



**EKSPLORASI BAKTERI RIZOSFER DAN POTENSINYA
SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
Xanthomonas campestris pv. *campestris* DI PERTANAMAN
KUBIS PHT DAN KONVENSIONAL**

Oleh:

AULIA PUSPITA RANI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2017



**EKSPLORASI BAKTERI RIZOSFER DAN POTENSINYA SEBAGAI AGENS
PENGENDALI HAYATI *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* DI
PERTANAMAN KUBIS PHT DAN KONVENSIONAL**

Oleh:

AULIA PUSPITA RANI

135040200111175

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

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

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

2017



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 12 Juli 2017

Aulia Puspita Rani
NIM. 135040200111175



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi Bakteri Rizosfer dan Potensinya Sebagai Agens Pengedali Hayati *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* di Pertanaman Kubis PHT dan Konvensional

Nama Mahasiswa : Aulia Puspita Rani

NIM : 135040200111175

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
NIP. 195907051986011003

Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc.
NIK. 2014098805042001

Diketahui
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 195510181986012001

Tanggal Persetujuan :

RINGKASAN

Aulia Puspita Rani. 135040200111175. Eksplorasi Bakteri Rizosfer dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* di Pertanaman Kubis PHT dan Konvensional. Dibawah Bimbingan Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS. Sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. Sebagai Pembimbing Pendamping.

Tanaman kubis (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura familia Brassicaceae yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Salah satu faktor yang menyebabkan menurunnya produksi kubis di Indonesia adalah penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Berbagai upaya pengendalian telah dilakukan oleh para petani kubis, baik pengendalian secara kimia, fisik dan biologi. Tetapi petani kubis lebih banyak melakukan pengendalian dengan cara kimia yaitu dengan menggunakan pestisida. Kondisi ini memberikan gagasan untuk melakukan pengendalian dengan menggunakan agens hayati yang bersifat ramah lingkungan. Salah satu agens hayati yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan penyakit pada patogen tanaman yaitu bakteri yang bersifat antagonis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat bakteri rizosfer dari lahan kubis PHT dan konvensional yang bersifat antagonis. Hipotesis pada penelitian ini yaitu pada lahan kubis PHT ditemukan lebih banyak jenis bakteri yang bersifat antagonis terhadap penyakit busuk hitam dibandingkan dengan lahan kubis konvensional.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang mulai bulan Januari 2017 sampai April 2017. Metode penelitian terdiri dari metode survei dan metode percobaan. Penelitian terdiri dari 8 perlakuan dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Variable pengamatan pada penelitian ini yaitu kelimpahan bakteri rizosfer, keanekaragaman bakteri rizosfer, dan indeks penghambatan bakteri antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Data pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf 5%. Apabila hasil pengujian terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan taraf 5%.

Identifikasi terhadap keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* berdasarkan buku pedoman Bergey's Manual of Determinative (1994) dan Schaad *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa empat isolat bakteri dengan kode P-A1, P-A5, P-B1, dan P-C2 termasuk kedalam genus *Pantoea*, satu isolat bakteri dengan kode P-A2 masuk kedalam genus *Erwinia* dengan kemampuan penghambatan tertinggi, dan satu isolat bakteri dengan kode K-D masuk kedalam genus *Bacillus*.





SUMMARY

Aulia Puspita Rani, 13504020011175. Eksplorasi Bakteri Rizosfer dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* di Pertanaman Kubis PHT dan Konvensional. Dibawah Bimbingan Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS. Sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. Sebagai Pembimbing Pendamping.

Cabbage (*brassica oleracea* var. *Capitata* L) is one of the horticultural plants of Brassicaceae familia that is cultivated a lot in Indonesia. One of the factor that decrease the productivity of cabbage is caused by the black rot disease due to bacteria of *Xantomonas campestris* pv. *Campestris*. Some efforts have been done by the cabbage farmers, such as chemically, phisically, and biologically controls. However, the cabbage farmers prefer to use chemical way by using pesticides. This condition brings out the idea to do the biologically control by using biological agents which is eco-friendly. One of the biological agent that can be used to control the disease on the plants pathogens is an antagonist bacteria. The purpose of this research is to get the isolates of rhizosphere bacteria from the land of PHT cabbage and conventional cabbage which is antagonistic. The hypothesis of this research is the PHT cabbage land was found a lot of antagonistic bacteria to againts the black rot disease rather than in conventional cabbage land.

The research was conducted in the Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya, Malang started from January 2017 until April 2017. The research method consists of survey method and experimental method. The research consist of 8 treatments which each treatment was repeated 4 times. The varieable of this research are the amount of rhizosphere bacteria, the variety of rhizosphere bacteria, and index of obstacle between antagonist bacteria to *X campestris* pv. *Campestris* bacteria. The data was analized by using analysis of variety on 5% level. If this research has a significantly different result, so it will be continued by using Duncan test on the 5% level.

Identification of six rhizosphere bacterial isolates that are antagonistic to bacteria *X. campestris* pv. *campestris* based on Bergey's Manual of Determinative (1994) and Schaad et al. (2001) indicated that four isolates bacteria with P-A1, P-A5, P-B1 and P-C2 isolates code that include to the genus of *Pantoea*, then one isolates bacteria with P-A2 isolates code include to the genus of *Erwinia*, as the highest resistor, and one isolates bacteria with K-D isolates code include to the genus of *Bacillus* sp.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal dengan judul "Eksplorasi Bakteri Rizosfer dan Potensinya sebagai Agens Pengendali Hayati *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* di Pertanaman Kubis PHT dan Konvensional". Penulis mengucapkan banyak terimakasih atas segala bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak yang telah membantu penelitian ini, terutama kepada:

1. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
2. Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. atas segala bimbingannya dalam penyelesaian skripsi.
3. Kedua orangtua, keluarga, sahabat, teman hidup dan semua rekan yang telah memberikan doa serta dukungan untuk kesuksesan penulis sampai saat ini.
4. Seluruh dosen Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan atas ilmu-ilmu dan arahan yang diberikan.
5. Staff karyawan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan atas fasilitas, bimbingan dan bantuan yang diberikan.

Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak serta bisa memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan guna memperbaiki karya tulis selanjutnya.

Malang, Juni 2017

Penulis



RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Aulia Puspita Rani, dilahirkan di Pringsewu pada tanggal 1 Juli 1995 sebagai putri pertama dari tiga bersaudara dari Bapak Sigit Iswanto dan Ibu Yuliarni.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri 1 Pringsewu selama 6 tahun yaitu dari tahun 2001-2007, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Pringsewu selama 3 tahun yaitu pada tahun 2007 hingga tahun 2010. Pada tahun 2010 hingga 2013, penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Pringsewu. Pada tahun 2013 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Peranian, Universitas Brawijaya, Malang melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti beberapa kepanitiaan pada kegiatan yang diselenggarakan oleh FORKANO, Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FP UB, dan Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman (HIMAPTA) FP UB seperti menjadi divisi bendahara pelaksana pada kegiatan RANTAI IV, menjadi anggota dari panitia pendamping mahasiswa baru agroteknologi 2014 pada kegiatan RANTAI V, anggota divisi acara dalam kegiatan Agriculture Exhibition 2014, anggota divisi acara dalam kegiatan HUT FP UB ke 55 tahun dalam rangkaian acara AVG 2015, divisi acara HUT HIMAPTA dalam rangkaian acara ARTHROPODA, dan anggota divisi kesehatan dalam rangkaian kegiatan PROTEKSI 2017. Penulis pernah mengikuti kegiatan magang kerja di Gunung Kudung Alfa Estate (GKAE) PT. Anugerah Energitama, Bengalong Timur, Kalimantan Timur.



DAFTAR ISI

RINGKASAN	iii
SUMMARY	iv
KATA PENGANTAR	v
RIWAYAT HIDUP	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Lahan Berbasis Pengendalian Hama Terpadu (PHT).....	4
2.2 Tanaman Kubis.....	5
2.3 Penyakit Busuk Hitam.....	5
2.4 Keragaman Bakteri Tanah.....	6
2.5 Bakteri Antagonis.....	7
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat.....	9
3.2 Alat dan Bahan.....	9
3.3 Metode Penelitian.....	9
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	9
3.5 Variabel Pengamatan.....	18
3.6 Analisa Data.....	19
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penelusuran Budidaya Tanaman Kubis Pada Lahan PHT dan Konvensional.....	20
4.2 Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Kubis Berbasis PHT dan Konvensional.....	23
4.3 Keanekaragaman Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Kubis Berbasis PHT dan Konvensional.....	25
4.4 Seleksi Bakteri Rizosfer Hasil Eksplorasi yang Bersifat Antagonis Terhadap Bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	26
4.5 Pengujian Antagonis Bakteri Rizosfer Terhadap Bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	28
4.6 Karakterisasi Bakteri Rizosfer yang Bersifat Antagonis Terhadap Bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	30
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perbedaan lahan kubis PHT dan konvensional berdasarkan hasil wawancara dengan petani pemilik lahan	20
2.	Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional	23
3.	Rata-rata indeks keanekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional	25
4.	Hasil seleksi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> secara in vitro	27
5.	Rerata zona hambat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> ...	28
6.	Ciri-ciri morfologi koloni bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> ...	31
7.	Karakterisasi fisiologi dan biokimia bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	33
8.	Hasil identifikasi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	39



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Gejala visual serangan penyakit busuk hitam pada tanaman kubis.....	6
2.	Bagan Alir Identifikasi Bakteri Hingga Tingkat Genus.....	16
3.	Bagian alir identifikasi bakteri patogen hingga tingkat genus.....	19
4.	Zona hambat yang muncul pada pengujian antagonis bakteri rizosfer terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> secara <i>in vitro</i> pada cawan petri selama 48 jam: (a) isolat bakteri P-A1; (b) isolat bakteri P-C2; (c) isolat bakteri P-A5; (d) isolat bakteri P-B1; (e) isolat bakteri P-A2; (f) isolat bakteri K-D; (g) kontrol negatif (aquades); (h) kontrol positif (Bakterisida <i>Streptomycin</i>).....	29
5.	Morfologi koloni bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> . (a) isolat bakteri P-A1; (b) isolat bakteri P-A2; (c) isolat bakteri P-A5; (d) isolat bakteri P-B1; (e) isolat bakteri P-C2; (f) isolat bakteri K-D.....	32
6.	Hasil pengujian hipersensitif pada tanaman tembakau (a) kontrol dengan menggunakan aquades steril; (b) pengujian hipersensitif pada isolat bakteri P-A2; (c) kontrol positif dengan menginfiltrasi bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	34
7.	Uji Gram dengan pewarnaan Gram (betuk sel bakteri): (a) Isolat bakteri K-D memiliki koloni bakteri berwarna ungu (Gram positif); (b) Isolat bakteri P-C2 memiliki koloni bakteri berwarna merah (Gram negatif).....	35
8.	Uji KOH 3 %. (a) isolat bakteri K-D tidak memiliki lendir saat jarum ose diangkat; (b) isolat bakteri P-B1 memiliki lendir saat jarum ose diangkat.....	36
9.	Hasil pengecatan spora pada isolat bakteri K-D.....	36
10.	Isolat bakteri P-A2 yang bereaksi positif pada saat uji katalase.....	37
11.	(a) uji OF pada isolat bakteri P-A2 menunjukkan hasil fermentatif; (b) uji OF pada isolat bakteri K-D menunjukkan hasil oksidatif.....	38
12.	Hasil pengujian isolat bakteri rizosfer pada media YDC.(a) isolat bakteri P-B1 koloni bakteri yang tumbuh berwarna kuning; (b) isolat bakteri P-A2 koloni bakteri yang tumbuh berwarna putih.....	39



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel analisis ragam rerata daya hambat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> secara in vitro pada 1 HSI dan 2 HIS	46
2.	Perhitungan indeks keanekaragaman dan kepadatan bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan Konvensional	46
3.	Uji Patogenesitas bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> pada tanaman kubis	47
4.	Dokumentasi uji hipersensitif pada isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis pada bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	47
5.	Hasil pewarnaan gram pada bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	48
6.	Hasil uji KOH 3% pada bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	49
7.	Hasil uji katalasi pada bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	50
8.	Hasil uji OF pada bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	51
9.	Hasil pengujian biakkan bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> pada media selektif YDC	52

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman kubis (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura familia Brassicacea yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Di Indonesia kubis yang banyak dibudidayakan adalah kubis dengan jenis bulat dan pipih berwarna putih. Kubis memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan sumber gizi seperti vitamin A dan vitamin C yang penting bagi masyarakat (Sastrosiswojo *et al.*, 2005).

Tanaman kubis dapat dibudidayakan menggunakan berbagai sistem pertanaman seperti pengendalian hama terpadu (PHT) dan konvensional. PHT merupakan suatu sistem pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT) secara ekologis, teknologis, dan multidisplin dengan memanfaatkan berbagai cara pengendalian yang dapat diterapkan menjadi satu kesatuan yang serasi supaya populasinya tidak berada diatas ambang batas ekonomi dan aman bagi lingkungan (Effendi, 2009). Sedangkan pertanian konvensional dicirikan oleh penggunaan dalam jumlah yang besar pupuk kimia, pestisida sintesis, dan zat pengatur tumbuh menghasilkan semakin langkanya sumberdaya tak terbarui, mengurangi keanekaragaman hayati, sumberdaya air tercemar, residu kimia dalam pangan, degradasi tanah, dan resiko kesehatan pada pekerja pertanian.

Menurut Kementrian Pertanian dan Direktorat Jenderal Hortikultura (2015) produksi kubis di Indonesia pada tahun 2013 mencapai 1.480.625 ton dan mengalami penurunan produksi pada tahun 2014 yaitu dengan jumlah produksi 1.435.833. Salah satu faktor yang menyebabkan menurunnya produksi kubis di Indonesia adalah penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Penyakit busuk hitam pada tanaman kubis terdapat diseluruh pertanaman kubis dunia dan menimbulkan kerugian yang besar karena penyakit ini dapat bertahan dari musim ke musim pada benih kubis, tanah, dan sisa-sisa tanaman sakit yang tidak dimusnahkan yang menyebabkan penyakit ini menjadi sulit untuk dikendalikan (Semangun, 2007).

