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Identifikasi Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*

No.	Kode isolat	Genus
1.	C3	*Erwinia* sp.
2.	C4	*Erwinia* sp.
3.	C5	*Erwinia* sp.
4.	C6	*Erwinia* sp.
5.	D1	*Erwinia* sp.

Keterangan: Genus *Erwinia* sp. dikenali dengan uji oksidatif-fermentatif dan uji pada media YDC, bersifat fermentatif dan koloni pada YDC berwarna putih

1. Isolat C3

Isolat kode C3 yang ditumbuhkan pada media NA memiliki bentuk koloni bulat, tepian bergerigi, berwarna putih, elevasi cembung, dan tidak mukoid. Hasil pengujian secara fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa bakteri termasuk Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya lendir pada uji KOH dan koloni berwarna merah pada pengujian pewarnaan Gram. Bakteri memiliki morfologi berbentuk batang. Bakteri bersifat fermentatif pada uji anaerob, dan membentuk koloni berwarna putih pada media YDC. Berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative* (Holt *et al*.,1994) dan Schaad *et al*. (2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Erwinia*.

2. Isolat C4

Isolat C3 yang ditumbuhkan pada media NA memiliki bentuk koloni bulat, tepian rata, berwarna putih, elevasi rata, dan tidak mukoid. Hasil pengujian secara fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa bakteri termasuk Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya lendir pada uji KOH dan koloni berwarna merah pada pengujian pewarnaan Gram. Bakteri memiliki morfologi berbentuk batang. Bakteri bersifat fermentatif pada uji anaerob, dan membentuk koloni berwarna putih pada media YDC. Berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative* (Holt *et al*.,1994) dan Schaad *et al*. (2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Erwinia*.

3. Isolat C5

Isolat C3 yang ditumbuhkan pada media NA memiliki bentuk koloni bulat tepian rata, berwarna putih, elevasi rata, dan tidak mukoid. Hasil pengujian secara fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa bakteri termasuk Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya lendir pada uji KOH dan koloni berwarna merah pada pengujian pewarnaan Gram. Bakteri memiliki morfologi berbentuk batang. Bakteri bersifat fermentatif pada uji anaerob, dan membentuk koloni berwarna putih pada media YDC. Berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative* (Holt *et al*.,1994) dan Schaad *et al*. (2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Erwinia*.

4. Isolat C6

Isolat C3 yang ditumbuhkan pada media NA memiliki bentuk koloni bulat, tepian bergerigi, berwarna putih, elevasi rata, dan tidak mukoid. Hasil pengujian secara fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa bakteri termasuk Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya lendir pada uji KOH dan koloni berwarna merah pada pengujian pewarnaan Gram. Bakteri memiliki morfologi berbentuk batang. Bakteri bersifat fermentatif pada uji anaerob, dan membentuk koloni berwarna putih pada media YDC. Berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative* (Holt *et al*.,1994) dan Schaad *et al*. (2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Erwinia*.

5. Isolat D1

Isolat C3 yang ditumbuhkan pada media NA memiliki bentuk koloni bulat tepian rata, berwarna putih, elevasi cembung, dan tidak mukoid. Hasil pengujian secara fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa bakteri termasuk Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya lendir pada uji KOH dan koloni berwarna merah pada pengujian pewarnaan Gram. Bakteri memiliki morfologi berbentuk batang. Bakteri bersifat fermentatif pada uji anaerob, dan membentuk koloni berwarna putih pada media YDC. Berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative* (Holt *et al*., 1994) dan Schaad *et al*. (2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Erwinia*.

Berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan, isolat kode C3, C4, C5, C6, dan D1 termasuk dalam genus *Erwinia* sp. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa genus *Erwinia* sp. bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum*. Bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Kearns dan Mahanty (1998) menjelaskan bahwa salah satu dari genus *Erwinia* mampu mengendalikan patogen dari spesies *Erwinia* lain. *Erwinia* sp. mampu menghasilkan antibiotik yang disebut karbapenem. Karbapenem memiliki spektrum luas aktivitas antimikroba yang kuat terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Erwinia* spp. menghasilkan karbapenem sederhana. Menurut Zhanel *et al*. (2007), karbapenem bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri.