Berbagai upaya pengendalian telah dilakukan oleh para petani kubis, baik pengendalian secara kimia, fisik dan biologi. Tetapi petani kubis lebih banyak melakukan pengendalian dengan cara kimia yaitu dengan menggunakan pestisida. Namun penggunaan pestisida yang kurang tepat dan berlebihan dapat menyebabkan dampak berupa kerusakan agroekosistem, meningkatnya



resistensi OPT, keracunan pada konsumen, dan kerusakan ekosistem yang lebih luas.

Kondisi ini memberikan gagasan untuk melakukan pengendalian dengan menggunakan agens hayati yang bersifat ramah lingkungan. Salah satu agens hayati yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan penyakit pada patogen tanaman yaitu bakteri yang bersifat antagonis. Bakteri antagonis patogen busuk hitam pada tanaman kubis dapat diisolasi dari rizosfer yang berasal dari lahan kubis PHT dan konvensional. Keanekaragaman bakteri antagonis yang berasal dari rizosfer kubis PHT dan konvensional diperkirakan mendapatkan hasil yang berbeda jumlahnya. Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Firdausi (2017) menunjukkan bahwa nilai keanekaragaman antara bakteri pada lahan padi PHT lebih tinggi dengan nilai keanekaragaman $2,50 \times 10^9$ cfu/g bila dibandingkan dengan lahan padi konvensional dengan nilai keanekaragaman $2,27 \times 10^9$ cfu/g. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Nawangsih *et al.*, (2014) terdapat 17 isolat bakteri antagonis yang berhasil diisolasi dari rizosfer kedelai pada lahan PHT yang mampu menghambat pertumbuhan miselia cendawan *Sclerotium rolfsii* secara *in vitro* lebih dari 80% yang berpotensi menjadi agen biokontrol.

Keanekaragaman mikroba rizosfer, khususnya bakteri rizosfer kubis yang bersifat antagonis pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional sangat penting untuk dikaji lebih lanjut, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang bakteri rizosfer yang bersifat antagonis pada penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis yang terdapat pada rizosfer kubis berbasis PHT dan konvensional melalui teknik eksplorasi dan identifikasi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini adalah apakah sistem budidaya tanaman kubis berbasis PHT dan konvensional berpengaruh terhadap keragaman bakteri rizosfer yang bersifat antagonis dan mampu mengendalikan penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional yang bersifat antagonis dan



mampu mengendalikan penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dari penelitian ini yaitu pada rizosfer pertanaman kubis berbasis PHT ditemukan lebih banyak jenis bakteri yang bersifat antagonis terhadap penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis dibandingkan dengan rizosfer pertanaman kubis berbasis konvensional.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu mengungkap dan memberikan informasi kepada masyarakat, khususnya petani kubis mengenai bakteri rizosfer yang berasal dari lahan kubis berbasis PHT dan konvensional yang berpotensi untuk mengendalikan penyakit busuk hitam yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengendalian Hama Terpadu (PHT)

PHT merupakan suatu sistem pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT) secara ekologis, teknologis, dan multidisiplin dengan memanfaatkan berbagai cara pengendalian yang dapat diterapkan menjadi satu kesatuan yang serasi supaya populasinya tidak berada dibawah ambang batas ekonomi dan aman bagi lingkungan (Effendi, 2009). Terdapat empat prinsip PHT, yaitu (1) budidaya tanaman sehat, (2) pelestarian musuh alami, (3) pengamatan agroekosistem, (4) petani menjadi ahli PHT dan manajer di kebunnya (Agustian dan Rachman, 2009).

Terdapat beberapa fokus penerapan konsep PHT pada lahan pertanian, yaitu seperti sasaran PHT bukan bertujuan untuk memusnahkan OPT tetapi pembatasan atau pengendalian populasi OPT hingga ambang batas ekonomi, penerapan PHT di lahan pertanian harus mengikutsertakan beberapa disiplin ilmu dan sektor pembangunan sehingga didapatkan rekomendasi yang sesuai dari berbagai aspek, penerapan konsep PHT selalu mempertimbangkan dinamika ekosistem dan sosial masyarakat sehingga rekomendasi pengendalian yang disarankan sangat bervariasi dan bersifat lentur, konsep PHT lebih mendahulukan proses pengendalian yang bersifat alami yaitu dengan memanfaatkan musuh alami dan penggunaan pestisida hanya dilakukan apabila pengendalian dengan menggunakan musuh alami kurang mampu untuk mengendalikan OPT dengan pengaplikasian secara bijaksana, konsep PHT yang harus diterapkan selanjutnya yaitu pemantauan secara biologis dan lingkungan karena melalui pemantauan petani dapat mengetahui keadaan dan menganalisis permasalahan yang terjadi pada lahan mereka (Untung, 1997).

PHT di Indonesia telah didukung oleh beberapa kebijakan pemerintah seperti UU no. 12 tahun 1992 tentang budidaya tanaman, Inpres no. 3 tahun 1986 mengenai larangan penggunaan 57 jenis pestisida, kebijakan pengurangan subsidi pestisida yang dilakukan secara bertahap sampai penghapusan keseluruhan subsidi pada tahun 1989, dan PP no. 6 tahun 1995 tentang perlindungan tanaman. Selanjutnya pada tahun 1996 pemerintah mengeluarkan keputusan bersama antara Menteri Kesehatan dan Menteri Pertanian tentang Batas maksimum residu serta UU no. 7 tahun 1996 tentang pangan (Diratmaja dan Zakiah, 2015).





2.2 Tanaman Kubis

Tanaman kubis diklasifikasikan dalam kingdom *Plantae*, divisi *Spermatofita*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Cruciferales*, famili *Cruciferae*, genus *Brassicca*, spesies *Brassicca oleracea* (Zulkarnain, 2013).

Tanaman kubis dapat tumbuh dengan baik pada semua jenis tanah, namun jenis tanah yang cocok untuk pertumbuhan tanaman kubis adalah jenis tanah lempung berpasir, lempung atau lempung berliat yang subur dan memiliki drainase yang baik. Tanaman kubis toleran terhadap keadaan tanah yang agak masam hingga agak basa dengan pH 5,5 hingga 6,5. Tanaman kubis adalah tanaman subtropis yang menghasilkan mutu produk sangat baik bila diusahakan di daerah beriklim dingin, terutama pada ketinggian 1000-3000 meter dari permukaan laut dengan suhu optimum 15°-20 °C dan untuk kubis telur memiliki suhu minimum 0°C. Berdasarkan respon tanaman kubis terhadap cahaya, tanaman ini dapat digolongkan pada tanaman hari netral yang artinya pembungaan pada tanaman kubis tidak dipengaruhi oleh fotoperiodesitas (Zulkarnain, 2013).

2.3 Penyakit Busuk Hitam

Penyakit busuk hitam pada tanaman kubis disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Bakteri ini mampu mempertahankan dirinya dari musim ke musim pada biji-biji kubis, dalam tanah, dan pada tumbuhan inangnya yang lain. Hampir semua anggota dari suku kubis-kubisan menjadi inang dari bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran 0,7-3,0 x 0,4-0,5 µm, membentuk rantai, berkapsula, tidak memiliki spora, dan bergerak hanya dengan satu flagel poler (Semangun, 2007).

Bakteri *X. campestris* pv. *campestris* mengisolasi tanaman kubis dengan cara masuk ke dalam tanaman kubis melalui pori air yang terdapat pada ujung-ujung berkas pembuluh di tepi-tepi daun. Kelembapan udara di sekitar tanaman kubis pada malam hari sangat tinggi, sehingga menghasilkan air gutasi yang tergantung-gantung lama di tepi daun. Pada pagi hari setelah kelembapan udara di sekitar tanaman kubis turun, air gutasi yang masih tergantung di tepi daun terhisap bersama dengan bakteri *X. campestris* pv. *campestris* yang terdapat didalamnya dan terjadilah infeksi bakteri pada tanaman kubis. Bakteri *X. campestris* pv. *campestris* juga dapat masuk dari luka-luka yang terdapat pada kubis, tetapi infeksi melalui akar tanaman kubis jarang terjadi (Semangun, 2007).



Gejala khas dari penyakit busuk hitam bila dilihat secara morfologi yaitu terdapat bercak kuning berbentuk mirip huruf V pada daun brokoli dan daerah tersebut lama kelamaan akan mengering dan berubah warna menjadi coklat kemudian rontok. Bercak ini dapat menyebar ke seluruh daun dan tanaman (Lumoly *et al.*, 2016).



Gambar 1. Gejala visual serangan penyakit busuk hitam pada tanaman kubis (Sastrosiswojo *et al.*, 2005).

2.4 Keragaman Bakteri Tanah

Organisme tanah terdiri dari mikroorganisme dan fauna tanah. Peranan organisme di dalam tanah sangat dipengaruhi oleh kondisi iklim, kondisi tanah, kondisi vegetasi, dan pola penggunaan lahan (Widyati, 2013). Tanah dengan kandungan bahan organik yang tinggi memiliki mikroorganisme menguntungkan di dalamnya, salah satunya yaitu bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling dominan di dalam tanah apabila dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya seperti jamur dan protozoa. Bakteri dapat hidup pada seluruh lapisan tanah dan pada kondisi tanah berbeda (Ardi, 2009). Bakteri memiliki banyak peran di dalam tanah seperti sebagai *biofertilizer*, *phytostimulation* dan *biocontrol agents* (Higa dan Parr, 1994).

Beberapa genus bakteri dapat berperan sebagai *biofertilizer* di dalam tanah karena bakteri mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman, sehubungan dengan kemampuannya dalam mengikat N_2 dari udara dan mengubah amonium menjadi nitrat. Contoh dari bakteri tanah yang dapat mengikat nitrogen dalam keadaan aerob adalah bakteri *Azobacter chroococcum* dan contoh dari bakteri yang dapat mengikat nitrogen dalam keadaan anaerob yaitu bakteri *Costridium pastoranum* (Simarmata, 2013).

Bakteri yang berperan sebagai *Phytostimulation* di dalam tanah merupakan bakteri yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman secara langsung. Mekanisme yang terjadi pada penstimulasian perkembangan akar dan hasil



tanaman yang disebabkan oleh *Azospirillum* sp., selain dapat mengikat nitrogen bakteri *Azospirillum* sp. juga mampu menghasilkan *phytohormones* seperti *auxins*, *cytokinins*, dan *gyberellins* yang diperlukan bagi pertumbuhan tanaman (Nasahi, 2010).

Bakteri tanah yang berperan sebagai *biocontrol agents* yaitu bakteri yang dapat mengontrol penyebab penyakit tanaman yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Mechanisme yang terlibat dalam aktifitas biokontrol ini adalah kompetisi terhadap nutrisi, produksi anti fungal metabolit dan induksi ketahanan sistemik.

Sejumlah strain dari bakteri *Pseudomonas fluerescens* mampu menekan penyakit pada tanaman dengan melindungi benih dan akar dari infeksi jamur dengan menghasilkan sejumlah produk hasil metabolit sekunder seperti antibiotik, *siderophore* dan hidrogen sianida (Simarmata, 2013).

2.5 Bakteri Antagonis

Bakteri antagonis merupakan agens hayati yang digunakan untuk mengendalikan OPT dan dapat pula digunakan sebagai pendukung pertumbuhan tanaman (Soesanto, 2006). Agens hayati merupakan makhluk hidup yang dapat berkembang biak sendiri seperti parasitoid, parasit, predator, arthropoda pemakan tumbuhan dan patogen (Supriadi, 2006).

Pengendalian penyakit dengan memanfaatkan mikroorganismenya seperti jamur dan bakteri dapat terjadi melalui satu atau beberapa mekanisme seperti antibiosis, kompetisi, hiperparasit, induksi resistensi dan memacu pertumbuhan tanaman (Loon, 2000). Antibiosis merupakan penghambatan patogen oleh senyawa metabolit yang dihasilkan dari agens hayati seperti enzim, senyawa volatile, zat pelisis dan senyawa antibiotik lain. Selanjutnya kompetisi merupakan penekanan aktivitas patogen yang disebabkan oleh agens hayati terhadap sumber-sumber terbatas seperti zat organik, zat anorganik, ruang hidup dan faktor-faktor pertumbuhan lain. Sedangkan pengendalian penyakit secara hiperparasitisme terjadi melalui perusakan dinding sel patogen oleh senyawa atau zat yang dihasilkan oleh agens hayati tersebut seperti kitinase, selulase, glukase, dan enzim pelisis (Nurhayati, 2011).

Bacillus subtilis, *Pseudomonas fluerescens*, dan *Corynebacterium* merupakan beberapa contoh bakteri antagonis yang telah dimanfaatkan sebagai agens hayati. *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit tanaman melalui beberapa mekanisme seperti kompetisi, menginduksi ketahanan sistemik pada tanaman dan memproduksi antibiotik (Monteiro et al., 2005). Sedangkan



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang mulai bulan Januari 2017 sampai dengan April 2017.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik, kompor, autoklaf type HL – 36 Ae Hirayama, *microwave oven type R – 380IN (S) SHARP*, cawan Petri, pisau, jarum ose, tabung reaksi, mikroskop kamera OLYMPUS SZX7 series, kamera, bunsen, pinset, botol media, gelas ukur, jarum suntik, gelas obyek, *cover glass*, *glass L*, *sprayer*, pipet tetes, gunting, *cutter*, mikropipeter Vitlab dig 100-1000 µl, *Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) type: H.S. 079S*, *tray*, jangka sorong dan *Spektrofotometer*.