Gnanamanickam (2002) mengemukakan bahwa *Erwinia* sp. berperan sebagai agen biokontrol yang efektif dalam menekan penyakit hawar api pada tanaman apel. Infeksi awal dari penyakit hawar api dimulai dari bagian stigma bunga. *Erwinia* sp. akan mengkolonisasi pada bagian jaringan bunga dan daun tanaman apel. Aplikasi bakteri tersebut pada bunga tanaman apel akan menekan perkembangan penyakit hawar api karena adanya mekanisme penghambatan antibiosis. Berdasarkan penelitian Jafra *et al*. (2008), *Erwinia* sp. mampu menghambat patogen penyebab busuk lunak yang disebabkan oleh *Dickeya zeae* melalui produksi antibiotik dan produksi siderofor. Arwiyanto (2014) menjelaskan bahwa *Erwinia* sp. merupakan salah satu genus yang mampu mengendalikan patogen *R. solanacearum*. Bakteri tersebut menghasilkan antibiotik atau bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan patogen atau melalui peningkatan induksi ketahanan tanaman inang terhadap serangan patogen tanaman. Beberapa strain dari *Erwinia* dapat dijadikan sebagai salah satu agens pengendali hayati terhadap patogen tanaman.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit organik diperoleh 38 isolat berdasarkan perbedaan morfologi bakteri.
2. Berdasarkan hasil seleksi diperoleh 8 isolat yang mampu menghambat patogen *R. solanacearum* secara *in vitro* dan kelima isolat yakni isolat kode C3, C4, C5, C6, dan D1 dilakukan pengujian antagonis menunjukkan hasil yang sama dalam menekan *R. solanacearum* dan memiliki kemampuan yang sama dengan bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat. Bakteri endofit melakukan mekanisme penghambatan terhadap patogen berupa produksi antibiotik, siderofor, enzim hidrolisis, dan senyawa antimikroba.
3. Karakter lima isolat bakteri endofit dengan kode C3, C4, C5, C6, dan D1 menunjukkan kenampakan berbeda-beda. Berdasarkan identifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia pada kelima bakteri endofit terpilih yang bersifat antagonis terhadap *R. solanacearum* termasuk dalam genus *Erwinia*.

5.2 Saran

Saran penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Identifikasi bakteri endofit yang bersifat antagonis sebaiknya dilakukan hingga tingkat spesies.
2. Perlu dilakukan pengujian mekanisme bakteri endofit secara spesifik dalam menghambat patogen *R. solanacearum.*
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap lima isolat bakteri endofit yang bersifat antagonis pada skala rumah kaca.

DAFTAR PUSTAKA

Adhikari, T.B., and Basnyat, R.C. 1998. Effect of Crop Rotation and Cultivar Resistance on Bacterial Wilt of Tomato in Nepal. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 20: 283-287.

Agarwal, V.K., and Sinclair, J.B. 1997. Principle of Seed Pathology 2nd Edition. Lewis Publ. p539.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology 5th Edition. Academic Press. Newyork. p922.

Alfarez, B., Biosca, E.G., and Lopez, M.M. 2010. On the Life of *Ralstonia solanacearum*, A Destructive Bacterial Plant Pathogen. In: Vilas AM, Editor. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Valencia [SP]: Formatex. Hlm 267-279.

Alif, S.M. 2017. Kiat Sukses Budidaya Cabai Rawit. Biogenesis. Yogyakarta. p152.

Amaresan, N., Jayakumar, V., and Thajuddin, N. 2014. Isolation and Characterization of Endophitic Bacteria Associated with Chilli (*Capsicum annuum*) Grown in Agricultural Ecosystem. *Indian Jurnal of Biotechnology*. 13:247-255.

Anitha, K., Gunjotikar, G.A., Chakrabarty, S.K., Singh, S.D., Sarath, B.B, Prasada R.D.V.J., and Varaprasad, K.S. 2003. Interception of Bacterial Wilt, *Burkholderia solanacearum* in Groundnut Germplasm Imported from Australia. *Journal of Oilseeds Research*. 20:101-104.

Arwiyanto, T. 2014. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri di Asia Tenggara. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 18(2):55-64.

Asman A., dan Sitepu, D. 1998. Penyakit Layu, Budok, dan Penyakit Lainnya serta Strategi Pengendaliannya. Monograf Nilam. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor. pp 84-88.

Balosi, F., Lakani, I., dan Panggeni, J. 2014. Eksplorasi Bakteri Endofit sebagai Agens Pengendalian Hayati terhadap Penyakit Darah pada Tanaman Pisang secara *In vitro*. *E-Jurnal Arotekbis*. 2(6):579-586.