Bahan yang digunakan adalah media *Nutrient Agar (NA)*, aquades steril, media Oksidatif-Fermentatif, media *Yeast Dextrose Carbonat (YDC)*, spirtus, plastik, *water agar*, alkohol 70%, kertas saring, KOH 3%, H₂O₂, iodine, kristal violet, safranin, *malachite green*, tanaman tembakau, kertas lakmus, kloroform, gliserol, tissue steril, aluminium foil, streptomycin, dan clorox.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari metode survei dan metode percobaan. Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahapan, yaitu (1) penelusuran budidaya pertanaman kubis PHT dan konvensional (2) eksplorasi bakteri rizosfer dari lahan kubis PHT dan konvensional; (3) isolasi bakteri *X. campestris* pv. *campestris*; (4) seleksi bakteri antagonis dari rizosfer lahan kubis PHT dan konvensional terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*; (5) pengujian antagonis bakteri rizosfer dari lahan kubis PHT dan konvensional terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*; (6) karakterisasi dan identifikasi sampai tingkat genus bakteri rizosfer dari lahan kubis PHT dan konvensional terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Eksplorasi Bakteri Rizosfer

Pengambilan sampel bakteri rizosfer di sekitar perakaran tanaman kubis

Sampel bakteri rizosfer kubis didapat dari lahan kubis PHT dan konvensional di Desa Junrejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Provinsi Jawa



Timur dengan mengambil tanah yang berada di sekitar perakaran tanaman kubis (rizosfer) pada lahan PHT dan konvensional. Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan metode acak yaitu dengan memilih 5 titik pada lahan yang akan diambil sampelnya secara acak. Tanah diambil dengan kedalaman 5-10 cm di sekitar perakaran tanaman kubis hingga didapatkan masing-masing 5 sampel tanah pada setiap jenis lahan kubis yaitu lahan kubis berbasis PHT dan konvensional. Sampel tanah kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan diberikan label, kemudian 5 sampel tanah pada masing-masing jenis lahan dikompositkan menjadi satu sehingga didapatkan dua sampel tanah komposit, yaitu sampel tanah pada jenis lahan pertanian kubis PHT dan konvensional.

Isolasi bakteri rizosfer

Isolasi bakteri menggunakan metode *dilution plate* atau disebut pengenceran bertingkat. Sampel tanah yang telah dikompositkan, selanjutnya diambil sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi aquades steril sebanyak 10 ml. Kemudian suspensi bakteri sebanyak 1 ml diambil dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berukuran 2 ml yang berisi aquades steril sebanyak 1 ml. Pengenceran dilakukan hingga pengenceran 10^{-9} . Kemudian 1 ml larutan diambil dari masing-masing pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} , dan 10^{-9} dan dimasukkan ke dalam cawan Petri yang sudah berisi media NA dan kemudian larutan tersebut diratakan dengan *glass L* yang sudah steril. Media NA tersebut kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh dipurifikasi hingga didapatkan bakteri dengan koloni tunggal.

Penghitungan koloni bakteri rizosfer

Penghitungan populasi bakteri rizosfer yang telah diisolasi dilakukan dengan menggunakan metode hitung cawan. Prinsip dari metode hitung cawan adalah menumbuhkan sel-sel mikroba yang masih hidup pada suatu media sehingga sel tersebut berkembang biak dan membentuk koloni-koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata telanjang tanpa menggunakan mikroskop (Yunita *et al.*, 2015).

Hasil isolasi bakteri rizosfer pada media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang kemudian dihitung jumlah seluruh koloni bakteri yang muncul pada media NA secara manual dan dihitung pula jumlah masing-masing populasi jenis bakteri berbeda yang tumbuh pada media NA. Total koloni yang



dapat dihitung pada media NA adalah koloni dengan jumlah 30-300. Perhitungan jumlah koloni menggunakan rumus Damongilala (2009) sebagai berikut,

$$\text{Total bakteri} = \sum \text{koloni bakteri} \times 1/\text{Pengenceran}$$

3.4.3 Isolasi Bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Bakteri *X. campestris* pv. *campestris* diisolasi dari tanaman kubis yang memiliki gejala penyakit busuk hitam, yaitu terdapat bercak kuning berbentuk huruf V pada daun kubis dan di sekitar bercak kuning tersebut terdapat perubahan warna daun menjadi warna coklat. Tanaman kubis bergejala busuk hitam diperoleh dari lahan kubis di Desa Junrejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur.

Tanaman kubis yang terserang bakteri penyebab penyakit busuk hitam diisolasi dengan mencuci daun kubis tersebut terlebih dahulu dengan air mengalir. Bagian daun tanaman kubis yang terserang bakteri penyebab penyakit busuk hitam dipotong setengah bagian daun sakit dan setengah bagian daun sehat dengan lebar masing-masing 1 cm dan disterilisasi permukaannya dengan menggunakan clorox selama 1 menit kemudian dibilas dengan alkohol 70% selama 1 menit, selanjutnya dibilas dengan aquades sebanyak 3 kali dan pada masing-masing aquades direndam selama 1 menit kemudian dibilas serta dicacah pada aquades steril. Hasil larutan dari cacahan daun kubis bergejala pada aquades steril tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditanam di cawan Petri yang sudah berisi media NA, kemudian diratakan dengan glass L yang sudah disterilkan sebelumnya. Media yang telah berisi isolat tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang.

Koloni bakteri *X. campestris* pv. *campestris* yang tumbuh kemudian dilakukan purifikasi untuk mendapatkan koloni tunggal dari bakteri tersebut. Isolat bakteri patogen hasil isolasi kemudian diidentifikasi hingga tingkat genus menurut Schaad *et al.* (2001) dengan beberapa tahapan pengujian yang meliputi uji hipersensitif, uji reaksi gram dengan KOH 3%, uji reaksi gram dengan pengecatan gram, uji oksidatif-fermentatif (OF) dan uji pertumbuhan media YDC.

Uji Postulat Koch

Uji Postulat Koch bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri patogen yang telah diisolasi dari tanaman bergejala merupakan bakteri *X. campestris* pv. *campestris* atau bukan. Uji Postula Kotch dilakukan pada lahan kubis yang berlokasi di Desa Kedung alus, Kecamatan Tutur, Kabupaten Pasuruan, Jawa



Timur. Pada uji ini, sebanyak 10 ml suspensi bakteri patogen yang berumur 24-48 jam diinokulasikan dengan cara menyuntikkan jarum suntik yang sudah berisi suspensi bakteri patogen pada bagian daun tanaman kubis yang sehat. Tanaman kubis yang telah diinfiltrasi kemudian diamati setiap hari untuk mengetahui masa inkubasi penyakit busuk hitam pada tanaman kubis yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Apabila gejala yang muncul sama dengan tanaman kubis yang terserang busuk hitam saat ditemukan dilapang, maka dapat dipastikan bahwa yang menyebabkan gejala tersebut adalah patogen yang sama yaitu bakteri *X. campestris* pv. *campestris*.

3.4.4 Seleksi Bakteri Antagonis dari Rizosfer Perakaran Kubis Terhadap Bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Uji antagonis dilakukan dengan menggunakan metode spray atau pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Bakteri dari rizosfer perakaran kubis yang telah diinkubasi selama 48 jam diambil dengan menggunakan jarum ose kemudian dibuat suspensi dalam aquades steril. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi selama ± 1 menit dan ditiriskan di atas tisu steril selama 2 jam. Kemudian kertas saring ditanam di media NA yang berada pada cawan Petri dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, bakteri antagonis dimatikan dengan pemberian klorofom pada tutup cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Setelah menguap, biakkan bakteri tersebut disemprot dengan suspensi bakteri patogen pada kerapatan 10^9 CFU/ml. Hasil perlakuan diinkubasi selama 24 jam dan daerah hambatan atau zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

3.4.5 Uji Antagonis Bakteri Rizosfer Terhadap Bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Metode uji antagonis yang digunakan sama seperti metode seleksi bakteri antagonis yaitu menggunakan metode Spray (Kawaguchi *et al.*, 2008). Enam isolat terbaik dari hasil seleksi selanjutnya diuji antagonis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 4 ulangan pada masing-masing jenis tanah yang digunakan. Kerapatan suspensi isolat bakteri yang digunakan pada uji ini yaitu 10^9 CFU/ml. Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam dan diukur zona bening yang terbentuk. Perlakuan yang diberikan yaitu:

1. Isolat bakteri tanah kode P-A1 dan *X. campestris* pv. *campestris*



2. Isolat bakteri tanah kode P-A2 dan *X. campestris* pv. *campestris*
3. Isolat bakteri tanah kode P-A5 dan *X. campestris* pv. *campestris*
4. Isolat bakteri tanah kode P-B1 dan *X. campestris* pv. *campestris*
5. Isolat bakteri tanah kode P-C2 dan *X. campestris* pv. *campestris*
6. Isolat bakteri tanah kode K-D dan *X. campestris* pv. *campestris*
7. Kontrol positif (Bakterisida Streptomycin dan *X. campestris* pv. *campestris*)
8. Kontrol negatif (aquades dan *X. campestris* pv. *campestris*)

3.4.7 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis dari Rizosfer Perakaran Kubis pada Lahan Berbasis PHT dan Konvensional

Identifikasi bakteri dilakukan dengan berpedoman pada buku *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001). Enam isolat yang memiliki zona bening atau zona hambat paling tinggi dipilih kemudian dikarakterisasi dan diidentifikasi di Laboratorium Penyakit Tumbuhan. Beberapa metode yang digunakan adalah sebagai berikut,

a. Uji hipersensitif

Uji hipersensitif merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang diuji merupakan bakteri patogen atau bukan. Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri pada daun tanaman tembakau. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan reaksi nekrosis pada bagian daun tembakau yang diinokulasikan bakteri tersebut.

b. Uji Gram

Pewarnaan Gram

Bakteri yang berumur 24 jam dibuat suspensi dalam aquades steril dan diletakkan di atas gelas objek yang telah disterilisasi dan dikeringkan di atas pemanas Bunsen. Pengecatan gram bakteri selanjutnya dilakukan dengan memberikan kristal violet (5%) sebanyak 2-3 tetes selama satu menit dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, selanjutnya ditetesi dengan iodine sebanyak 1-2 tetes dan dibiarkan selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, kemudian dicuci dengan alkohol 70% dan dibiarkan hingga 20 detik, kemudian cuci dengan air mengalir dan keringkan. Tahapan selanjutnya yaitu tetesi dengan safranin 0,1% dan diamkan selama 20 detik lalu cuci dengan air mengalir, kering anginkan dan kemudian diamati dibawah



mikroskop. Sel bakteri dari Gram negatif akan menunjukkan warna merah, sedangkan sel bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu.

Uji KOH

Biakkan murni bakteri berumur 24 jam disuspensikan di atas gelas objek yang sebelumnya telah ditetesi KOH 3%, kemudian diaduk menggunakan jarum ose. Angkat jarum ose dari permukaan kaca preparat secara cepat dan berkali-kali. Bakteri Gram negatif ditunjukkan oleh suspensi bakteri yang lengket dan terangkat seperti benang bersama dengan jarum ose serta akan membentuk lendir, sedangkan apabila suspensi bakteri tersebut tetap encer atau tidak terangkat dengan ose, berarti suspensi bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif.

c. Pewarnaan spora

Bakteri berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril di atas gelas obyektif yang telah disterilkan dan dikeringkan di atas pemanas Bunsen, kemudian genangi olesan bakteri dengan *malachite green* yang diletakkan di atas pemanas selama 2-3 menit dan dijaga agar pewarna tidak menguap dan mendidih, setelah itu didinginkan dan dicuci dengan menggunakan aquades steril dan dikeringkan. Tahapan selanjutnya yaitu tetesi suspensi bakteri dengan safranin selama 30 detik dan dibilas dengan aquades steril dan dikeringkan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x ditambah minyak emersi. Jika bakteri mampu membentuk spora maka akan nampak spora yang berwarna hijau.

d. Uji oksidatif-fermentatif (OF)

Uji ini dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan isolat bakteri apakah bersifat aerob atau anaerob. Bahan yang digunakan untuk 1 L media uji ini yaitu, pepton 2 g, NaCl 5 g, KH_2PO_4 0,3 g, agar 3 g dan bromotymol blue 1% 3 ml. Bahan-bahan tersebut selanjutnya dilarutkan dan diatur pada pH 7,1 dan dituang kedalam tabung reaksi berdiameter 13 mm sebanyak 4,5 ml per tabung. Media tersebut selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang telah steril kemudian ditambahkan larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml pada setiap tabungnya.

Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara menusukkan bakteri dengan jarum ose pada media. Inokulasi dilakukan pada dua tabung, tabung pertama ditambahkan paraffin sebanyak 1 ml sebagai penutup yang diumpamakan sebagai kondisi anaerob dan tabung kedua dibiarkan tanpa penambahan paraffin



yang diumpamakan sebagai kondisi aerob. Kedua tabung tersebut diinkubasi pada suhu ruang dan pengamatan dilakukan pada perubahan warna yang terjadi. Apabila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung mengindikasikan positif untuk pertumbuhan anaerob dan sebaliknya.

e. Uji katalase

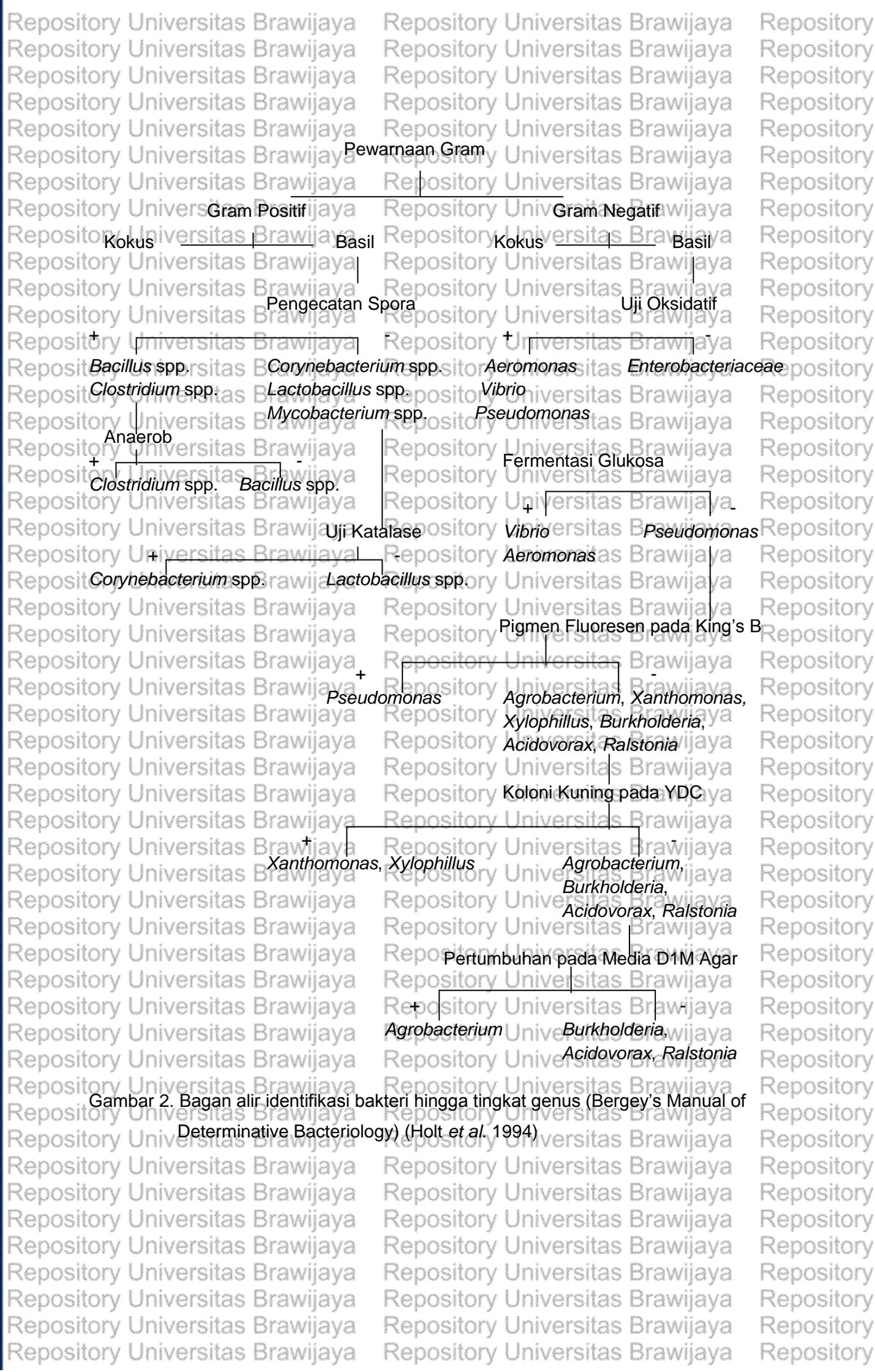
Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Uji katalase dilakukan dengan meletakkan satu ose koloni bakteri pada objek glass, kemudian koloni bakteri ditetesi dengan H_2O_2 3%. Apabila hasil pengamatan yang diamati menunjukkan gelembung maka hasilnya positif dan sebaliknya.

f. Pigmen fluorescens pada media King's B

Pengujian ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media selektif King's B dan diinkubasi selama 24-48 jam. Komposisi media King's B terdiri dari protease pepton 20 gram, K_2HPO_4 1,5 g, $MgSO_4.7H_2O$ 1,5g, gliserol 15 ml dan agar 15 g. Bakteri yang telah ditumbuhkan diamati dibawah sinar UV. Jika bakteri nampak berpendar maka bakteri tersebut mampu memproduksi pigmen fluorescent dan sebaliknya. Pada koloni bakteri yang berpendar dapat dimasukkan pada genus *Pseudomonas*.

g. Pertumbuhan pada media selektif YDC

Pengujian pertumbuhan pada media selektif YDC bertujuan untuk pertumbuhan selektif bakteri genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas*. Komposisi media YDC yaitu yeast 10 g, glukosa 20g, $CaCO_3$ 20 g dan agar 15g. Pengamatan yang dilakukan yaitu pada warna koloni bakteri yang tumbuh, reaksi positif ditunjukkan apabila bakteri yang ditumbuhkan berwarna kuning.



Gambar 2. Bagan alir identifikasi bakteri hingga tingkat genus (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology) (Holt et al. 1994)



3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Kelimpahan Bakteri Rizosfer

Variabel pengamatan pada pengujian ini merupakan data kuantitatif. Total koloni bakteri dihitung setelah masa inkubasi bakteri pada media NA selama 48 jam pada suhu ruang. Sampel yang dihitung yaitu pada bakteri yang dibiakkan pada media NA dari hasil pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} dan 10^{-9} . Total koloni yang dapat dihitung pada media NA adalah koloni dengan jumlah 30-300. Perhitungan total koloni dapat dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Kelimpahan bakteri (cfu/g)} = \frac{\sum \text{koloni terhitung} \times Y}{\text{Berat kering tanah (g)}}$$

Keterangan:

Y = Faktor pengenceran x volume sampel

3.5.2 Keanekaragaman Bakteri Rizosfer

Jumlah bakteri yang berbeda atau yang sering disebut keanekaragaman bakteri pada penelitian ini menjadi variabel pengamatan. Keanekaragaman bakteri akan mempengaruhi biodiversitas suatu ekosistem tanah. Bakteri yang beragam akan menyeimbangkan rantai makanan biota tanah. Konsep ini merupakan konsep keanekaragaman yang relatif paling dikenal dan paling banyak digunakan (Magurran, 1998). Indeks keanekaragaman Shannon dihitung dengan formula berikut:

$$H' = -\sum_{i=1}^S (p_i) (\ln p_i)$$

Keterangan:

$P_i = \sum n_i/N$

H' = Indeks keragaman Shannon-Wiener

P_i = Jumlah individu suatu spesies/jumlah total seluruh spesies

n_i = Jumlah individu spesies ke- i

N = Jumlah total individu

3.5.3 Indeks Penghambatan Bakteri Antagonis Terhadap Bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Pembentukan zona bening atau zona penghambat yang dihasilkan oleh bakteri rizosfer dari tanah lahan kubis PHT dan konvensional diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Indeks penghambatan tersebut menunjukkan potensi bakteri antagonis yang paling potensial dalam mengendalikan bakteri *X.*



campestris pv. *campestris*. Menurut Dias *et al.*, (2014) indeks penghambatan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut,

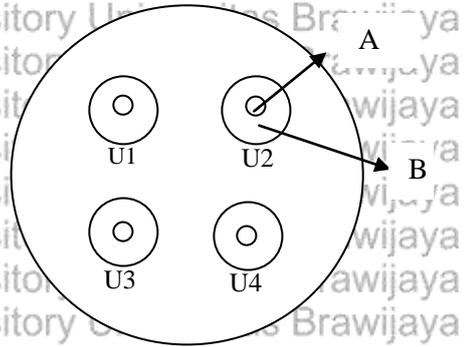
$$I = \frac{B - A}{B}$$

Keterangan:

I = Indeks zona hambat

A = Diameter koloni agens hayati

B = Diameter zona hambat



3.6 Analisis Data

Seluruh data hasil pengamatan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf 5%. Apabila dari hasil analisis menunjukkan hasil berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Uji Duncan 5% untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelusuran Budidaya Tanaman Kubis pada Lahan PHT dan Konvensional

Tabel 1. Perbedaan lahan kubis PHT dan konvensional berdasarkan hasil wawancara dengan petani pemilik lahan

Parameter	PHT	Konvensional
Pengolahan tanah	<ul style="list-style-type: none"> • Pengolahan tanah dilakukan dengan menggunakan cangkul dengan kedalaman 20-30cm. Kemudian rerumputan dan gulma dibersihkan dari lahan. • Lahan yang telah dibersihkan dari gulma dibuat bedengan dangkal dengan tinggi kurang lebih 10 cm sesuai dengan jarak tanam antar baris yaitu 70 cm dan membuat lubang tanam dengan jarak 50 cm. • Pada lubang tanam dimasukkan pupuk kandang berupa kotoran sapi yang sudah matang yaitu dengan dosis sebanyak 1 kg/lubang tanam. • Sisa hasil panen dikembalikan ke dalam tanah. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pengolahan tanah dilakukan dengan menggunakan cangkul dengan kedalaman 20-30cm. • Lahan dibuat bedengan dangkal dengan tinggi kurang lebih 10 cm sesuai dengan jarak tanam antar baris yaitu 70 cm dan membuat lubang tanam dengan jarak 50 cm. • Tidak mengaplikasikan pupuk kandang berupa kotoran sapi • Sisa hasil panen tidak dikembalikan ke dalam tanah.
Pemupukan	<ul style="list-style-type: none"> • Pupuk urea sebanyak 50 kg/ha, ZA 175 kg/ha, SP-36 175 kg/ha, KCl 150 kg/ha. • setelah tanaman kubis berumur 28 HST yaitu dengan mengaplikasikan 50 kg/ha urea, 250 kg/ha ZA, dan 150 kg/ha KCl. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pupuk urea sebanyak 100 kg/ha, ZA 250 kg/ha, SP-36 250 kg/ha, KCl 200 kg/ha. • Setelah tanaman kubis berumur 28 HST yaitu dengan mengaplikasikan 100 kg/ha urea, 250 kg/ha ZA, dan 200 kg/ha KCl.
Pengendalian OPT	<ul style="list-style-type: none"> • Mengaplikasikan agens hayati <i>Trichogramma</i> dan <i>Pseudomonas fluerescens</i> • Pengaplikasian pestisida dijadikan sebagai alternatif terakhir ketika serangan OPT sudah tidak dapat ditoleransi 	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak mengaplikasikan agens hayati • Penggunaan pestisida dilakukan pada lahan secara rutin untuk menghindari serangan OPT.
Produktivitas	6-8 ton/ha	4-6 ton/ha

Penelusuran budidaya tanaman kubis pada lahan PHT dan konvensional dilakukan dengan cara wawancara terhadap petani pemilik kedua lahan tersebut yaitu Bapak Senan. Lahan kubis berbasis PHT yang dimilikinya digunakan dan dirawat sendiri, sedangkan pada lahan kubis konvensional yang dimilikinya



disewakan kepada orang lain. Kegiatan wawancara dilakukan di Desa Junrejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur.

Bapak Senan memulai usaha budidaya tanaman berbasis PHT sejak tahun 2010. Sebelum menjadi lahan berbasis PHT, lahan yang dimilikinya merupakan lahan pertanian konvensional. Ilmu budidaya tanaman PHT didapatkannya dari sekolah lapang pengendalian hama terpadu (SL-PHT).

Varietas Grand 11 merupakan varietas kubis yang beliau gunakan dalam budidaya tanaman kubis secara PHT, beliau memilih varietas Grand 11 karena varietas ini merupakan varietas yang tahan terhadap penyakit busuk hitam tanaman kubis dan cocok ditanam pada lahan di Junrejo. Benih kubis varietas Grand 11 didapatkannya dari toko pertanian.

Benih kubis Grand 11 disemai pada tempat persemaian selama kurang lebih empat minggu sebelum dipindahkan dilapang. Tempat persemaian dipersiapkan dengan menggunakan papan yang dibentuk persegi panjang dan diberi naungan berupa plastik. Media tanam yang digunakan untuk persemaian yaitu campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1 yang sebelumnya telah disterilkan dengan menggunakan uap air panas selama dua sampai 3 jam.

Sebelum disebar, benih kubis diberi perlakuan yaitu dengan merendam dalam air hangat dengan suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ selama setengah jam kemudian benih kubis diangin-anginkan dan disebar rata pada tempat persemaian. Tujuan dari perendaman ini adalah untuk mematikan patogen yang mungkin terdapat pada benih dan untuk mempercepat perkecambah benih. Benih yang telah disebar ditutup sedikit dengan menggunakan media persemaian kemudian ditutup dengan menggunakan karung plastik yang bersih dan ditunggu tiga sampai empat hari hingga benih berkecambah kemudian tutup dibuka. Setelah bibit kubis berumur tiga sampai empat minggu atau hingga memiliki empat sampai lima daun dan bibit siap untuk dipindahkan dilapang.

Pengolahan tanah dilakukan dengan menggunakan cangkul dengan kedalaman 20-30 cm. Kemudian rerumputan dan gulma dibersihkan dari lahan. Selanjutnya lahan yang telah dibersihkan dari gulma dibuat bedengan dangkal dengan tinggi kurang lebih 10 cm sesuai dengan jarak tanam antar baris yaitu 70 cm dan membuat lubang tanam dengan jarak 50 cm. Setelah itu pada lubang tanam dimasukkan pupuk kandang berupa kotoran sapi yang sudah matang yaitu dengan dosis sebanyak 1 kg/lubang tanam.



Pemeliharaan tanaman yaitu dengan melakukan penyulaman, pengairan dan pengendalian gulma serta hama penyakit. Penyulaman dilakukan untuk mengganti tanaman yang mati dilapang. Penyiraman pada bibit kubis dilakukan setiap hari hingga umur bibit dua minggu, penyiraman diperjarang apabila kubis telah tumbuh secara normal. Selanjutnya Bapak Senan melakukan monitoring sebanyak 3 hari sekali untuk memastikan apakah tanamannya diserang oleh hama penyakit atau terdapat gulma pada lahannya yang mampu mengganggu produksi tanaman kubis yang beliau tanam. Aplikasi pestisida dilakukan apabila terdapat serangan hama dan penyakit yang cukup parah dan tidak bisa ditoleransi lagi tingkat serangannya. Pemanenan kubis dilakukan pada umur 85 hari setelah tanam.

Pada saat pemupukan awal pengolahan lahan pupuk yang diaplikasikan ke lubang tanam yaitu pupuk SP-36 dengan dosis 175 kg/ ha, pupuk urea 50 kg/ha, ZA 175 kg/ha dan pupuk KCl 150 kg/ha. Kemudian pemupukan susulan dilakukan setelah tanaman kubis berumur 28 HST yaitu dengan mengaplikasikan 50 kg/ha urea, 250 kg/ha ZA, dan 150 kg/ha KCl.