Bandara, W.M., Senevirante, G., and Kulasooriya, S.A. 2006. Interactions among Endophytic Bacteria and Fungi: Effects and Potential. *Journal of Bioscience.* 31(5):645-650.

Cahyono, B. 2003. Cabai Rawit Teknik Budidaya dan Analisis Usaha Tani. Kanisius. Yogyakarta. p167.

CABI [Center for Agriculture and Bioscience International]. 2006. Distribution Maps of Plant Diseases: *Ralstonia solanacearum* (2003-2006). [Online]. Available at http://www.cabi.org/DMPD. (Verified at 21 November 2018).

Chandra, T. J., and Mani, S. 2011. A Study of 2 Rapid Tests to Differentiate Gram Positive and Gram Negative Aerobic Bacteria. *Journal of Medical and Allied Science.* 1(2):84-85.

Davis, W.W., and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology.* 4(22):666-670.

Denny, T.P., and Hayward, A.C. Gram-Negative Bacteria Ralstonia, in: N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun, Eds., Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria 3rd Edition. APS Press. St. Paul. 2001. pp. 151-174.

De Vos, M., Van Oosten, V.R., Remco, M.P., Van poecke, Van Pelt, J.A., Pozo, M.J., Mueller, M.J., Buchala, A.J., Métraux, J.P., Van Loon, L.C., Dicke, M., and Pieterse, C.M.J. 2005. Signal Signature and Transcriptome Changes of *Arabidopsis* during Pathogen and Insect Attack. *Molecular Plant Microbe Interaction.* 18(9): 923-937.

Dewi, M. K. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Cresentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Jurnal Lentera Bio*. 3(1):51-57.

Direktorat Jenderal Hortikultura. 2015. Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2014. Direktorat Jenderal Hortikultura Kementerian Pertanian.

Fitriyah, L.A.2015. Penapisan dan Identifikasi Bakteri Endofit Cabai Merah Penghambat *Colletotrichum capsici*. Skripsi. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

Genin S., and Boucher, C. 2002. Pathogen Profile *Ralstonia solanacearum*: Secrets of a Major Pathogen Unveiled by Analysis of its Genome. *Molecular Plant Patho*logy. 3 (3):111-118.

Gercauscas, R. 2004. Pepper Diseases: Bacterial Wilt. Taiwan: AVRDC. [Online]. Available at www: www.avrdc.org. (Verified at 21 November 2018).

Gnanamanickam, S.S. 2002. Biological Control of Crop Diseases. Marcel Dekker Inc. Newyork.

Goto. 1992. Fundamental of Bacterial Plant Pathology. Academic Press. Tokyo. p342.

Haas, D., and Devago, G. 2005. Biological Control of Soil Borne Pathogens by *Pseudomonas fluorescent. Nature Reviews Microbiology*. 3:307-319.

Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Gramedia. Jakarta. p163.

Harmita, and Radji, M., 2008. Analisis Hayati Edisi ke 3. EGC. Jakarta. p167.

Hasyim, A., Setiawati, and W., Liferdi. 2015. Technological Innovation of Sustainable Pest and Disease Management on Chili Peppers: an Alternative Effort to Establish Harmonious Ecosystems. *Pengembangan Inovasi Pertanian.* 8(1): 1-10.

Hayward, A.C. 1991. Biology and Epidemiology of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum. Annual Review Phytopathology*. 29:65-87.

_____.1994. The Hosts of *Pseudomonas solanacearum* .p. 9-24. In: Hayward, A.C and Hartman, G.L. (ed). Bacterial wilt : The Diseases and its Causative Agent *Pseudomonas solanacearum*. CAB International. Wallingford.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J. T., and Williams, S.T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition. USA. Williams and Wilkins Baltimore. p787.

Inggriani, D., Roza, R.M., dan Martina, A. 2014. Potensi Mikroba Indigenus Asal Tanah Gambut Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Riau dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia solanacearum*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau.

IFOAM [International Federation of Organic Agriculture Movements]. 2005. Prinsip-Prinsip Pertanian Organik. In: IFOAM General Assembly, 2005 Adelaide. 1-4.

Jafra, S., Przysowa,J., Wisniewska, A.G., and Wolf, J.M. 2008. Potential Bulb-Associated Bacteria for Biocontrol Of Hyacinth Soft Root Caused by *Dickeya zeae*. *Journal of Applied Microbiology*. 106:268-277.