Pola tanam yang diterapkan oleh beliau yaitu tanaman padi, tanaman sayur, dan tanaman sayur. Pada lahan PHT beliau menerapkan penanaman tanaman pagar seperti tanaman jagung, tanaman bunga matahari, dan tanaman kenikir yang dimaksudkan sebagai tempat tinggal musuh alami.

Sistem budidaya tanaman kubis berbasis PHT dan konvensional dari persemaian hingga panen cenderung sama, yang membedakan adalah pada sistem budidaya konvensional memiliki pola tanam yang tidak beraturan dan tidak terjadwal serta dikelola dengan menggunakan pupuk dan pestisida kimia tanpa adanya tanaman pagar sebagai tempat tinggal untuk musuh alami dalam membantu menekan serangan OPT. Pengaplikasian pestisida pada lahan kubis konvensional dilakukan secara terjadwal tanpa mempertimbangkan persentase serangan OPT pada tanaman.

Pada saat pemupukan awal pengolahan lahan pupuk yang diaplikasikan ke lubang tanam yaitu pupuk SP-36 dengan dosis 250 kg/ha, pupuk urea 100 kg/ha, ZA 250 kg/ha dan pupuk KCl 200 kg/ha. Kemudian pemupukan susulan dilakukan setelah tanaman kubis berumur 28 HST yaitu dengan mengaplikasikan 100 kg/ha urea, 250 kg/ha ZA, dan 200 kg/ha KCl.



4.2 Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Kubis Berbasis PHT dan Konvensional

Kelimpahan bakteri rizosfer dihitung untuk mengetahui jumlah populasi koloni bakteri pada setiap perlakuan. Dari hasil isolasi bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional didapatkan sebanyak 15 isolat bakteri yang terdiri dari 12 isolat bakteri dari lahan kubis berbasis PHT dan 3 isolat bakteri dari lahan kubis berbasis konvensional. Hasil perhitungan kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional

PHT		Konvensional	
Kode isolat	Kelimpahan 10^9 CFU/g	Kode isolat	Kelimpahan 10^9 CFU/g
P-A1	101.52	K-D	140.82
P-A2	80.30	K-E	87.76
P-A3	1.52	K-F	281.63
P-A4	12.12		
P-A5	25.76		
P-B1	15.15		
P-B2	31.82		
P-B3	7.58		
P-B4	12.12		
P-B5	4.55		
P-C1	9.09		
P-C2	419.70		
Total	721.21		520.20

Keterangan: Kode isolat bakteri rizosfer P-A1, P-A2, P-A3, P-A4, dan P-A5 diambil dari hasil isolasi bakteri rizosfer pada lahan PHT dengan pengenceran 10^7 ; kode isolat bakteri rizosfer P-B1, P-B2, P-B3, P-B4, dan P-B5 diambil dari hasil isolasi bakteri rizosfer pada lahan PHT dengan pengenceran 10^8 ; kode isolat bakteri rizosfer P-C1 dan P-C2 diambil dari hasil isolasi bakteri rizosfer pada lahan PHT dengan pengenceran 10^9 ; kode isolat bakteri K-D, K-E, dan K-F diambil dari hasil isolasi bakteri rizosfer pada lahan kubis konvensional dengan pengenceran 10^7 untuk kode isolat K-D, 10^8 untuk kode isolat K-E, dan 10^9 untuk kode isolat K-F.

Tabel di atas menunjukkan bahwa total kelimpahan bakteri rizosfer yang ada pada lahan kubis berbasis PHT lebih tinggi dibandingkan dengan lahan kubis berbasis konvensional. Total kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan kubis



berbasis PHT yaitu sebesar $721,21 \times 10^9$ cfu/g sedangkan pada lahan kubis berbasis konvensional yaitu sebesar $520,20 \times 10^9$ cfu/g.

Perbedaan kelimpahan bakteri rizosfer antara lahan kubis berbasis PHT dan konvensional dapat dipengaruhi oleh pengelolaan lahan dan teknik budidaya yang diterapkan pada masing-masing lahan tersebut. Menurut Doran dan Zaiess (2000), organisme tanah termasuk bakteri merupakan indikator tanah yang cukup baik karena memiliki respon yang sensitif terhadap praktek pengelolaan lahan dan iklim.

Petani pada lahan kubis yang menerapkan sistem PHT menggabungkan beberapa teknik pengendalian dan menerapkan pendekatan ekologi untuk mengendalikan gangguan yang disebabkan oleh OPT, sedangkan pada lahan kubis berbasis konvensional yang digunakan sebagai pengendalian OPT oleh para petani yaitu dengan menggunakan pestisida dan dalam pengelolaan lahan para petani juga menggunakan bahan-bahan kimia seperti pupuk kimia serta dilakukannya pengelolaan lahan secara intensif yang dapat merusak struktur tanah sehingga mempengaruhi keberadaan mikroorganisme tanah termasuk bakteri rizosfer didalamnya. Menurut Khan (2003), pengelolaan lahan berbasis PHT merupakan pengelolaan agroekosistem yang baik karena PHT menerapkan pendekatan ekologi dalam pengendalian OPT dengan memadukan teknik pengendalian yang kompetibel, sedangkan teknik budidaya dengan mengandalkan aplikasi pestisida sebagai pengendalian tunggal dapat menyebabkan kerusakan keseimbangan alami ekosistem dan menyebabkan penurunan kelimpahan mikroorganisme suatu lahan.

Kelimpahan bakteri antara lahan kubis PHT dan konvensional juga dapat disebabkan oleh perbedaan wilayah pengambilan sampel bakteri rizosfer antar lahan. Menurut Tanati *et al.*, (2014), kelimpahan bakteri di daerah rizosfer sangat beragam antara wilayah satu dengan wilayah yang lainnya, semakin banyak dan padat akar suatu tanaman di dalam tanah maka semakin kaya kandungan organik pada rizosfer sehingga semakin padat pula populasi mikroba tanah termasuk agens hayati.



4.3 Keaneekaragaman Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Kubis Berbasis PHT dan Konvensional

Keaneekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional dihitung dengan menggunakan indeks keaneekaragaman *Shannon-Wiener*. Perhitungan dengan menggunakan indeks keaneekaragaman *Shannon-Wiener* dilakukan untuk memperoleh status keaneekaragaman komunitas bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional serta untuk menggambarkan keadaan populasi bakteri rizosfer pada lahan tersebut. Hasil perhitungan rata-rata keaneekaragaman bakteri rizosfer pada setiap lahan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata indeks keaneekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional

Jenis Lahan	Indeks Keragaman (H')	Kategori
PHT	1,46	Sedang
Konvensional	0,99	Rendah

Hasil perhitungan rata-rata indeks keaneekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional pada tabel di atas menunjukkan bahwa pada lahan kubis berbasis PHT memiliki keaneekaragaman bakteri rizosfer yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan keaneekaragaman bakteri rizosfer yang berada pada lahan kubis konvensional. Hasil indeks keaneekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT yaitu sebesar 1,46 dan indeks keaneekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis konvensional yaitu sebesar 0,99.

Menurut Restu (2002), apabila nilai keaneekaragaman *Shannon-Wiener* (H') kurang dari 1,0 menunjukkan bahwa keaneekaragaman yang rendah dan menunjukkan ekosistem yang tidak stabil, apabila H' diantara 1,0 sampai 3,322 menunjukkan bahwa keaneekaragaman sedang dengan produktivitas cukup dan kondisi ekosistem cukup seimbang, dan apabila H' lebih dari 3,322 menunjukkan bahwa keaneekaragaman tinggi dengan stabilitas ekosistem mantap.

Berdasarkan nilai tolak ukur tersebut dapat diartikan bahwa H' pada lahan kubis berbasis PHT masuk dalam kategori sedang yang berarti pada lahan kubis berbasis PHT ini memiliki kondisi ekologis yang cukup seimbang, sedangkan H' pada lahan kubis konvensional masuk dalam kategori rendah yang berarti pada lahan kubis berbasis konvensional ini memiliki keaneekaragaman bakteri rizosfer yang rendah dan memiliki ekosistem yang tidak stabil.



Menurut Ferfinia (2010), keanekaragaman dan populasi bakteri rizosfer dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH tanah, praktik pertanian, pemupukan, pemakaian pestisida, dan penambahan bahan organik. Pernyataan ini tidak jauh berbeda dengan Bustaman (2006) yang menyatakan bahwa keanekaragaman mikroorganisme tanah dipengaruhi oleh interaksi antara tanaman, kesuburan tanah, kondisi lingkungan fisik, dan tekanan mikroorganisme lain. Hal tersebut tercermin pada cara pengelolaan lahan dan praktik budidaya antar lahan kubis berbasis PHT dan konvensional.

Berdasarkan dari hasil wawancara petani pemilik lahan kubis berbasis PHT pada pengelolaan lahan dan praktik budidaya kubis berbasis PHT pemupukan dilakukan dengan menggunakan pupuk kandang dan mengembalikan sisa hasil panen ke lahan untuk mengembalikan unsur hara yang hilang untuk mendukung kesuburan tanah dan mencukupi nutrisi tanaman, untuk penggunaan pestisida dilakukan apabila serangan OPT sudah tidak dapat ditoleransi, berbeda dengan pengelolaan lahan dan praktik budidaya pada lahan kubis berbasis konvensional dimana pada lahan ini petani menggunakan pupuk dan pestisida kimia yang mempengaruhi kesuburan tanah dan kondisi fisik lingkungan sehingga kurang baik yang dapat merusak keseimbangan lingkungan.

Budidaya tanaman dengan menerapkan sistem PHT lebih mendukung keanekaragaman bakteri dalam suatu agroekosistem, dibandingkan dengan budidaya tanaman secara konvensional karena dalam budidaya secara PHT tidak menggunakan pestisida sintesis secara rutin tetapi dijadikan sebagai alternatif pengendalian terakhir (Effendi, 2007). Menurut Velazquez-Sepulveda *et al.*, (2012), tanah dan tanaman yang kaya akan nutrisi menarik beragam mikroorganisme termasuk bakteri untuk tumbuh dan berasosiasi dalam membatasi pertumbuhan patogen merugikan.

4.4 Seleksi Bakteri Rizosfer Hasil Eksplorasi yang Bersifat Antagonis Terhadap Bakteri *X. campestris* pv. *campestris* Secara *In Vitro*

Hasil eksplorasi bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional menghasilkan 15 isolat bakteri yang terdiri dari 12 isolat bakteri yang berasal dari lahan kubis berbasis PHT dan 3 isolat bakteri dari lahan kubis konvensional. Setelah dilakukan pengujian kemampuan antagonisnya terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*, terpilihlah 6 isolat bakteri yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* pv. *campestris* yang ditandai dengan adanya zona bening atau zona hambat yang terbentuk di



sekitar isolat bakteri tersebut. Menurut Hermawan *et al.*, (2007), zona bening merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa anti bakteri.

Isolat bakteri yang memiliki kemampuan zona hambat tersebut terdiri dari 5 isolat bakteri berasal dari lahan kubis berbasis PHT dan 1 isolat berasal dari lahan kubis konvensional. Hasil seleksi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil seleksi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* secara *in vitro*

Kode isolat	Diameter zona hambat(cm)
P-A1	1,67
P-A2	2,72
P-A3	0
P-A4	0
P-A5	2,21
P-B1	2,58
P-B2	0
P-B3	0
P-B4	0
P-B5	0
P-C1	0
P-C2	2,45
K-D	1,08
K-E	0
K-F	0

Keterangan: Kode isolat bakteri P-A3, P-A4, P-B2, P-B3, P-B4, P-B5, P-C1, K-E, dan K-F tidak memiliki diameter zona hambat.

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa hasil seleksi dari eksplorasi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* dengan diameter paling tinggi yaitu isolat bakteri yang berasal dari hasil eksplorasi lahan kubis berbasis PHT dengan kode isolat P-A2 dengan diameter zona hambat sebesar 2,72 cm dan yang memiliki diameter zona hambat paling rendah adalah isolat bakteri yang berasal dari lahan kubis konvensional dengan diameter zona hambat sebesar 1,08 cm. Kode isolat bakteri P-A3, P-A4, P-B2, P-B3, P-B4, P-B5, P-C1, K-E, dan K-F tidak memiliki diameter zona hambat. Menurut Lindow dan Brandl (2003), munculnya zona bening merupakan bentuk dari penghambatan oleh bakteri yang menunjukkan adanya aktivitas antagonisme terhadap bakteri patogen.