Kaga, H., Mano, H., Tanaka, F., Watanabe, A., Kaneko, S., and Morisaki, H. 2009. Rice Seeds as Sources of Endophytic Bacteria. *Microbes and Environments*. 24:154-162.

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

Kearns, L.P., and Mahanty, H. K. 1998. Antibiotic Production by *Erwinia herbicola* Eh1087: Its Role in Inhibition of *Erwinia amylovora* and Partial Characterization of Antibiotic Biosynthesis Genes. *Applied Environmental Microbiology*. 64(5):1837-1844.

Kumar, S., Kedarnath, Hamsaveni, N., Gowda, P.H.R., Rohini, I.B., Rangaswamy, K.T., and Achari, R. 2017. Isolation and Characterization of *Ralstonia solanacearum* Causing Bacterial Wilt of Solanaceae Crops. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science.* 6(5):1173-1190.

Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Raja Grafindo Persada. Jakarta. p168.

Li, R., Khafipour, E., Krause, D.O., Entz, M.H., Kievit, T.R., and Fernado, W.G.D. 2012. Pyrosequencing Reveals the Influence of Organic and Conventional Farming Systems on Bacterial Communities. *Plos One*.7(12): e51897.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., and Clark, D. 2011. Biology of Microorganisms 13 th Edition. Pearson Education International. USA. p1040.

Maji, S., and Chakrabartty, P.K. 2014. Biocontrol of Bacterial Wilt of Tomato Caused by *Ralstonia solanacearum* by Isolates of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Australian Journal of Crop Science.* 8: 208-214.

Meilin. 2014. Hama dan Penyakit pada Tanaman Cabai serta Pengendaliannya. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. Kementerian Pertanian.

Munif, A., Hallmann, J., and Sikora, R.A. 2012. Isolation of Endophytic Bacteria From Tomato and Their Biocontrol Activities Against Fungal Disease. *Microbiology Indonesia*. 6(4):148-156.

Murali, A., and Patel, S. 2017. The Effect of Different Heavy Metal Acetat Solutions on the Inhibition of Catalase Enzyme. *Journal of South Carolina Academy of Science*. 15(2):13.

Mutschler, E. 1991. Dinamika Obat, Edisi ke-4, terjemahan Widjianto, M.B. dan Setiadi, A.R. ITB. Bandung. p827.

Nasrun., Cristanti., Arwiyanto, T., dan Mariska, I. 2007. Karakterisitik Fisiologis *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri Nilam. *Jurnal Penelitian Tanaman Indutri*. 13(2):43-48.

Nurhayati. 2011. Penggunaan Jamur dan Bakteri dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati yang Ramah Lingkungan. Prosiding Semirata Bidang Ilmu-ilmu Pertanian BKS-PTN Wilayah Barat. pp.316-321.

Pelczar. J. M., dan Chan, E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta.

_____ . 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. UI Press. Jakarta.

Purnawati, A. 2013. Efek Mikroba Endofit terhadap *Ralstonia solanacearum* Penyebab Layu pada Tanaman Tomat. Disertasi Program Pasca Sarjana. Fakultas Pertanian. Universitas Barawijaya. Malang.

Rahayu, M. 2013. Penyakit Layu Bakteri Bioekologi dan Cara Pengendaliannya. Monograf Balitkabi. 13:284-305.

Rukmana. 2002. Usaha Tani Cabai Rawit.Kanisius. Yogyakarta. p87.

Ryan, R.P., Foughy, H., Garcia, B.F., Watt, S.A., Niehaus, K.,Yang, L., Tolker, N.T., and Dow, J.M. 2008. Interspecies Signalling Via The Stenotrophomonas Maltophilia Diffusible Signal Factor Influences Biofilm Formation and Polymyxin Tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*. 68(1): 75-86.

Saputra, R., Arwiyanto, T., dan Wibowo, A. 2015. Uji Aktivitas Antagonistik Beberapa Isolat *Bacillus* spp. terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Beberapa Varietas Tomat dan Identifikasinya. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(5):1116-1122.

Saraswati, I.G.A.E., Pharmawati, M., Junitha, I.K. 2012. Karakter Morfologi Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang Dipengaruhi Sodium Azida pada Fase Generatif Generasi M1. *Jurnal Biologi*. 16(1):23-26.

Sari, N.I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattallassang Kabupaten Gowa. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. 3th Edition. APS Press. St. Paul Minnessota. p373.

Semangun, H. 1996. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. p754.

Sheoran, N., Valiyanadakkakath, A., Munjal, V., Kundu, A., Subaharan, K., and Venugopal, V. 2015. Genetic Analysis of Plant Endophytic *Pseudomonas putida* BP25 and Chemo-Profiling of Its Antimicrobial Volatile Organic Compounds. *Microbiology Research.* 173:66-78.

Simpson, M.G. 2010. Plant Systematics. Elsevier. Inc Publishers. Burlington USA. Sunderland, Massachusetts, USA.

Sopialena. 2017. Segitiga Penyakit Tanaman. Mulawarman University Press. Samarinda. p90.

Sousa, R. G., Puigvert, M., Coll, N. S. Siri, M.I., Pianzzola, M. J., Valls, M., and Setubal, J.C. 2016. Complete Genome Sequence of the Potato Pathogen *Ralstonia solanacearum* UY031. *Standards in Genomic Sciences*. 11(7):1-8.

Sturz, A.V. 2006. Bacterial Root Zone Communities, Beneficial Allelopathies and Plant Disease Control in Allelochemicals: Biological Control of Plant Pathogens and Diseases. Springer. Netherlands.

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

Tan, R.X., and Zou, W.X. 2001. Endophytes: a Rich Source of Functional Metabolites. *Natural Product Reports*. 18:448-459.

Tans, K. J., H. Huan., and C. Allen. 2001. *Ralstonia solanacearum* Needs Motility for Invasive Virulence on Tomato. *Journal of Bacteriology*. 183(12):3597-3605.

Trisia, A., Phyliria, R., dan Toemon, A.N. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*.17(2):136-143.

Wahyudi, T.A., Meliah, S., dan Nawangsih, A.A. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. oryzae Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun pada Padi: Isolasi, Karakteristik,dan Telaah Mutagenesis Dengan Transposon. *Makara Sains*.15(1):89-96.

Waluyo, L. 2008. Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi. UMM Press. Malang. p359.

_____. 2016. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang. p317.

Xia, Y., Bolt, S.D., Dreyer, J., Scott, D., and William, M.A. 2015. Characterization of Culturable Bacterial Endophites and Their Capacity to Promote Plant Growth from Plants Grown Using Organic Or Conventional Practices. *Frontiers in Plant Science*. 6:490.

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

Yadi, S., dan Raiz, S.A. 2009. Respon Beberapa Genotipe Kacang Tanah terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) di Rumah Kaca. *Buletin Plasma Nutfah*. 15(1):20-26.

Yanti, Y., Warnita, Reflin, and Busniah, M. 2018. Indigenous Endophyte Bacteria Ability to Control *Ralstonia* and *Fusarium* wilt Disease on Chili Pepper. *Biodiversitas*. 19(4):1532-153.

Yuliastuti, R., Fikri, E.N., dan Rosa, H.O. 2018. Perkembangan Populasi *Ralstonia solanacearum* pada Rhizosfer Tanaman Tomat yang Diberi Serbuk Daun Mengkudu, Daun Salam, dan Daun Sirih. *Proteksi Tanaman*. 1(3):45-48.

Zhanel, G.G., Wieb, R., Dilay, L., Thomson, K.,Rubistein, E., Hoban, D.J., Noreddin, A.M., and Karlowsky, J.A. 2007. Comparative Review of Carbapenems. *Drugs 2007*. 67(7):1027-1052.

Zhang, Y. 2009. Intrinsic Histone-DNA Interactions are not the Major Determinant of Nucleosome Positions *In vivo*. *Nature Structural Molecular Biology*. 16(8): 847-52.

Zhenita, V.T.H. 2011. Keefektifan Bakteri Endofit dan Plant Growth Promoting Rhizobacteria dalam Menekan Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tomat. Bogor Agriculture University. Bogor.

repository.ub.ac.id

LAMPIRAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Tabel Lampiran 1. Hasil Analisis Ragam Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* pada 24 JSI

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5 %
Perlakuan	6	0,25	0,04	4*	2,46
Galat	21	0,25	0,01		
Total	27	0,50			