4.5 Pengujian Antagonis Bakteri Rizosfer Terhadap Bakteri *X. campestris* pv. *campestris* secara *in vitro*

Enam isolat yang mempunyai zona hambat atau zona bening dari hasil seleksi eksplorasi bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional selanjutnya diuji kemampuan antagonisnya terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisa menggunakan analisis ragam taraf 5% (Tabel lampiran 1). Hasil pengujian daya antagonis dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rerata zona hambat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

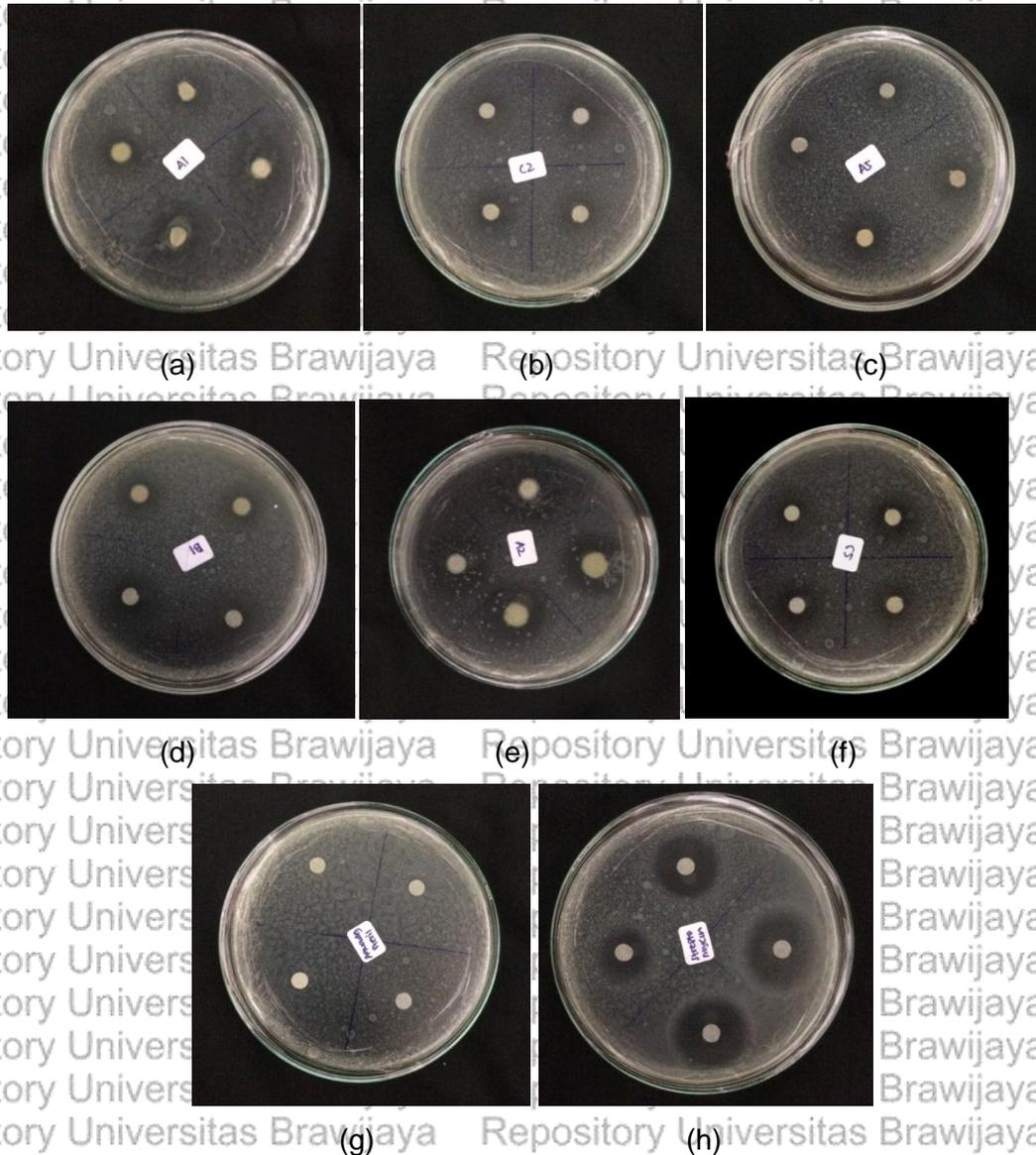
Kode isolat	Hari ke-1		Hari ke-2	
	Diameter (cm)		Diameter (cm)	
P-A1	1.60	a	1.60	a
P-A2	2.14	c	2.14	c
P-A5	1.60	a	1.60	a
P-B1	1.68	ab	1.68	ab
P-C2	1.47	a	1.47	a
K-D	1.68	ab	1.68	ab
Kontrol positif	1.88	bc	1.88	bc

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncun taraf 5%; kontrol positif menggunakan Bakterisida stertomycin.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama 2 hari setelah inokulasi (HSI) menunjukkan bahwa keenam isolat bakteri mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri *X. campestris* pv. *campestris*, hal ini terlihat dari zona bening yang dihasilkan oleh keenam isolat tersebut. Menurut Saputra *et al.*, (2015), pembentukan zona bening atau hambat mengindikasikan adanya mekanisme antibiosis dari isolat bakteri yang di uji terhadap bakteri patogen.

Pada tabel 5. dapat dilihat bahwa pengamatan zona hambat pada keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada 1 HSI dan 2 HSI tidak menunjukkan perubahan. Isolat bakteri yang memiliki zona hambat tertinggi selama 2 hari pengamatan adalah isolat bakteri dengan kode P-A2 dengan rerata diameter zona hambat yang konstan yaitu sebesar 2,14 cm, apabila dibandingkan dengan kontrol yaitu bakterisida yang memiliki rerata zona hambat sebesar 1,88 cm maka isolat bakteri kode P-A2 mempunyai kemampuan yang lebih besar untuk menghambat bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Sedangkan isolat bakteri yang memiliki rerata zona

hambat paling kecil dalam menghambat bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis yaitu isolat bakteri dengan kode isolat P-C2. Menurut Sallytha (2014), variasi diameter zona hambat yang terbentuk disebabkan karena adanya perbedaan daya antagonism dan hasil antibiotik yang berbeda pada setiap isolat bakteri.



Gambar 4. Zona hambat yang muncul pada pengujian antagonis bakteri rizosfer terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* secara *in vitro* pada cawan petri selama 48 jam. (a) isolat bakteri P-A1; (b) isolat bakteri P-C2; (c) isolat bakteri P-A5; (d) isolat bakteri P-B1; (e) isolat bakteri P-A2; (f) isolat bakteri K-D; (g) kontrol negatif (aquades); (h) kontrol positif (Bakterisida *Streptomycin*).



Hasil pengujian ini apabila rerata diameter zona hambatnya dibandingkan dengan seleksi awal hasil eksplorasi bakteri rizosfer maka hasil pada pengujian ini memiliki rerata diameter zona hambat yang lebih kecil atau menurun, hal ini dapat terjadi karena perbedaan waktu penyimpanan isolat bakteri pada saat diuji. Menurut Jawa (2016), konsentrasi senyawa antibakteri dapat membentuk luas zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu, penyimpanan yang cukup lama akan menyebabkan zona hambat yang terbentuk semakin lama semakin menurun tergantung pada sifat senyawa antibakteri yang dimiliki oleh isolat tersebut.

Adanya zona hambat atau zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antagonisme oleh bakteri terhadap patogen. Mekanisme antagonisme yang dilakukan oleh bakteri pada umumnya menggunakan hasil dari metabolit sekunder, seperti antibiotik, enzim, hormon, dan toksin. Beberapa bakteri antagonis dapat memproduksi suatu senyawa bioaktifator yang dapat berkompetisi dengan mikroorganisme lainnya untuk memperoleh ruang dan nutrisi untuk tumbuh (Lindow dan Brandl, 2003).

Bakteri yang menghasilkan suatu senyawa anti mikroba dapat menyebabkan interaksi yang bersifat antagonis antara bakteri yang menghasilkan senyawa tersebut dengan mikroba lain yang berada di sekitarnya. Melalui mekanisme antagonis yang dimiliki oleh bakteri rizosfer, keberadaan bakteri patogen dapat dihambat sehingga tidak menyebabkan penyakit pada tanaman. Mekanisme antibiotik yang ditunjukkan oleh bakteri dapat berupa pencegahan pembentukan dinding sel, penghambatan sintesis protein, perusak fungsi membran luar, penghambatan sintesis DNA atau dengan penghambatan sintesis molekul kecil lainnya (Haggag dan Mohamed, 2007).

4.6 Karakterisasi Bakteri Rizosfer yang Bersifat Antagonis Terhadap Bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Karakterisasi morfologi

Berdasarkan pengamatan secara morfologi yang telah dilakukan terhadap keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*, keenam isolat bakteri tersebut memiliki bentuk bulat. Isolat bakteri dengan kode P-A1, P-A5, P-B1, dan P-C2 memiliki koloni berwarna putih kuning, sedangkan untuk kode isolat bakteri P-A2 memiliki koloni bakteri berwarna putih dan untuk isolat bakteri dengan kode K-D memiliki koloni bakteri

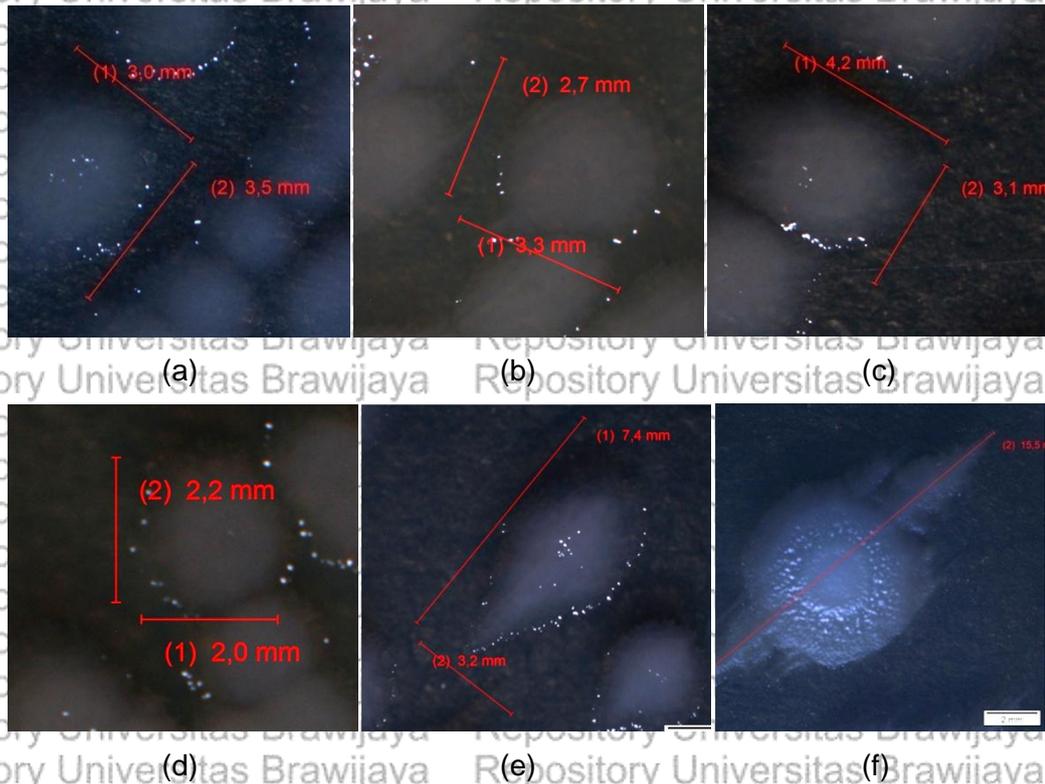


berwarna putih susu. Keenam tepian bakteri tersebut memiliki bentuk yang rata dengan sudut elevasi cembung dan mempunyai mukoid, kecuali isolat bakteri dengan kode K-D yang memiliki tepi berombak, elevasi rata dan tidak memiliki mukoid. Bentuk keenam koloni dari masing-masing isolat bakteri rizosfer dapat dilihat pada gambar 5.

Menurut Kusnadi (2006), bentuk sel bakteri dapat terlihat di bawah mikroskop cahaya, sel bakteri dapat berbentuk bulat (kokus), batang (basil), dan spiral. Penampakan koloni bakteri dapat dilihat dari bentuk keseluruhan penampakan koloni, tepi, dan permukaan koloni. Koloni bakteri dapat berbentuk bulat, tak beraturan dengan permukaan cembung, cekung atau datar serta tepi koloni yang rata atau bergelombang dan lain sebagainya.

Tabel 6. Ciri-ciri morfologi koloni bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Karakterisasi Koloni			
		Warna Koloni	Tepi	Elevasi	Mukoid
P-A1	Bulat	Putih kekuningan	Rata	Cembung	Mukoid
P-A2	Bulat	Putih	Rata	Cembung	Mukoid
P-A5	Bulat	Putih kekuningan	Rata	Cembung	Mukoid
P-B1	Bulat	Putih kekuningan	Rata	Cembung	Mukoid
P-C2	Bulat	Putih kekuningan	Rata	Cembung	Mukoid
K-D	Bulat	Putih susu	Berombak	Rata	Tidak



Gambar 5. Morfologi koloni bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. (a) isolat bakteri P-A1; (b) isolat bakteri P-A2; (c) isolat bakteri P-A5; (d) isolat bakteri P-B1; (e) isolat bakteri P-C2; (f) isolat bakteri K-D.

Karakterisasi fisiologi dan biokimia

Pengujian fisiologi dan biokimia terhadap keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap *X. campestris* pv. *campestris* ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu pengujian hipersensitif, pengujian Gram, pengujian KOH 3%, pengecatan endospora, pengujian oksidatif-fermentatif, pengujian katalase dan pertumbuhan bakteri pada media YDC. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia pada keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* dapat dilihat pada tabel 7.



Tabel 7. Karakterisasi fisiologi dan biokimia bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Pengujian	Kode isolat					
	A1	A2	A5	B1	C2	D
Hipersensitif	-	-	-	-	-	-
Pewarnaan Gram	-	-	-	-	-	+
KOH 3%	-	-	-	-	-	+
Pengecatan	TU	TU	TU	TU	TU	+
Spora	-	-	-	-	-	-
Bentuk Sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Uji Katalase	+	+	+	+	+	+
Uji OF	Fer	Fer	Fer	Fer	Fer	Oks
Media King's B	-	-	-	-	-	-
Media YDC	Kuning	Putih	Kuning	Kuning	Kuning	TU

Keterangan: (+) reaksi positif; (-) reaksi negatif; TU= Tidak diuji; Fer= Fermentatif; Oks= Oksidatif

1. Uji hipersensitif

Pengamatan yang dilakukan adalah 7 hari setelah menginfiltrasi isolat bakteri pada daun tanaman tembakau. Hasil uji hipersensitif yang dilakukan terhadap keenam isolat bakteri rizosfer yang diinfiltrasi ke tanaman tembakau tidak menunjukkan adanya reaksi negatif yang berarti bahwa keenam isolat bakteri rizosfer tersebut bukan termasuk dalam golongan bakteri patogen. Kontrol positif dilakukan dengan menginfiltrasi bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada daun tanaman tembakau dan menunjukkan hasil reaksi positif, hal ini ditunjukkan dengan adanya bagian daun tanaman tembakau yang diinfiltrasi mengalami respon nekrosis.

Wick (2010) menyatakan bahwa uji hipersensitif dinyatakan positif apabila daun tembakau yang diinfiltrasi dengan bakteri patogen menghasilkan respon nekrosis yang terlokalisir di bagian daun tembakau yang diinfiltrasi suspensi bakteri sehingga bakteri tersebut dikatakan sebagai bakteri yang bersifat patogen dan sebaliknya.



Gambar 6. Hasil pengujian hipersensitif pada tanaman tembakau (a) kontrol dengan menggunakan aquades steril; (b) pengujian hipersensitif pada isolat bakteri P-A2; (c) kontrol positif dengan menginfiltrasi bakteri *X. campestris* pv. *campestris*.

2. Pengujian Gram

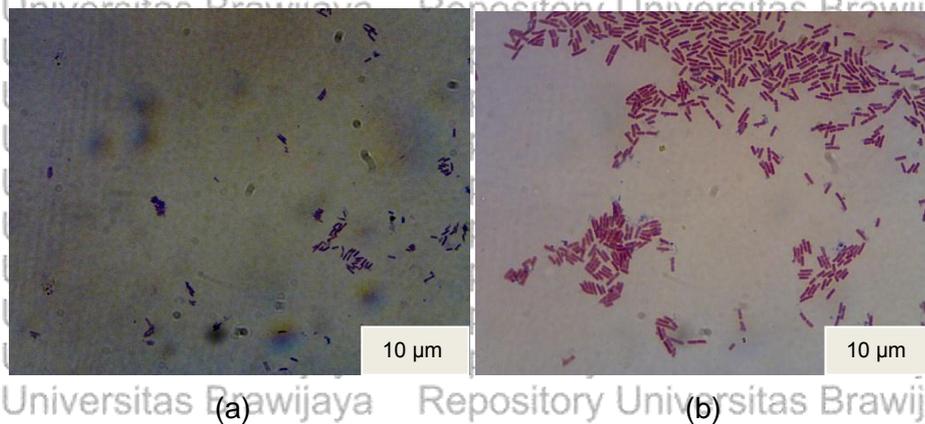
Pengujian Gram pada isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk dalam bakteri Gram positif atau Gram negatif. Pengujian Gram pada bakteri dilakukan dengan dua tahapan, tahapan yang pertama yaitu dengan cara pewarnaan Gram dan yang kedua yaitu uji KOH 3%.

Hasil pewarnaan Gram dari keenam isolat bakteri tersebut menunjukkan bahwa lima dari enam isolat bakteri antagonis yaitu isolat bakteri dengan kode P-A1, P-A2, P-A5, P-B1, dan P-C2 menunjukkan hasil berwarna merah, sedangkan pada isolat bakteri dengan kode K-D menunjukkan hasil berwarna ungu. Menurut Schaad *et al.*, (2001), bakteri Gram positif pada saat pewarnaan Gram ditandai dengan warna biru atau ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna Kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif pada saat pewarnaan Gram ditandai dengan warna merah muda yang menunjukkan bahwa

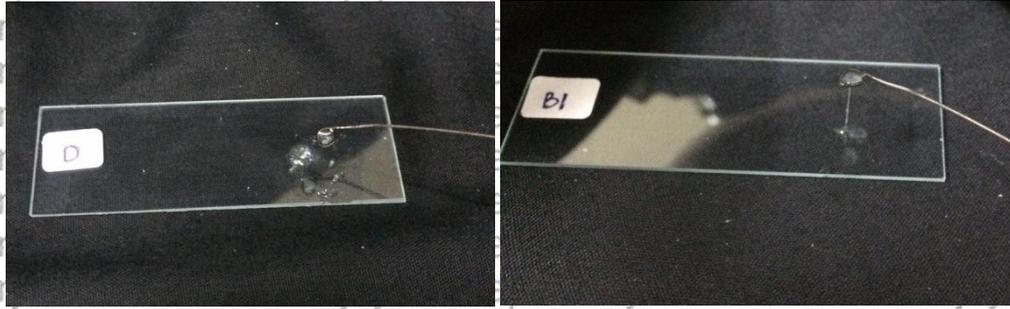


bakteri tersebut tidak dapat mengikat warna Kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin.

Hasil pengujian KOH 3% pada keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* yaitu isolat bakteri dengan kode P-A1, P-A2, P-A5, P-B1, dan P-C2 menunjukkan bahwa lima dari enam isolat bakteri tersebut memiliki lendir saat suspensi bakteri yang diuji diangkat yang berarti bahwa kelima isolat bakteri rizosfer ini masuk kedalam bakteri Gram negatif, sedangkan untuk isolat bakteri rizosfer dengan kode K-D tidak memiliki lendir saat suspensi bakteri tersebut diangkat menggunakan jarum ose yang menandakan bahwa bakteri ini masuk kedalam bakteri Gram positif. Menurut Waluyo (2005), bakteri Gram negatif memiliki komponen peptidoglikan yang tipis sehingga menyebabkan sel pada bakteri Gram negatif mudah pecah. Pecahnya sel bakteri ini melepaskan materi genetik berupa DNA yang merupakan substansi dari dalam sel bakteri, molekul DNA yang sangat panjang memberikan hasil seperti lendir ketika suspensi bakteri diangkat dengan menggunakan jarum ose.



Gambar 7. Uji Gram dengan pewarnaan Gram (betuk sel bakteri). (a) Isolat bakteri K-D memiliki koloni bakteri berwarna ungu (Gram positif); (b) Isolat bakteri P-C2 memiliki koloni bakteri berwarna merah (Gram negatif).



(a)

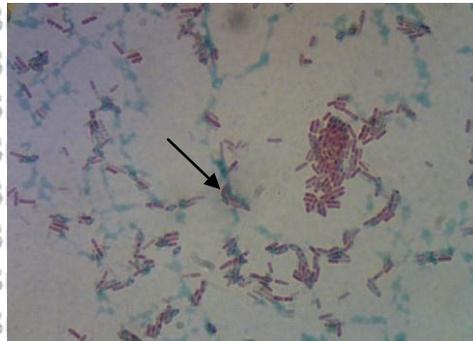
(b)

Gambar 8. Uji KOH 3 %. (a) isolat bakteri K-D tidak memiliki lendir saat jarum ose diangkat; (b) isolat bakteri P-B1 memiliki lendir saat jarum ose diangkat.

3. Pengecatan spora

Uji pengecatan spora merupakan uji lanjutan dari uji Gram, uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri rizosfer yang diuji memiliki spora atau tidak. Uji pengecatan spora hanya dilakukan pada isolat bakteri yang masuk kedalam kelompok bakteri Gram positif yaitu isolat bakteri dengan kode K-D. Hasil dari uji pengecatan spora pada isolat bakteri dengan kode K-D menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki spora, hal ini ditunjukkan dengan adanya warna hijau pada sel bakteri tersebut.

Menurut Schaad *et al.*, (2001), bakteri yang tidak memiliki spora cenderung tidak akan tahan terhadap pengecatan karena bakteri ini hanya memiliki sel vegetatif sehingga pada saat isolat bakteri tersebut diwarnai dengan menggunakan malachite green, sel vegetatif yang dimiliki oleh bakteri tersebut akan mampu berikatan dengan pewarna yang digunakan tersebut tetapi dapat dilunturkan dengan dilakukan pencucian karena bakteri tersebut tidak berikatan kuat dengan pewarna malachite green sehingga menghasilkan warna kehijauan atau putih pada spora bakteri dan warna merah pada sel vegetatifnya.

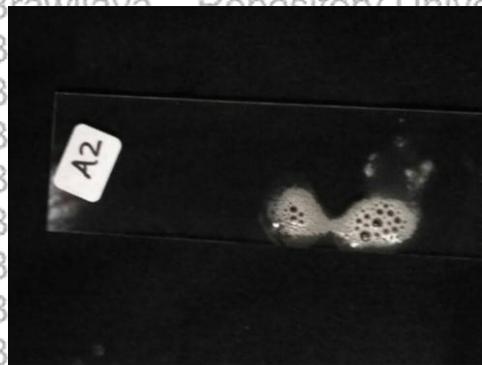


Gambar 9. Hasil pengecatan spora pada isolat bakteri K-D.



4. Uji katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang diuji mampu menghasilkan enzim katalase atau tidak. Hasil dari keenam isolat bakteri rizosfer yang diuji menunjukkan bahwa semua isolat bakteri ini yaitu isolat bakteri dengan kode P-A1, P-A2, P-A5, P-B1, P-C2, dan K-D bereaksi positif pada pengujian ini. Hal ini ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung gas pada suspensi bakteri yang ditetesi dengan H_2O_2 . Yurdakul *et al.*, (2013) menyatakan bahwa apabila pada saat suspensi bakteri, ditambahkan H_2O_2 dan menunjukkan adanya gelembung-gelembung gas maka dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim katalase.



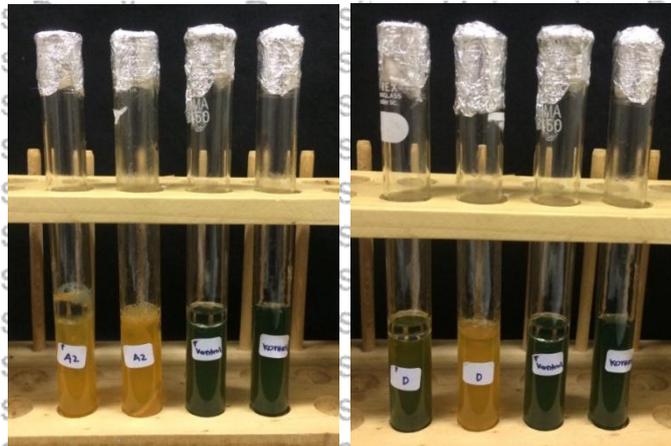
Gambar 10. Isolat bakteri P-A2 yang bereaksi positif pada saat uji katalase.

5. Pengujian oksidatif-fermentatif (OF)

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah sifat pertumbuhan isolat bakteri yang diuji bersifat oksidatif atau fermentatif. Hasil yang ditunjukkan oleh 5 isolat bakteri rizosfer yaitu dengan kode isolat P-A1, P-A2, P-A5, P-B1, dan P-C2 menunjukkan perubahan warna dari warna biru menjadi kuning pada kedua tabung reaksi yang diberi perlakuan dengan ditutup oleh parafin cair dan tidak ditutup dengan parafin yang berarti bahwa kelima isolat bakteri ini bersifat fermentatif, sedangkan pada isolat bakteri dengan kode isolat K-D menunjukkan tidak adanya perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung reaksi yang diberi perlakuan ditutup dengan parafin yang berarti bahwa isolat bakteri ini bersifat oksidatif.

Brown (2012) menyatakan bahwa adanya perubahan warna dari biru ke kuning setelah proses inkubasi menunjukkan bahwa bakteri yang diuji bersifat fermentatif. Parafin digunakan sebagai cairan penutup yang bertujuan untuk menciptakan kondisi yang anaerob, sedangkan untuk kondisi aerob dilakukan untuk uji oksidatif pada bakteri yang diuji. Jenis bakteri yang bersifat anaerob

merupakan bakteri yang melakukan metabolisme secara fermentatif dan sebaliknya



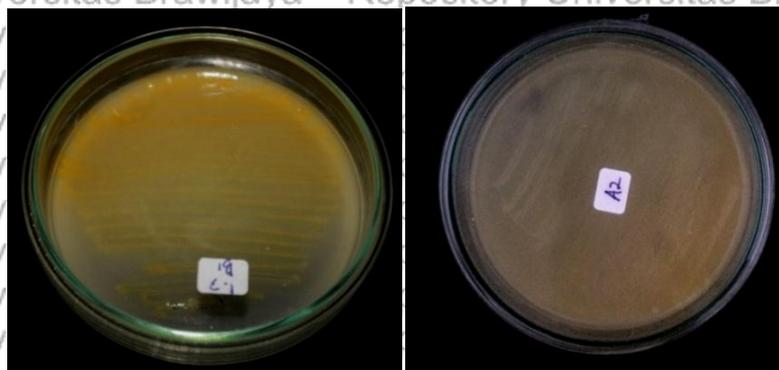
(a)

(b)

Gambar 11. (a) uji OF pada isolat bakteri P-A2 menunjukkan hasil fermentatif; (b) uji OF pada isolat bakteri K-D menunjukkan hasil oksidatif.

6. Pertumbuhan pada media YDC

Pengujian pada media selektif YDC merupakan pengujian lanjutan yang dilakukan pada bakteri Gram negatif untuk mengetahui apakah bakteri yang akan diuji merupakan bakteri yang berasal dari genus *Erwinia* sp. atau *Pantoea* sp.. Hasil dari pengujian ini yaitu pada isolat bakteri dengan kode P-A1, P-A5, P-B1, dan P-C2 menunjukkan koloni berwarna kuning yang tumbuh pada media YDC setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang yang berarti bahwa keempat bakteri tersebut masuk dalam genus *Pantoea* sp., sedangkan isolat bakteri dengan kode K-D memiliki koloni yang berwarna putih ketika ditumbuhkan pada media selektif YDC yang berarti bahwa bakteri ini merupakan bakteri dari genus *Erwinia* sp. Schaad *et al.*, (2001) menyatakan bahwa kelompok bakteri *Erwinia* sp. atau *Pantoea* sp. dapat dibedakan dengan melihat produksi pigmen berwarna kuning yang dihasilkan oleh bakteri *Pantoea* sp. yang tumbuh pada media selektif YDC. Masing-masing sampel isolat bakteri yang mewakili bakteri dari genus *Erwinia* atau *Pantoea* dapat dilihat pada gambar 12.



(a)

(b)

Gambar 12. Hasil pengujian isolat bakteri rizosfer pada media YDC. (a) isolat bakteri P-B1 koloni bakteri yang tumbuh berwarna kuning; (b) isolat bakteri P-A2 koloni bakteri yang tumbuh berwarna putih.

Identifikasi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Identifikasi terhadap keenam isolat bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* berdasarkan kepada buku pedoman Bergey's Manual of Determinative (1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Hasil dari identifikasi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* hingga tingkat genus dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*

Kode isolat	Genus
P-A1	Pantoea
P-A2	Erwinia
P-A5	Pantoea
P-B1	Pantoea
P-C2	Pantoea
K-D	Bacillus

Berdasarkan hasil identifikasi dan tabel di atas dapat dilihat bahwa genus bakteri *Pantoea*, *Erwinia*, dan *Bacillus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk. Zona hambat tertinggi yaitu ditemukan pada bakteri Genus *Erwinia* dengan kode isolat P-A2.

Mekanisme penghambatan antagonis bakteri *Pantoea* sp. dan *Erwinia* sp. menurut Summer *et al.*, (2009) yaitu dengan menghasilkan senyawa bioaktif dari golongan politekid, peptide, terpenoid, alkaholid, dan lipopeptida. Beberapa strain *Pantoea* sp. telah dilaporkan mampu menghasilkan senyawa antibiotik herbicolin, pantocin, phenazine, dan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang



secara tidak langsung dapat menghambat beberapa bakteri patogen pada tanaman. Salah satu genus *Pantoea* sp. yang mampu bersifat antagonis yaitu beberapa strain dari *Pantoea agglomerans* (Stockwell *et al.*, 2002).

Bothelo dan Mendona-Hagler (2006) menyatakan bahwa bakteri *Erwinia* sp. mampu menghasilkan senyawa antibiotik penazin yang dapat menghambat pertumbuhan patogen. Salah satu strain *Erwinia* yang tidak menimbulkan penyakit dan dapat menekan spesies *Erwinia* lainnya yaitu bakteri *Erwinia carotovora*. Menurut Balai Penelitian Tanaman Hias (2012), mikroba antagonis dari spesies bakteri *Erwinia carotovora* telah diformulasikan dalam bentuk tepung untuk mengendalikan penyakit busuk lunak pada kubis dan petsai di Negara Jepang.

Bacillus sp. mempunyai zat antibiotik yang berupa bacylin dan fengymycillo dan untuk beberapa isolat *Bacillus* sp. dapat memproduksi iturin yang memiliki kisaran hidup cukup luas (Hanudin, 2010). *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit tanaman melalui beberapa mekanisme seperti kompetisi, menginduksi ketahanan sistemik pada tanaman dan memproduksi antibiotik (Monteiro *et al.*, 2005).

Menurut Harni *et al.*, (2012), mekanisme kerja dari agens antagonis secara umum dapat digolongkan sebagai persaingan zat makanan, parasitisme, dan antibiosis. Mekanisme ketahanan lain yaitu kompetisi dengan patogen seperti kompetisi untuk mendapatkan tempat dan makanan karena memiliki ruang ekologis yang sama. Hal tersebut akan mempengaruhi kepadatan bakteri, tingkat kolonisasi bakteri dan lokasi bakteri dalam kaitannya dengan tempat makan patogen.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT lebih besar bila dibandingkan dengan lahan kubis konvensional. Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis yaitu sebesar $721,21 \times 10^9$ cfu/g, sedangkan pada lahan kubis berbasis konvensional yaitu sebesar $520,20 \times 10^9$ cfu/g.

Keanekaragaman bakteri rizosfer pada lahan kubis berbasis PHT masuk dalam katagori sedang yaitu dengan nilai rerata keragaman sebesar 1,46, sedangkan pada lahan kubis konvensional masuk dalam katagori rendah yaitu dengan nilai rerata keragaman sebesar 0,99.

Hasil identifikasi keenam isolat bakteri menunjukkan bahwa bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris* empat isolat bakteri dengan kode isolat P-A1, P-A5, P-B1, dan P-C2 termasuk kedalam genus *Pantoea* sp., satu isolat bakteri dengan kode isolat P-A2 masuk kedalam genus *Erwinia* sp. dengan kemampuan penghambatan terbaik, dan satu isolat bakteri dengan kode isolat K-D masuk kedalam genus *Bacillus* sp..

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut terhadap bakteri rizosfer yang telah ditemukan pada lahan kubis berbasis PHT dan konvensional secara molekuler untuk mengetahui spesies bakteri rizosfer yang bersifat antagonis terhadap bakteri *X. campestris* pv. *campestris*.



DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. San Diego California.
- Agustian, A., dan B. Rachman. 2009. Penerapan Teknologi Pengendalian Hama Terpadu Pada Komoditas Perkebunan Rakyat. Pusat Analisis Sosialisasi Ekonomi dan Kebijakan Pertanian. Bogor. *Perspektif* 8(1): 30-41.
- Ardi, R. 2009. Kajian Aktivitas Mikroorganisme Tanah pada Berbagai Kelerengan dan Kedalaman Hutan Alami. Skripsi. Departemen Kehutanan Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Balai Penelitian Tanaman Hias. 2012. Mikroba Antagonis Sebagai Agen Hayati Pengendali Penyakit Tanaman. Departemen Pertanian Cianjur. Jawa Barat.
- Bothelo, G.R., dan Mendona-Hagler, L.C. 2006. *Fluorescent Pseudomonas* Associated with The Rhizosphere of Crops- An Overview. *Brazilian J. Microbiol.* 37: 401-416.
- Brown. 2012. *Benson's Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*. Avne of the America. New York.
- Bustaman, H. 2006. Seleksi Mikroba Rizosfer Antagonis Terhadap Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Jahe di Lahan Tertindas. Universitas Bengkulu. Bengkulu. *J. Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*. 8(1): 12-18.
- Damongilala, L.J. 2009. Kadar Air dan Total Bakteri pada Ikan Roa (*Hermirhampus* sp.) ASA dengan Metode Pencucian Bahan Baku Berbeda. *J. Ilmiah Sains*. 9(2).
- Dias, C., A. Aires, dan M. Jose. 2014. Antimicrobial Activity of Isothiocyanates from Cruciferous Plants Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Molecular Sciences*. 15: 19552-19561.
- Diratmaja, A., dan Zakiah. 2015. Konsep Dasar dan Penerapan PHT Padi Sawah Di Tingkat Petani. BPTP Jawa Barat dan BBP2TP. *Agros* 17(1): 33-45.
- Doran, J.W. dan Zeiss, M.R. 2000. Soil Health and Sustainability: Managing the Biotic Component of Soil Quality. *Applied Soil Ecology*. 15: 3-11.
- Effendi, B.S. 2009. Strategi Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Padi dalam Perspektif Praktek Pertanian yang Baik (*Good Agricultural Practices*). Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Pengembangan Inovasi Pertanian 2(1): 65-78.
- Ferfina, A. 2010. Eksplorasi Bakteri dan Cendawan Rizosfer yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Basah pada Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) di Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Firdausi, W. 2017. Keanekaragaman Bakteri Filosfer pada Pertanaman Padi Dampak Penerapan PHT Skala Luas Serta Potensi Antagonisnya Terhadap Patogen *Xanthomonas campestris*. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang



Haggag, W.M. dan Mohamed, H.A.A. 2007. Biotechnological Aspects of Microorganism Used in Plants Biological Control. World Journal of Agriculture Sciences. 1: 7-12.

Hanudin, W., Nuryani, E., Djatnika, I., Marwolo, B. 2010. Formulasi Biopestisida Berbahan Aktif *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Corynebacterium* sp. Nonpatogenik untuk Mengendalikan Penyakit Karat pada Krisan. J. Hortikultura. 20(3): 102-114.

Harni, R., Supramana, M.S., Sinaga, Giyanto, dan Supriadi. 2012. Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus Brachyurus* pada Tanaman Nilam. Buletin Litro. 23(1): 102-114

Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Airlangga. Surabaya.

Higa, T., dan J.F. Parr. 1994. Beneficial and Effective Microorganisms for A Sustainable Agriculture and Environment. International Nature Farming Research Center Atanami. Japan. Hlm. 1-20.

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

Jawa, T. 2016. Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pembentuk Karies Gigi *Streptococcus mutans*. Universitas Sanata Sharma. Yogyakarta.

Kawaguchi, A., K. Inove, dan Y. Ichinose. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, And Tomato By Nonpathogenic Agrobacterium Vitis Strain Var 03-1J. Biological control. 98(11): 1218-1225.

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

Khan, M.Z. 2003. Effect of Pesticides on Biodiversity: Comparison of Malathion with Biosal on Protein Contents in *Calotes Versicolor*. J. Nat. Hist. Wild. 2(1):25-28.

Kusnadi. 2006. Struktur Sel Bakteri. FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.

Lindow, S.E. dan Brandl, M.T. 2003. Microbiology of the Phyllosphere. Appl Environ Microbiol. 69(4): 1875-1883.

Loon, V.L.C. 2000. Systemic Induced Resistance. Kluwr Academica Publisher. Netherland. Hlm. 512-574.

Lumoly, F.S., S. Emmy, dan M. Guntur. 2016. Insiden Penyakit Busuk Hitam pada Tanaman Brokoli (*Brasicca oleracea* var. *Italica*) di Tomohon. Program Studi Agroekoteknologi, Jurusan Hama dan Penyakit, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi, Manado. Manado.



Magurran, A.E. 1998. Ecological Diversity and Its Measurement. New Jersey: Princeton University Press.

Monteiro, L., L.R. Mariano, dan A.M.S Maior. 2005. Antagonism of *Bacillus spp.* Against *Xanthomonas campestris pv. campestris*. Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology 48(1): 23-29.

Nasahi, C. 2010. Peran Mikroba dalam Pertanian Organik. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran. Bandung.

Nurhayati. 2011. Penggunaan Jamur dan Bakteri dalam Pengendalian Penyakit tanaman Secara Hayati yang Ralambah Lingkungan. Prosiding Semirata

Nawangsih, A.A., T. Widjayanti, dan Y. Anisa. 2014. Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Sistem PHT-Biointensif serta Kemampuan Antagonismenya Terhadap *Sclerotium rolfsii* pada Kedelai. Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. J. HPT Tropika. 14 (2): 110-120.

Restu, I. W. 2002. Kajian Pengembangan Wisaa Mangrove di Taman Hutan Raya Ngurah Rai Wilayah Pesisir Selatan Bali. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Rukmana, R. 1994. Bertanam Petsai dan Sawi. Kanisius. Yogyakarta.

Sammer, U.F., Volksch, B., Mollmann, U., Schmidtke, M., dan Spitter P. 2009. 2-Amino-3-(Oxirane-2,3-Dicarbonylamido)-Propanoyl-Valine, Aneffective Peptin from The Epiphyte *Pantoea agglomerans* 48b/90. Appl. Environ. Microbiol. 75: 7710-7717.

Sallytha, A.A.M., Addy, H.S., Mihadjo, P.A. 2014. Penghambatan Actinomycetes Terhadap *Erwinia Carotovora* Subsh. *Carotovora* Secara *In Vitro*. Universitas Jember. Jember. 1(4): 70-72.

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. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 1(5): 1116-1122.

Schaad, N.W., J.B Jones, dan W. Chon. 2001. Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogen Bacteria. Ed ketiga. A press. St. Paul Minnesota.

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

Semangun, H. 2007. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Ed. Kedua. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Simarmata, T. 2013. Tropical Bioresources To Support Biofertilizer Industry and Sustainable Agriculture in Indonesia. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Soesanto, L. 2006. Penyakit Pascapanen. Kanisius. Yogyakarta.

Soesanto, L., E. Mugiastuti, dan R.F. Rahayu. 2010. Kajian Mekanisme Antagonis *Pseudomonas fluerescens* P60 Terhadap *Fusarium oxysporum*



F, sp. *lycopersici* pada Tanaman Tomat *In Vivo*. J. HPT Tropika 10(2): 108-115.

Stockwell, V.O., Johnson, K.B., Sugar, D., dan Loper, J.E. 2002. Antibiosis Contributes to Biological Control of Fire Blight byr *Pantoea agglomerans* Strain Eh252 in Orchards. APS Press. St. Paul Minnesota.

Supriadi. 2006. Analisis Resiko Agens Hayati untuk Mengendalikan Patogen Tanaman. J. Litbang Pertanian 3(25): 75-80.

Tanati, A. E., Nawangsih, A. A., dan Mutaqin, K. M. 2014. Kelimpahan Bakteri Rizosfer Tanaman Buah Merah dan Potensi Penghambatannya Terhadap *Fusarium* sp. Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Untung, K. 1997. Penerapan Prinsip-prinsip PHT pada Sub Sektor Perkebunan. Bahan Ceramah pada Apresiasi Proyek PHT Tanaman Perkebunan Rakyat. Jawa Barat.

Velazquez-sepulveda, I., Orozco-mosqueda, M. C., Prieto-brajas, C.M., Santoyo, G. 2012. Bacterial Diversity Associated With the Rizhosphere of Wheat Plants (*Triticum aestivum*): Toward A Metagenomic Analysis. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. Mexico. 81: 81-87.

Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Umum. UMM press. Malang.

Wick, R. 2010. Tobacco Hypersensitivity. The First Test to Screen Bacteria for Pathogenicity. NPDN News 5(7): 3-4.

Widyati, E. 2013. Peningnya Keragaman Fungsional Organisme Tanah Terhadap Produktivitas Lahan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peningkatan Produktivitas Hutan. 6(1): 29-37.

Yunita, M., Y. Hendrawan, dan R. Yulianingsih. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*. J. Keteknikan Pertanian Tripis dan Biosistem. 3(3): 237-248.

Yurdakul, N.E., Erginkaya, Z., dan unal, E. 2013. Antibiotic resistanced of *Enterococci*, Coagulase Negative *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* Isolated from Chicken Meat. Czech J. Food Sci. 31(1): 14-19.

Zulkarnain, H. 2013. Budidaya Sayuran Tropis. PT. Bumi Aksara. Jakarta. Hlm. 65.