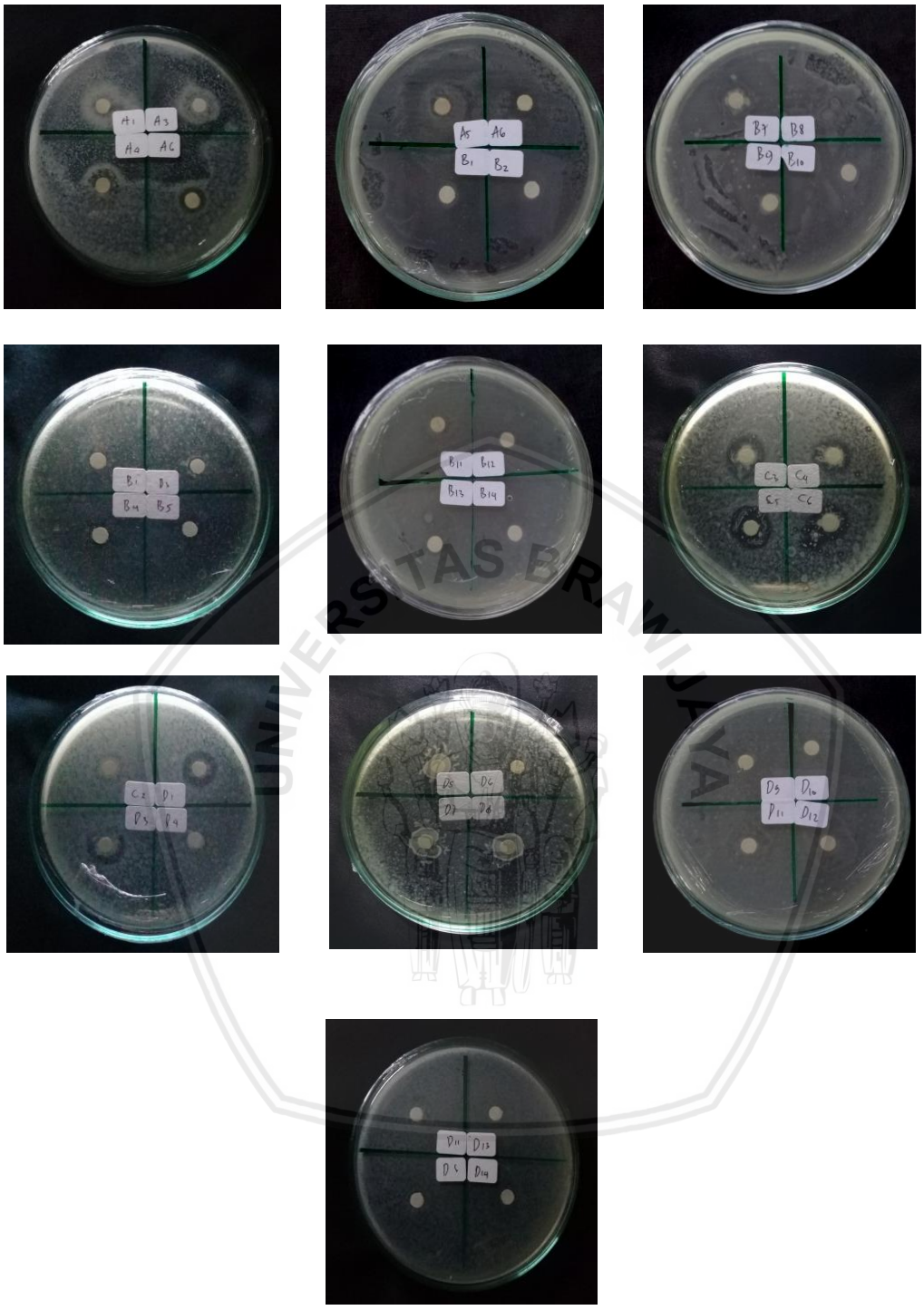
Tabel Lampiran 2. Hasil Analisis Ragam Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* pada 48 JSI

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5 %
Perlakuan	6	0,29	0,05	5*	2,46
Galat	21	0,26	0,01		
Total	27	0,55			

Tabel Lampiran 3. Hasil Analisis Ragam Rerata Zona Hambat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solanacearum* pada 72 JSI

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5 %
Perlakuan	6	0,29	0,05	5*	2,46
Galat	21	0,26	0,01		
Total	27	0,55			

Gambar Lampiran 1. Sertifikat Pertanian Organik Sampel Tanaman Cabai Rawit



Gambar Lampiran 2. Hasil Seleksi 38 Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum*

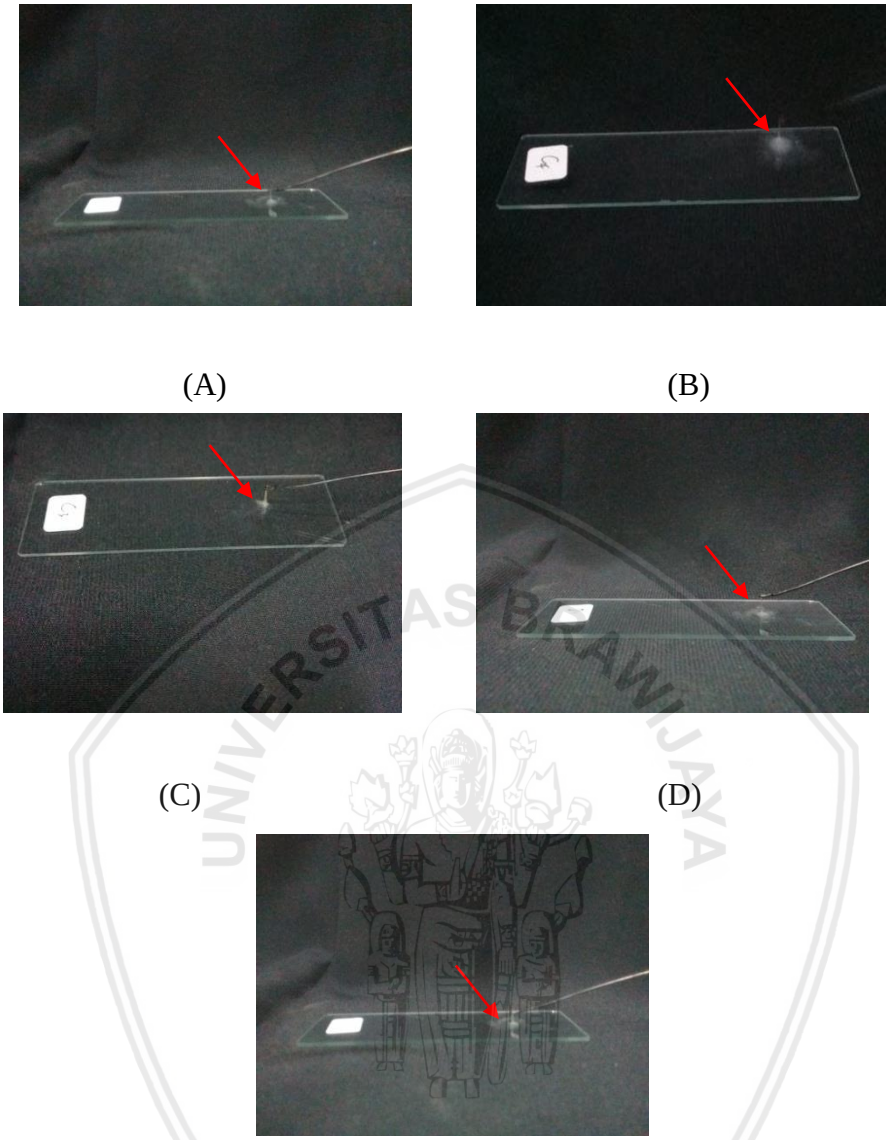
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

(A) (B) (C)

(D) (E)

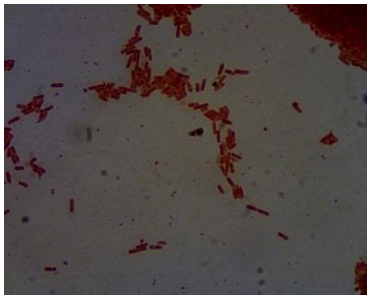
Gambar Lampiran 3. Hasil Uji Hipersensitif Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

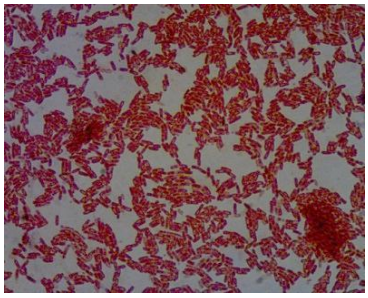


Gambar Lampiran 4. Hasil Uji KOH Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1

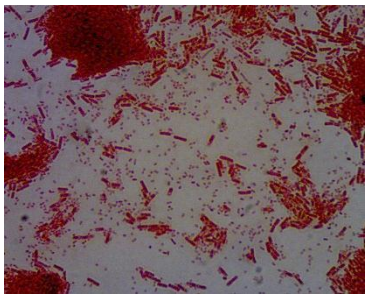
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



(A)

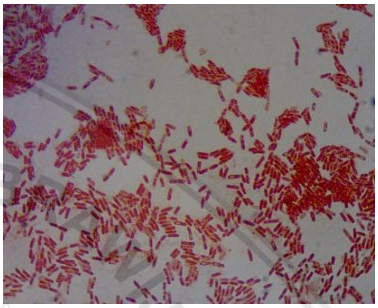


(B)



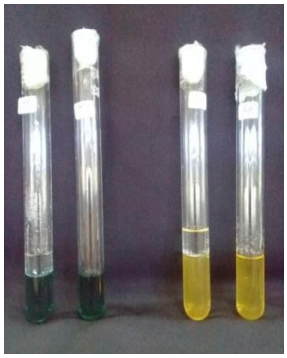
(C)

(D)

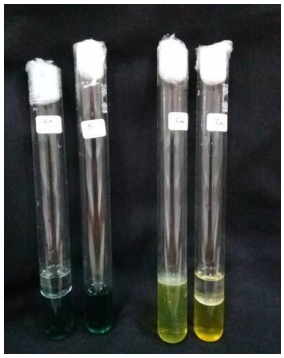


(E)

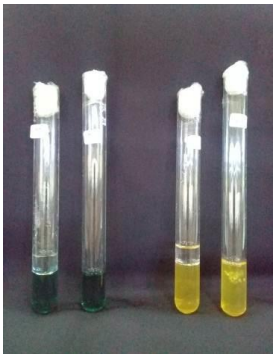
Gambar Lampiran 5. Hasil Uji Pewarnaan Gram Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1



(A)

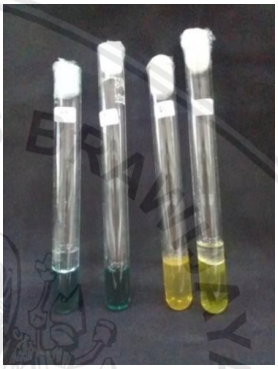


(B)



(C)

(D)



(E)

Gambar Lampiran 6. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1

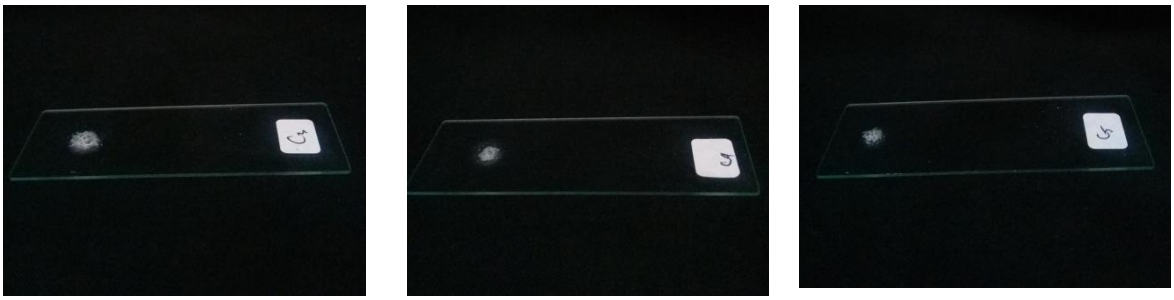
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

(A) (B) (C)

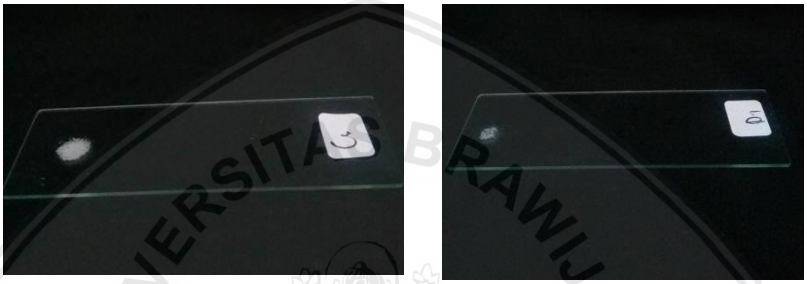
(D) (E)

Gambar Lampiran 7. Hasil Uji Pertumbuhan Koloni Kuning pada Media YDC Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



(A) (B) (C)



(D) (E)

Gambar Lampiran 8. Hasil Uji Katalase Lima Isolat Bakteri Endofit yang Bersifat Antagonis terhadap *R. solanacearum* (A) Isolat C3; (B) Isolat C4; (C) Isolat C5; (D) Isolat C6; (E) Isolat D1

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA