

**EKSPLORASI AKTINOMISETES PADA LAHAN PERTANAMAN
NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN RAKYAT DI LAMPUNG**

(Skripsi)

Oleh
MERI DWI SAPUTRI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRAK

EKSPLORASI AKTINOMISETES PADA LAHAN PERTANAMAN NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN RAKYAT DI LAMPUNG

Oleh

MERI DWI SAPUTRI

Salah satu penyakit penting pada tanaman nanas adalah penyakit busuk lunak nanas, yang disebabkan oleh *Dickeya* sp.. Pengendalian penyakit belum banyak dilaporkan sehingga perlu diteliti. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi aktinomisetes dari tanah di lahan perkebunan nanas rakyat di Astomulyo dan Mulya Jaya, dan untuk mengetahui kemampuan aktinomisetes sebagai antagonis *Dickeya* sp. secara *in-vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada bulan Agustus sampai Desember 2016. Pengujian antagonisme aktinomisetes terhadap bakteri *Dickeya* sp. dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap diameter zona penghambatan pada hari ke-2 sampai hari ke-5 setelah aplikasi. Data diuji dengan analisis ragam dan nilai tengah antar perlakuan diuji dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5 %. Dari penelitian ini diperoleh 26 isolat aktinomisetes masing-masing sebanyak 12 isolat dari Astomulyo dan 14 isolat dari Mulya Jaya. Isolat yang diperoleh mempunyai ciri-ciri koloni yang bervariasi dalam hal ukuran, bentuk, tepian,

elevasi, dan warna. Dari 26 isolat tersebut, hanya 19 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan *Dickeya* sp. secara *in-vitro*, yaitu 8 isolat dari Astomulyo dan 11 isolat dari Mulya Jaya. Isolat A₁, A₂, A₄, MJ₁, MJ₂, MJ₆, dan MJ₁₂ mempunyai zona bening yang relatif paling besar.

Kata kunci: aktinomisetes, antagonisme, *Dickeya* sp., zona penghambatan

**EKSPLORASI AKTINOMISETES PADA LAHAN PERTANAMAN
NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN RAKYAT DI LAMPUNG**

Oleh
MERI DWI SAPUTRI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

Pada
**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

Judul Skripsi : **EKSPLORASI AKTINOMISETES PADA LAHAN PERTANAMAN NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN RAKYAT DI LAMPUNG**

Nama Mahasiswa : **Meri Dwi Saputri**

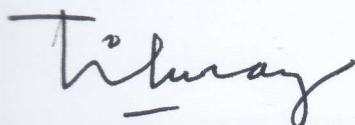
Nomor Pokok Mahasiswa : 1214121128

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.
NIP 196201071986032001



Dr. Ir. Suskandini Ratih D., M.P.
NIP 196105021987072001

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

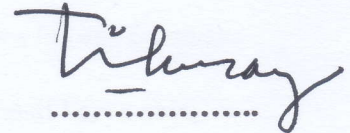


Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

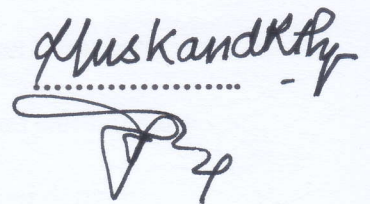
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.



Sekretaris : Dr. Ir. Suskandini Ratih D., M.P.



Penguji
Bukan Pembimbing : Ir. Joko Prasetyo, M.P.

.....



Dekan Fakultas Pertanian


Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Mei 2017

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Eksplorasi Aktinomisetes pada Lahan Pertanaman Nanas (*Ananas comosus*) di Perkebunan Rakyat di Lampung**" merupakan hasil karya saya sendiri bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah sesuai Penulisan Karya Ilmiah Universitas Lampung. Apabila kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Juni 2017

Penulis,



Meri Dwi Saputri
NPM 1214121128

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Balam Asri Kecamatan Panaragan Jaya Kabupaten Tulang Bawang pada 08 Mei 1994, sebagai anak ke dua dari dua bersaudara dari Bapak Sukamso dan Ibu Katinah.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) PGRI 1 Tanjung Harapan Lampung Timur pada tahun 2000, Sekolah Dasar (SD) N 1 Tanjung Harapan Lampung Timur pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama (SMP) N 2 Sekampung Lampung Timur pada tahun 2009, dan Madrasah Aliyah (MA) Ma'arif NU 5 Sekampung Lampung Timur pada tahun 2012. Pada tahun 2012 Penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) undangan.

Pada tahun 2015 Penulis menjadi Asisten Dosen pada praktikum mata kuliah Pengendalian Terpadu Hama dan Penyakit Tanaman Karet untuk Program Studi D3 Perkebunan dan Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman untuk Program Studi Agribisnis. Selain itu, penulis juga aktif di Unit Kegiatan Mahasiswa Fakultas Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (UKMF PERMA AGT) sebagai anggota bidang Pengembangan Masyarakat (2013) dan Anggota Bidang Penelitian dan

Pengembangan (2014) dan Unit Kegiatan Mahasiswa GUMPALAN Fakultas Pertanian Universitas Lampung (2013).

Pada tahun 2015 Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Great Giant Pineapple (GGP) di Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah.

Pada tahun 2016 Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Suka Raja Kecamatan Way Tenong Kabupaten Lampung Barat.

*“Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar”
(Q.S. Al-Anfal : 46)*

*“Sesungguhnya hanya orang-orang yang bersabarlah
yang dicukupkan pahala mereka tanpa batas”
(Q.S. Az-Zumar : 10)*

Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya kecil ini untuk:
Keluargaku : Bapak Sukamso, Ibu Katinah, kakak Evi, Erwin, Sunyoto, adik
Amel, dan Arshen yang telah memberikan semangat dan doa kepada Penulis.

Serta

Almamater tercinta

AGROTEKNOLOGI UNIVERSITAS LAMPUNG

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang karena atas segala rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Eksplorasi Aktinomisetes pada Lahan Pertanaman Nanas (*Ananas comosus*) di Perkebunan Rakyat di Lampung”** Penelitian ini merupakan sebagian dari penelitian dosen Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.. Melalui tulisan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu baik dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penulisan hasil penelitian, khususnya kepada :

1. Ibu Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Utama atas ide dan izin yang diberikan untuk mengikuti sebagian dari penelitian beliau, bimbingan, saran, dan motivasi yang telah diberikan selama penelitian sampai dengan penulisan skripsi ini selesai.
2. Ibu Dr. Ir. Suskandini Ratih D., M.P., selaku Pembimbing Kedua atas saran, nasihat, dan bimbingan selama penelitian sampai penulisan skripsi ini selesai.
3. Bapak Ir. Joko Prasetyo, M.P., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan dan arahan yang diberikan.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M. Sc., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran, nasihat dan bimbingan kepada penulis dari awal semester satu hingga penulis menyelesaikan skripsi.

5. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
7. Bapak Radix Suharjo, SP., M.Agr., Ph.D., dan Yuyun Fitriana, SP., M.P., Ph.D., terimakasih atas bantuan, doa dan dukungannya.
8. Bapak Paryadi, Mbak Uum, Mas Jeni, Mustofa terimakasih atas bantuan yang diberikan selama penulis melaksanakan penelitian di laboratorium.
9. Kedua orang tua tercinta Bapak Sukamso dan Ibu Katinah, kakak Evi, Sunyoto, Erwin, adik Amel, dan Arshen yang selalu memberikan doa dan dukungan secara moral dan material.
10. Rekan-rekan penulis Wulandari, Diyan, Aeni, Nova, Nia A, Berry, Aziz, Anisa, Mba Dina, Windari, Santia, Yuni, Lutfi, Maret, Maulina, Lesty, dan Nia yang telah memberikan bantuan, dukungan, kerjasama dan teman-teman Agroteknologi angkatan 2012 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini diridhoi Allah SWT dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Juni 2017

Penulis,

Meri Dwi Saputri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Percobaan	3
1.3 Kerangka Pemikiran	3
1.4 Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	5
2.2 Penyakit Busuk Lunak Nanas	6
2.2.1 Penyebab penyakit	6
2.2.2 Gejala penyakit	6
2.2.3 Penyebaran penyakit	8
2.2.4 Pengendalian penyakit	8
2.3 Aktinomisetes	9
2.3.1 Taksonomi aktinomisetes	9
2.3.2 Biologi aktinomisetes	9

2.3.3 Habitat aktinomisetes	11
2.3.4 Manfaat aktinomisetes	12
III. BAHAN DAN METODE	13
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Metode Penelitian	14
3.4 Pelaksanaan Penelitian	14
3.4.1 Pembuatan media ekstrak malt	14
3.4.2 Pembuatan media PPGA (<i>Potato Pepton Glucose Agar</i>) ...	15
3.4.3 Penyiapan isolat bakteri <i>Dickeya</i> sp.	15
3.4.4 Penyiapan sampel tanah	16
3.4.5 Isolasi aktinomisetes	17
3.4.6 Pengujian Gram	17
3.4.7 Pengujian antagonisme aktinomisetes terhadap <i>Dickeya</i> sp.	18
3.4.8 Karakterisasi isolat aktinomisetes	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Hasil	20
4.1.1 Jumlah isolat aktinomisetes	20
4.1.2 Hasil pengujian Gram	21
4.1.3 Antagonisme isolat aktinomisetes terhadap bakteri patogen busuk lunak nanas (<i>Dickeya</i> sp.)	22
4.1.4 Ciri-ciri aktinomisetes isolat Astomulyo dan Mulya Jaya ...	23
4.2 Pembahasan	30
V. SIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Simpulan	36

5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42
Tabel 8-23	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Lahan dengan tanaman, jumlah isolat, nama isolat dari Astomulyo dan Mulya Jaya	21
2. Antagonisme aktinomisetes isolat Astomulyo terhadap <i>Dickeya</i> sp.	22
3. Antagonisme aktinomisetes isolat Mulya Jaya terhadap <i>Dickeya</i> sp.	23
4. Ciri-ciri koloni aktinomisetes isolat Astomulyo	25
5. Ciri-ciri koloni aktinomisetes isolat Mulya Jaya	26
6. Ciri-ciri mikroskopis aktinomisetes isolat Astomulyo	28
7. Ciri-ciri mikroskopis aktinomisetes isolat Mulya Jaya	28
8. Analisis ragam diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-2	43
9. Analisis ragam diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-3	43
10. Analisis ragam diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-4	43
11. Analisis ragam diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-5	44
12. Analisis ragam diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-2	44
13. Analisis ragam diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-3	44
14. Analisis ragam diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-4	45
15. Analisis ragam diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-5	45
16. Data mentah diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-2	45
17. Data mentah diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-3	46
18. Data mentah diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-4	46

19. Data mentah diameter zona bening isolat Astomulyo pada hari ke-5	46
20. Data mentah diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-2	47
21. Data mentah diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-3	47
22. Data mentah diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-4	48
23. Data mentah diameter zona bening isolat Mulya Jaya pada hari ke-5	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian daun tanaman nanas yang terserang busuk lunak nanas (sumber : Kaneshiro dkk., 2008)	7
2. Bagian tanaman nanas yang terserang busuk lunak nanas : (a) permukaan kulit buah, (b) bagian dalam buah, dan (c) mahkota buah (sumber : Prasetyo dan Aeny, 2014)	8
3. Hasil uji Gram dengan KOH 3%	22
4. Hasil uji antagonisme : (a) terbentuk zona bening dan (b) tidak terbentuk zona bening	23
5. Ciri khas beberapa koloni aktinomisetes : (a) isolat A ₁ , (b) isolat A ₂ , (c) isolat A ₄ , dan (d) isolat A ₁₀	24
6. Ciri-ciri bentuk dan susunan sel aktinomisetes : (a) kokus, (b) basilus, (c) streptobasil, dan (d) kokobasilus (Perbesaran 100x) ...	29
7. Isolat aktinomisetes yang mengubah warna media : isolat MJ ₁₄ (3 hsi)	29

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanas (*Ananas comosus* L. Merr.) merupakan salah satu jenis buah-buahan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat dalam bentuk segar maupun olahan.

Meskipun bukan tanaman asli Indonesia, nanas banyak ditanam di berbagai daerah di Indonesia dalam skala kecil di pekarangan rumah maupun dalam skala luas oleh perusahaan swasta. Tanaman nanas diketahui berasal dari Brazil, Amerika Selatan yang kemudian berkembang luas ke negara-negara Madagaskar, India, Filipina, Nepal, Singapura, Taiwan, Afrika Selatan, Eropa, dan Indonesia (Rukmana, 1996).

Saat ini nanas merupakan salah satu tanaman hortikultura yang semakin banyak dibudidayakan oleh masyarakat karena memiliki prospek untuk terus dikembangkan. Produksi buah nanas di Indonesia pada tahun 2013 mencapai 1.837.159 ton dan diprediksi akan terus meningkat di masa yang akan datang. Di Indonesia, terdapat beberapa sentra produksi nanas yaitu Lampung yang berkontribusi sebesar 722.620 ton, Sumatra Utara 228.136 ton, Jawa Timur 168.788 ton, Jambi 156.369 ton, Jawa Barat 117.363 ton, dan Jawa Tengah 113.092 ton (Badan Pusat Statistik, 2016).

Dalam usaha peningkatan produksi nanas masih ditemukan berbagai kendala, diantaranya adalah adanya penyakit tanaman yang menyebabkan kerusakan pada tanaman dan menurunnya hasil panen. Salah satu penyakit penting pada tanaman nanas adalah penyakit busuk hati yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi* (Kaneshiro dkk., 2008). Penyakit ini menjadi penting karena sulit dikendalikan.

Pengendalian penyakit busuk lunak pada tanaman nanas umumnya dilakukan secara kimiawi yaitu menggunakan pestisida kimia. Penggunaan pestisida yaitu dengan menggunakan insektisida yang ditujukan untuk mengendalikan vektor penyakit busuk lunak terutama semut (DoA, 2009). Namun, penggunaan insektisida berpotensi menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan dan lingkungan sehingga perlu dilakukan pengendalian alternatif yang aman dan ramah lingkungan. Salah satu pengendalian yang ramah lingkungan yaitu dengan cara pengendalian hayati dengan bakterisida *copper sulphate* dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) dengan konsentrasi rendah untuk penyemprotan buah nanas (DoA, 2009). Alternatif lain yaitu dengan pemanfaatan berbagai mikroba tanah yang menguntungkan, misalnya mikroba kelompok aktinomisetes. Dikaitkan dengan keberadaan aktinomisetes maka perkebunan rakyat yang menerapkan sistem olah tanah konservasi (OTK) atau mengurangi intensitas pengolahan tanah (Hasibuan, 2009). Diduga terdapat keragaman aktinomisetes. Hal ini sejalan dengan Fahmuddin dan Widiyanto (2004), bahwa penggunaan OTK dapat memperbaiki struktur tanah melalui peningkatan pori makro yang mengakibatkan fauna (hewan) tanah menjadi lebih aktif.

Suwandi (1993) *dalam* Sallytha (2014) melaporkan bahwa aktinomisetes memiliki potensi sebagai agen pengendalian hayati. Namun, sampai saat ini belum banyak penelitian tentang pemanfaatan aktinomisetes sebagai agen pengendalian bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman nanas.

1.2 Tujuan Percobaan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengisolasi aktinomisetes dari tanah di lahan perkebunan nanas rakyat di Lampung dan mengetahui ciri-cirinya.
2. Mengetahui kemampuan aktinomisetes sebagai antagonis *Dickeya* sp. penyebab penyakit busuk lunak nanas secara *in-vitro*.

1.3 Kerangka Pemikiran

Dengan cara pengolahan tanah yang sederhana pada umumnya diperoleh jumlah fauna yang lebih tinggi dibandingkan cara pengolahan tanah secara intensif (Utomo, 2012). Salah satu kelompok fauna yang ada di dalam tanah pertanaman nanas yaitu dari kelompok aktinomisetes. Ambarwati dan Gama (2009) melaporkan hasil sampel tanah sawah dari 5 titik, terdapat 11 isolat dari 35 isolat hasil pewarnaan yang menunjukkan ciri-ciri aktinomisetes. Susilowati dkk. (2007) melaporkan hasil sampel tanah dari 39 lokasi di Indonesia, terdapat 115 isolat aktinomisetes. Pujiati (2014) melaporkan bahwa mendapatkan tiga genus dari aktinomisetes yaitu *nocardia*, *streptomyces*, dan *nocardiopsis* yang diambil dari tanah rizosfer perkebunan teh Jamus di Ngawi Jawa Timur.

Susilowati dkk. (2007) melaporkan bahwa dari sampel tanah yang berasal dari berbagai daerah di Indonesia didapatkan 115 isolat aktinomisetes, 40 isolat berpotensi sebagai agensia penghasil senyawa antibakteri, 19 isolat yang menghambat pertumbuhan enteropatogen *Escherichia coli* dan 21 isolat yang menghambat pertumbuhan *Pseudomonas pseudomallei*. Suryani dkk. (2014) melaporkan bahwa dari 24 isolat aktinomisetes yang diambil dari kebun nanas di Desa Rimbo Panjang Kampar Riau, terdapat 10 isolat yang dapat menekan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan 16 isolat yang menekan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in-vitro*. Penelitian Sallytha (2014) melaporkan bahwa dari sampel tanah sentra tembakau di Jember diperoleh 12 isolat aktinomisetes yang memiliki sifat antagonis terhadap *Erwinia carotovora*.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas, hipotesis yang diajukan adalah terdapat beberapa isolat aktinomisetes yang dapat menghambat pertumbuhan *Dickeya* sp. penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman nanas secara *in-vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Nanas (*Ananas comosus*)

Tanaman nanas berasal dari Brazil, Amerika Selatan (Rukmana, 1996).

Masuknya tanaman nanas diduga pada abad ke-15, yaitu tahun 1599 yang dibawa oleh pelaut Spanyol dan Portugis (Mellisa, 2013). Tanaman nanas dapat tumbuh dan beradaptasi baik di daerah tropis dengan temperatur antara 21-27⁰C, curah hujan 1.000-1.500 mm per tahun, kelembaban udara 70-80 %, dan pH antara 4,5-6,5. Tanaman nanas cocok tumbuh di semua jenis tanah, tetapi tumbuh baik di tanah lempung berpasir sampai berpasir dan cukup mengandung banyak bahan organik (Hadiati dan Indriyani, 2008).

Nanas adalah tanaman buah berupa semak yang bersifat tahunan. Tinggi tanaman berkisar 50-150 cm. Daun berbentuk pedang dengan panjang \pm 100 cm dan lebar 2-8 cm. Ujung daun nanas lancip, tepi daun memiliki duri, dan warna daun hijau. Bentuk buah nanas yaitu bulat panjang dengan warna daging nanas muda yaitu hijau dan warna daging nanas tua atau masak yaitu kuning. Buah nanas muda mempunyai mata berwarna kelabu atau hijau muda dengan kelopak berukuran kecil menutupi separuh dari mata dan berwarna kelabu keputih-putihan sehingga buah tampak kelabu. Warna mata buah akan berubah menjadi kekuningan saat buah masak (Tim Karya Tani, 2010).

Menurut Prihatman (2000), tanaman nanas diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Angiospermae
Ordo	: Farinosae
Famili	: Bromeliaceae
Genus	: Ananas
Spesies	: <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.

2.2 Penyakit Busuk Lunak Nanas

2.2.1 Penyebab penyakit

Salah satu masalah utama dalam budidaya tanaman nanas di Indonesia adalah penyakit busuk lunak disebabkan oleh *Dickeya* sp. (*Erwinia chrysanthemi*) yang menginfeksi tanaman nanas (Tohn dan Elphinstone, 2017). Tahun 2001 ditemukan penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi* yang menyerang beberapa daerah di Malaysia seperti Tanah Merah, Pasir Emas, Kelantan, Kuala Ketil, Kedah, Perak, dan Pontian (Sahilah dkk., 2008). Desember 2003 ditemukan penyakit busuk hati pada lahan pertanaman nanas di Hawaii pada bibit *sucker* yang diimpor dari Costa Rica dan Honduras. Diduga penyebab penyakit dilaporkan sebagai *Erwinia chrysanthemi* (Kaneshiro dkk., 2008). Samson dkk. (2005) melaporkan bahwa *Erwinia chrysanthemi* pada tanaman nanas termasuk sebagai salah satu spesies *Erwinia* yang diklasifikasi ulang menjadi genus baru, yaitu *Dickeya* .

2.2.2 Gejala penyakit

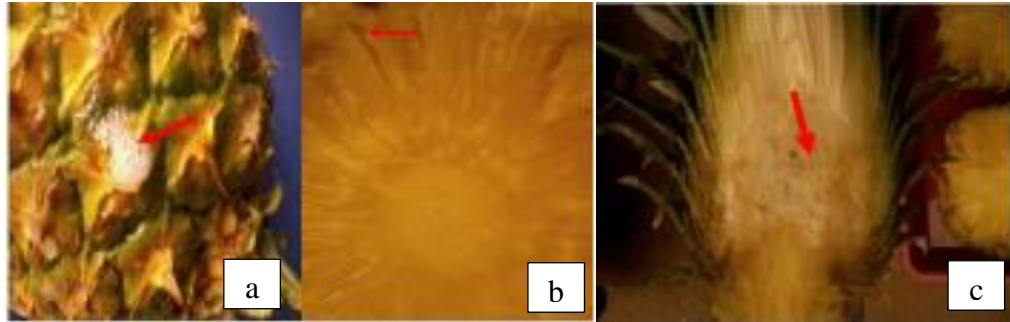
Gejala penyakit busuk lunak pada tanaman nanas yang disebabkan bakteri muncul dicirikan oleh adanya *water-soaked* pada bagian daun di bagian tengah yang mengelilingi meristem apikal, diikuti dengan pembentukan garis-garis berwarna

coklat di lamina dan jaringan mesofil (Gambar 1). Beberapa hari setelah meristem apikal dan tunas lateral terinfeksi batang dapat dengan mudah terlepas dari bawah tanah. Gejala akan berkembang 1-2 minggu setelah infeksi (Kaneshiro dkk., 2008).



Gambar 1. Bagian daun tanaman nanas yang terserang busuk lunak nanas (sumber : Kaneshiro dkk., 2008)

Prasetyo dan Aeny (2014) menjelaskan bahwa selain pada daun, gejala busuk lunak ditemukan pada buah. Warna buah tetap hijau tetapi terdapat cairan yang keluar berupa gelembung-gelembung udara pada permukaan buah tersebut. Penampang buah yang sakit menunjukkan bagian dalam buah membusuk, kemudian berkembang membentuk rongga-rongga dan mengeluarkan bau yang busuk. Pembusukan yang terjadi pada rongga buah nanas dapat menjalar ke mahkota buah dan kemudian jaringan dasar mahkota (Gambar 2). Hasil penelitian Kaneshiro dkk. (2008) menyatakan bahwa buah nanas muda yang terinfeksi secara laten, menimbulkan busuk lunak secara cepat dan mati saat berbuah. Tanaman nanas berusia 3-8 bulan yang berasal dari bibit *crown* dan *sucker* sangat rentan terhadap infeksi bakteri. Serangan bakteri pada buah nanas yang masih muda dapat menyebabkan gejala busuk lunak dengan cepat dan buah akan mengalami rebah (*collapse*).



Gambar 2. Bagian tanaman nanas yang terserang busuk lunak nanas : (a) permukaan kulit buah, (b) bagian dalam buah, dan (c) mahkota buah (sumber : Prasetyo dan Aeny, 2014)

2.2.3 Penyebaran penyakit

Penyebaran penyakit busuk lunak pada tanaman nanas dibantu oleh beberapa faktor seperti keberadaan vektor dan sumber inokulum. Vektor bakteri busuk buah adalah semut dan kumbang nanas. Patogen juga dapat disebarkan melalui angin dan percikan air hujan yang masuk ke dalam tanaman melalui lubang stomata dan luka. Eksudat dari buah dan daun yang terinfeksi merupakan sumber inokulum utama (Kaneshiro dkk., 2008).

2.2.4 Pengendalian penyakit

Pengendalian penyakit busuk lunak dapat dilakukan melalui beberapa cara, antarlain penggunaan varietas tahan, sanitasi lapang, dan pengendalian secara kimiawi. Penggunaan varietas tahan, seperti varietas *Smooth cayenne* dan Serawak. Sanitasi lapang harus dilakukan secara teratur dengan membersihkan atau memusnahkan sumber inokulum yaitu sisa-sisa panen dan tanaman nanas yang terinfeksi. Pengendalian secara kimiawi yaitu dengan menggunakan insektisida untuk mengendalikan vektor penyakit busuk buah terutama semut dan kumbang nanas (DoA, 2009). Pengendalian penyakit yang dilakukan petani

masih bertumpu pada penggunaan pestisida sintetis yang kurang bijaksana. Sehingga menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan dapat menyebabkan terjadinya resistensi patogen (Suprpta, 2003). Penggunaan pestisida nabati yaitu dengan memanfaatkan tanaman seperti cem-cem, gulma siam, dan saliar. Cara lain yaitu dengan mengaplikasikan bakterisida *Streptomisin*. Bakterisida *Streptomisin* memiliki daya hambat yang tinggi terhadap bakteri *Dickeya* sp. (Widiastuti, 2011).

2.3 Aktinomisetes

Aktinomisetes (*Actinomycetes*) dianggap sebagai kelompok mikroba peralihan antara bakteri dan jamur (Ekowati dan Arwin, 2007). Disebut demikian karena kelompok bakteri ini mempunyai struktur filamen yang menyerupai hifa (Rollins dan Joseph, 2000).

2.3.1 Taksonomi aktinomisetes

Menurut Zhi (2009) aktinomisetes diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Prokariot
Divisi	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Actinobacteria
Subclass	: Actinobacteriae
Ordo	: Actinomycetales

2.3.2 Biologi aktinomisetes

Aktinomisetes merupakan kelompok bakteri Gram positif yang banyak ditemukan hidup dalam tanah dan sering dinyatakan sebagai kelompok mikroorganisme peralihan antara bakteri dan jamur. Aktinomisetes mempunyai ciri-ciri seperti

semua kriteria untuk sel prokariotik, yaitu dinding selnya mengandung asam muramat, tidak mempunyai mitokondria, mengandung ribosom 70s, tidak mempunyai pembungkus nukleus, garis tengah selnya berkisar dari 0,5-2,0 μm (Volk dan Wheeler, 1993; Rao, 1994).

Aktinomisetes dikatakan menyerupai fungi karena mempunyai hifa bercabang dengan membentk miselium. Miselium tumbuh menjulang ke udara, dan memisah dalam fragmen-fragmen yang pendek sehingga terlihat cabang (Sutedjo dan Kartasapoetra, 1991).

Aktinomisetes mengalami pembelahan morfologis kompleks dan mampu mensintesis metabolit sekunder. Pada pembelahan morfologis, spora aktinomisetes mengalami germinasi yang memanjang membentuk miselium vegetatif. Miselium akan membelah membentuk hifa (*aerial hypha*) yang dilanjutkan dengan membentuk dinding sel miselium dan spora matang (*mature spora*) (Miyadoh, 2003).

Menurut Sutedjo dan Kartasapoetra (1991), aktinomisetes dapat membentuk dua tipe miselium, yaitu:

1. Miselium vegetatif

Miselium vegetatif merupakan miselium yang tumbuh di atas medium. Beberapa spesies miselium vegetatif berbentuk lurus, panjang, dan ada yang berbentuk pendek, bercabang, atau bengkok. Miselium vegetatif berdiameter antara 0,2-0,8 μm . Terdapat miselium vegetatif yang dapat membentuk pigmen.

2. Miselium udara (*aerial*)

Miselium udara (*aerial*) merupakan miselium yang tumbuh pada permukaan medium dan membentuk konidia. Miselium udara berbentuk pendek dan lurus, atau berulir-ulir (*spiral*) dan bercabang, dapat membentuk sporofora yang lurus, serta beberapa hifa udara bersifat steril. Miselium udara memiliki pigmen putih, kelabu, lembayung, merah, kuning, hijau, dan warna lainnya.

Koloni aktinomisetes biasanya keras, kasar, dan tumbuh cembung di atas permukaan medium (Rao, 1994). Terdapat koloni yang dapat mengubah warna medium serta menghasilkan bau menyerupai tanah yang disebut geomisin (Indriasari, 1998 *dalam* Wahyuni, 2014). Koloni Aktinomisetes mempunyai pertumbuhan yang lambat dan melekat erat pada permukaan agar (Rao, 1994).

2.3.3 Habitat aktinomisetes

Aktinomisetes tersebar luas di lingkungan dan memegang peranan penting dalam proses siklus karbon karena kemampuannya tumbuh pada konsentrasi senyawa berkarbon rendah (Rifaat, 2003). Aktinomisetes bersifat saprofit, simbitik, dan beberapa sebagai parasit (Rao, 1994). Populasi aktinomisetes di alam dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan organik, pH, kelembapan, temperatur, musim, dan lain-lain (Suwandi, 1989). Aktinomisetes tidak toleran terhadap asam dan jumlahnya menurun pada pH 5,0. Rentang pH dan temperatur yang cocok untuk pertumbuhan aktinomisetes antara 6,5-8,0 dan 25-30⁰C. Namun, ada beberapa aktinomisetes termofilik yang dapat tumbuh pada temperatur 55-65⁰C seperti *Thermoactinomyces* dan *Streptomyces* (Rao, 1994).

Aktinomisetes memiliki kisaran habitat yang cukup luas antara lain ditemukan pada tanah, kompos, padang rumput, tanah hutan, sedimen, lumpur (Augustine dkk., 2006; Lee dan Hwang, 2002; Xu dkk., 1996; Badji dkk., 2006); pada daerah perakaran tanaman (Nishimura dkk., 2002); atau di perairan laut (Takizawa dkk., 1993).

2.3.4 Manfaat aktinomisetes

Aktinomisetes telah dilaporkan sebagai salah satu kelompok mikroba tanah yang menjadi sumber yang kaya produk alami. Hampir tiga perempat dari antibiotik yang ada sekarang ini merupakan produksi dari aktinomisetes (Sateesh and Rathod, 2011). Terdapat lima kelompok antibiotik yang dihasilkan oleh aktinomisetes yaitu tetrasiklin, kloramfenikol, makrolida, linkomisin, dan aminoglikosida (Mutschler, 1991 *dalam* Ambarwati dan Gama, 2009). Sebagai penghasil senyawa antibiotik, aktinomisetes banyak digunakan dalam industri obat, pakan ternak atau unggas, pengawetan makanan, pertanian, dan perikanan (Ryandini, 2001).

Manfaat lain dari aktinomisetes yaitu untuk meningkatkan kesuburan tanah dengan cara mendekomposisi bahan organik. Bahan organik akan meningkat dengan adanya aktinomisetes (Umo dkk., 2012).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel tanah dilakukan di lahan perkebunan nanas rakyat yang ada di Lampung, yaitu di Desa Astomulyo Kecamatan Punggur Kabupaten Lampung Tengah dan Desa Mulya Jaya Kecamatan Tulang Bawang Tengah Kabupaten Tulang Bawang Barat. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2016 sampai dengan Desember 2016.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sekop tanah, kantong plastik tahan panas, karet, alat-alat gelas berupa *Beaker glass*, *Erlenmeyer*, tabung reaksi, gelas ukur, spatula, batang gelas penyebar L, kaca objek, dan kaca penutup.

Selain itu diperlukan cakram kertas (*paper disc*), mortar, bunsen, aluminium foil, saringan mikro, rotamixer, mikropipet, jarum ose, pinset, corong, mikroskop majemuk, autoklaf, Laminar Air Flow (LAF), inkubator, kamera, dan alat-alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel tanah yang berasal dari Desa Astomulyo dan Desa Mulya Jaya, air steril, alkohol 70 %, spirtus, media

ekstrak malt (*Yeast, Malt, Dextrose, Agar*), dan media PPGA (*Potato Pepton Glucose Agar*).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan. Tahap pertama yaitu pengambilan sampel tanah yang digunakan sebagai sumber isolasi. Tahap kedua yaitu isolasi aktinomisetes yang berasal dari masing-masing sampel tanah. Tahap ketiga yaitu pengujian Gram dari masing-masing isolat. Tahap keempat yaitu pengujian antagonisme aktinomisetes terhadap bakteri *Dickeya* sp.. Tahap kelima yaitu karakterisasi isolat aktinomisetes yang bersifat antagonis terhadap bakteri *Dickeya* sp..

Pengujian antagonisme aktinomisetes terhadap bakteri *Dickeya* sp. dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Semua isolat yang mempunyai ciri-ciri aktinomisetes yang diperoleh dari Astomulyo dan Mulya Jaya digunakan sebagai perlakuan dan masing-masing dengan 4 ulangan. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik kloramfenikol. Peubah yang diamati adalah diameter zona bening (zona penghambatan) yang terbentuk. Data yang didapatkan dianalisis menggunakan analisis ragam dan nilai tengah antar perlakuan diuji dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5 %.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan media ekstrak malt

Media ekstrak malt dibuat dengan cara mencampurkan 4 g bubuk *yeast*, 10 g bubuk *malt*, 4 g bubuk *dextrose*, 20 g bubuk *agar*, dan 1.000 ml akuades. Semua

bahan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer, diaduk dengan spatula dan diukur pHnya untuk dijadikan 7,3. Tabung erlenmeyer yang berisi media dimasukkan ke dalam plastik tahan panas, dan diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C atau tekanan 1 atm. Kemudian media dikeluarkan dari dalam autoklaf, ditunggu sampai agak dingin dan dituang ke dalam cawan petri secara aseptik di dalam LAF. Media ekstrak malt digunakan untuk medium pertumbuhan aktinomisetes.

3.4.2 Pembuatan media PPGA (*Potato Pepton Glucose Agar*)

Media PPGA dibuat dengan cara mencampurkan ekstrak kentang, *peptone* 5 g, *glucose* 5 g, Na₂HPO₄.2H₂O 3 g, NaCl 3 g, KH₂PO₄ 0,5 g, dan agar 20 g dengan 1.000 ml akuades. Sebanyak 200 g kentang dipotong kecil ± 1 cm kemudian direbus dengan 1.000 ml akuades sampai kentang lunak. Ekstrak hasil rebusan disaring dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang berisi bahan-bahan tersebut dan diaduk rata dengan spatula. Tabung erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas, dan diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C atau tekanan 1 atm. Setelah itu media dikeluarkan dari dalam autoklaf, ditunggu sampai agak dingin dan dituang ke dalam tabung reaksi secara aseptik di dalam LAF yang diletakkan secara miring (± 45⁰). Media PPGA digunakan untuk medium pertumbuhan *Dickeya* sp..

3.4.3. Penyiapan isolat bakteri *Dickeya* sp.

Isolat *Dickeya* sp. didapatkan dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Peremajaan isolat *Dickeya* sp. dilakukan dengan cara digores pada media PPGA di tabung reaksi secara aseptik.

3.4.4 Penyiapan sampel tanah

Sampel tanah diambil dari daerah di sekitar risosfer tanaman nanas dengan kedalaman ± 15 cm. Pada lokasi Desa Astomulyo sampel diambil dari tiga lokasi yaitu sampel tanah dengan tanaman nanas berumur 16 bulan, sampel tanah dengan lahan kosong bekas tanaman nanas yang sudah dipanen, dan sampel tanah bekas tanaman jagung dengan tanaman nanas berumur 2 tahun. Di Desa Mulya Jaya pengambilan sampel dilakukan di satu lokasi yaitu sampel tanah bekas tanaman singkong dengan tanaman nanas berumur 5 bulan. Pengambilan sampel dilakukan dengan 5 titik yang kemudian dikomposit menjadi 3 sampel. Sampel tanah yang akan digunakan sebagai sumber isolasi ditimbang sebanyak 500 gram dan dikering-anginkan selama 7 hari untuk mengurangi populasi mikroba lain yang bersifat patogen. Sampel tanah kemudian dihaluskan dengan mortar dan disaring menggunakan saringan mikro untuk memisahkan kotoran dari sisa tanaman. Sampel tanah sebanyak 10 g dioven dengan suhu 45° C selama 1 jam dan selanjutnya sampel tanah disimpan dalam kantong plastik untuk penggunaan pada tahap selanjutnya.

Sampel tanah juga diukur keasamannya dengan menggunakan alat pH meter. Pengukuran pH dilakukan dengan menimbang dua gram sampel tanah dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* lalu ditambahkan akuades hingga terbentuk lapisan air di permukaan masa sampel tanah. Setelah ditunggu selama 30-60 menit dilakukan pengukuran nilai pH dengan pH meter (Hamidah, 2013).

3.4.5 Isolasi aktinomisetes

Isolasi dilakukan dari masing-masing sampel tanah dengan pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} . Pengenceran 10^{-1} dilakukan dengan memasukkan 1 g sampel tanah ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml air steril, kemudian dihomogenkan dengan rotamixer selama 2 menit. Pengenceran berikutnya (10^{-2}) dilakukan dengan 1 ml suspensi tanah pengenceran 10^{-1} diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril dan dihomogenkan. Cara yang sama dilakukan sampai diperoleh suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-7} . Penggunaan pipet harus selalu diganti pada setiap pengenceran. Satu mililiter suspensi tanah dengan tingkat pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} disebar pada permukaan media ekstrak malt dalam cawan dengan menggunakan batang L, masing-masing pengenceran diulang 3 kali. Selanjutnya, semua cawan tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 7×24 jam. Pada isolasi aktinomisetes digunakan media ekstrak malt yang ditambah dengan antibiotik Nystatin 0,3 ml dalam 1000 ml media (Susilowati dkk., 2007). Koloni-koloni yang tumbuh dipilih koloni yang penampilannya menyerupai aktinomisetes (tidak mengkilat dan berlendir seperti ciri bakteri ataupun bermiselial dan berspora seperti jamur).

3.4.6 Pengujian Gram

Pengujian Gram dilakukan dengan cara mengambil sedikit isolat aktinomisetes dengan jarum ose steril. Kemudian diletakkan diatas kaca preparat yang telah ditetesi larutan KOH 3 % sebanyak 2 tetes. Isolat aktinomisetes yang telah ditambahkan KOH 3 % kemudian diratakan dengan menggunakan jarum ose ± 1

menit. Setelah 1 menit jarum ose ditarik ke atas \pm 1 cm, jika terbentuk benang lendir maka isolat tersebut merupakan bakteri Gram negatif tetapi jika tidak terbentuk benang lendir maka isolat tersebut merupakan bakteri Gram positif (Arthin dkk., 2003). Aktinomisetes merupakan bakteri Gram positif sehingga isolat-isolat Gram negatif disisihkan.

3.4.7 Pengujian antagonisme aktinomisetes terhadap *Dickeya* sp.

Suspensi biakan murni *Dickeya* sp. berumur 24 jam disiapkan dengan cara menambahkan 2 ose ke dalam 5 ml air steril. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan rotamixer. Suspensi bakteri sebanyak 5 ml dicampurkan ke dalam 100 ml media ekstrak malt yang masih cair (suhu 40-45⁰ C), kemudian dituangkan ke cawan petri steril \pm 20 ml per cawan. Media tersebut digunakan sebagai media pengujian antagonisme secara *in-vitro*.

Pengujian antagonisme dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat aktinomisetes sebagai antagonis bakteri patogen busuk lunak nanas *Dickeya* sp.. Pengujian dilakukan sebagai berikut. Isolat aktinomisetes yang diuji diambil dari biakan berumur 5 hari dengan menggunakan bor gabus berdiameter 0,7 cm. Pada setiap cawan diletakkan 1 isolat aktinomisetes terdiri atas 4 potongan berberbentuk cakram sebagai ulangan. Antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif. Potongan kertas cakram dicelupkan ke dalam suspensi antibiotik sampai jenuh, ditiriskan dan selanjutnya dipindahkan dengan pinset dan diletakkan pada permukaan media yang telah dicampur dengan bakteri *Dickeya*

sp. (Suryani dkk., 2014). Reaksi positif diindikasikan dengan terbentuknya daerah bening di sekitar isolat aktinomisetes.

Pengamatan dilakukan terhadap diameter zona penghambatan yang terbentuk di sekeliling isolat aktinomisetes yaitu ditandai dengan adanya daerah bening.

Pengukuran diameter zona bening dilakukan pada hari ke-2 sampai hari ke-5.

Data yang didapatkan kemudian diuji secara statistik.

3.4.8 Karakterisasi isolat aktinomisetes

Karakterisasi dilakukan terhadap isolat-isolat yang bersifat antagonis terhadap bakteri *Dickeya* sp.. Pengamatan dilakukan baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan terhadap koloni yaitu meliputi bentuk, tepian, elevasi, ukuran, tekstur, penampilan, pigmentasi, dan *optical property* koloni yang tumbuh. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan metode pewarnaan sederhana menggunakan kristal violet dengan bantuan mikroskop majemuk untuk mengetahui ciri-ciri bentuk sel dan susunan sel setiap isolat aktinomisetes yang membentuk zona penghambatan.

V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Dari lahan perkebunan nanas rakyat diperoleh 26 isolat aktinomisetes, yaitu 12 isolat dari Astomulyo dan 14 isolat dari Mulya Jaya. Isolat yang diperoleh mempunyai ciri-ciri koloni yang bervariasi dalam hal ukuran, bentuk, tepian, elevasi, dan warna.
2. Dari 26 isolat aktinomisetes yang diperoleh, sebanyak 19 isolat dapat menghambat pertumbuhan *Dickeya* sp. secara *in-vitro* yaitu 8 isolat dari Astomulyo dan 11 isolat dari Mulya Jaya. Isolat A₁, A₂, A₄, MJ₁, MJ₂, MJ₆, dan MJ₁₂ mempunyai zona bening yang relatif paling besar.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk melakukan analisis lanjutan terhadap senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh aktinomisetes yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri *Dickeya* sp.. Selain itu perlu dilakukan penelitian lanjutan pengaplikasian aktinomisetes untuk menekan pertumbuhan *Dickeya* sp. secara *in-vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd Edition. John Wiley and Sons. New York. 472 hlm.
- Ambarwati dan T.A. Gama. 2009. Isolasi *actinomycetes* dari tanah sawah sebagai penghasil antibiotik. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10 (2) : 101-111.
- Amal, A. M., K.A. Abeer, H.M. Samia, A.E.N.H. Nadia, Ahmed, and El-Hennawi. 2011. Selection of pigment (melanin) production in *streptomyces* and their application in printing and dyeing of wool fabrics. *Research Journal of Chemical Science*. 1 (5) : 22-28.
- Arthin, K., B. Appalaraju, and S. Parvathin. 2003. Vancomycin sensitivity and KOH string test as an alternative to Gram staining of bacteria. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 21 (2) : 121-123.
- Augustine, S.K., S.P. Bhavsar, and B.P. Kapadnis. 2006. A non-polyene antifungal antibiotic from *Streptomyces albidoflavus* PU23. *Journal of Bioscience*. 30 (2) : 191-201.
- Badji, B., A. Zitouni, F. Mathieu, A. Lebrihi, and N. Sabaou. 2006. Antimicrobial compounds produced by *actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Sahara soil. *Canadian Journal of Microbiology*. 55 (4) : 328-373.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2016. Produksi tanaman buah buahan. <http://www.bps.go.id/site/pilihdata>. Diakses pada 12 April 2016.
- Budiyanto, M.A.K. 2004. *Mikrobiologi Terapan*. UMM Press. Malang. 134 hlm.
- Cahyani, V. R. 2014. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Pertanian*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 38 hlm.
- DoA. 2009. *Fresh Pineapple Fruit of Malaysia, Crop Protection and Plant Quarantine Division*. Department of Agriculture. Malaysia.
- Ekowati, C. N., dan A. Arwin. 2007. Pengaruh kompos kulit buah kopi (*Coffea robusta* Lind.) dan kacang pinto (*Arachis pinto* Krapov dan Gregory) terhadap keanekaragaman *actinomycetes*. *J. Sains Mipa*. 13 (3) : 177-182.

- Fahmuddin, A., dan Widiyanto. 2004. *Petunjuk Praktis Konservasi Tanah Pertanian Lahan Kering*. World Agroforestry Centre ICRAF Southeast Asia. Bogor. 101 hlm.
- Govaerts, B., M. Mezzalama, K.D. Sayre, J. Crossa, K. Lichter, V. Troch, K. Vanherck, P.D. Corte, and J. Deckers. 2008. Longterm consequences of tillage, residue management, and crop rotation on selected soil micro-flora groups in the subtropical highlands. *Applied Soil Ecology*. 38 : 197-210.
- Hadiati, S., dan N.L.P. Indriyani. 2008. *Petunjuk Teknis Budidaya Nanas*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok. 24 hlm.
- Hamidah. 2013. Isolasi dan identifikasi isola *actinomyces* dari rizosfer padi (*Oryza sativa* L.) sebagai penghasil antifungi. *Naskah Publikasi*. Universitas Muhamadiyah Surakarta. Surakarta. 15 hlm.
- Hasibuan, I. 2009. Olah tanah konservasi. pertanian berkelanjutan. <http://sistempertanianberkelanjutan.blogspot.com/2009/09/olah-tanah-konservasi.html>. Diakses pada 13 Februari 2017.
- Imgrum. 2016. Biology concepts. http://www.imgrum.net/user/biologyconcepts/1909909957/1067270042360314502_1909909957. Diakses pada 01 November 2016.
- Kaneshiro, W.S., M. Burger, B.G. Vine, A.S.D. Silva, and A.M. Alvarez. 2008. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a bacterial heart rot of pineapple out break in Hawaii. *Plant Disease*. 92 (10) : 1444-1450.
- Lee, J.P., and B.Y. Hwang. 2002. Diversity of antifungal *actinomyces* in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*. 48 (5) : 407-17.
- Mellisa. 2013. Pertumbuhan eksplan tunas pucuk nenas (*Ananas comosus* (L.) merr.) dengan pemberian benzil amino purin secara kultur jaringan. *Jurnal Rat*. 2 (1) : 251-259.
- Miyadoh, S. 2003. *Prosedur Karakterisasi dan Identifikasi Aktinomisetes*. Puspita L, penerjemah. Di dalam: Training Course on identification of bacteria. Bogor, 1-5 April 2003. Bogor (ID): Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI.
- Miyadoh, S., and M. Otoguro. 2004. *Workshop on Isolation Methods and Classification of Actinomyces*. Bogor (ID): Biotechnology Centre, LIPI.
- Nishimura, T., A. Meguro, S. Hasegawa, Y. Nakagawa, M. Shimizu, and M. Hunoh. 2002. An endophytic *actinomyces*, *streptomyces* sp. AOK-30, isolated from mountain laurel and its antifungal activity. *Journal of Gen Plant Pathology*. 68 : 390-397.

- Nofiani, R. 2008. Urgensi dan mekanisme biosintesis metabolit sekunder mikroba laut. *Jurnal Natur Indonesia*. 10 (2) : 120-125.
- Nurbailis, M., dan V. Azniza. 2014. Keanekaragaman jamur pada rizosfer tanaman cabai sistem konvensional dan organik dan potensinya sebagai agen pengendali hayati *Colletotrichum gloeosporioides*. *J. HPT Tropika*. 14 (1) : 16-24.
- Rao, N. S.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. UI press. Jakarta. 353 hlm.
- Rifaat, M.H. 2003. The Biodiversity of *actinomycetes* in the river Nile exhibiting antifungal activity. *Journal of Mediterranean Ecology*. 4 (3) : 5-7.
- Rollins and Joseph. 2000. *Actinomycetes* summary university of Maryland. <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/PathogenDescriptions/Actinomycetes.html>. Diakses pada 26 Mei 2016.
- Rukmana, R. 1996. *Nenas Budidaya dan Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta. 61 hlm.
- Ryandini, D. 2001. Efektivitas Isolat Aktinomisetes Perairan Dalam Menghambat *Aeromonas Hydrophila*, Bakteri Patogen Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). (Thesis). Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Palanichamy, V., A. Hundet, B. Mitra, and N. Reddy. 2011. Optimization of cultivation parameters for growth and pigment production by *Streptomyces* spp. isolated from marine sediment and rhizosphere soil. *International Journal of Animal and Environmental Science*. 1 : 158-170.
- Prasetyo, J., and T.N. Aeny. 2014. Pineapple fruit collapse: newly emerging disease of pineapple in Lampung, Indonesia. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 14 (1) : 96-99.
- Prihatman, K. 2000. Klasifikasi dan budidaya tanaman nanas. Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan, BAPPENAS. <http://www.ristek.go.id> . Diakses pada 08 Mei 2016.
- Pujiati. 2014. Isolasi *actinomycetes* dari tanah kebun sebagai bahan petunjuk praktikum mikrobiologi. *Jurnal Florea* 1 (2) : 42-46.
- Sahilah, A.M., L. Rozeita, M.S.U. Kalsum, and R. Son. 2008. Typing of *Erwinia chrysanthemi* isolated from jospine pineapple in Malaysia using antimicrobial susceptibility, plasmid profiles, ERIC-PCR and RFLP analysis. *International Food Research Journal*. 15 (3) : 273-280.

- Sallytha, A.A.M. 2014. Penghambatan *actinomycetes* terhadap *Erwinia carotovora* Subsp. *carotovora* secara *in-vitro*. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 1 (4) : 70-72.
- Samson, R., J.B. Legendre, R. Christen, M.F.L. Saux, W. Achouak and L. Gardan. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55 : 1415–1427.
- Sateesh, V.N., and J.L Rathod. 2011. Selective isolation and antimicrobial activity of rare *actinomycetes* from mangrove sediment of Karwar. *Journal of Ecobiotechnology*. 3 (10) : 48-53.
- Shaaban, M.T., S.M.M. El-Sabbagh, and A. Alam. 2013. Studied on *actinomycetes* producing a melanin pigment inhibiting alfatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. *Life Science Journal*. 10 (1) : 1437-1448.
- Singh, L.S., I. Baruah, and T.C. Bora. 2006. *Actinomycetes* of loktak habitat : isolation and screening for antimicrobial activities. *Biotchnology*. 5 (2) : 217-221.
- Suhardi. 1983. *Dasar-Dasar Bercocok Tanam*. Kanisius. Yogyakarta. 221 hlm.
- Suprpta, D. N. 2003. Pemanfaatan Tumbuhan Lokal Sebagai Pestisida Nabati Guna Meningkatkan Kemandirian Petani. (*Orasi Ilmiah*). Universitas Udayana. Bukit Jambiran.
- Suryani, S., R.M. Roza, dan A. Martina. 2104. Seleksi dan uji antibakteri aktinomisetes asal tanah gambut Rimbo Panjang Kampar Riau terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *JOM FMIPA*. 1 (2) : 1-11.
- Susilowati, D.N., R.D. Hastuti, and E.Yuniarti. 2007. Isolasi dan karakterisasi aktinomisetes penghasil antibakteri enteropatogen *Escherichia coli* K1.1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes*. *Jurnal Agrobiogen*. 3 (1) : 15-23.
- Sutedjo, M.M., dan G. Kartasapoetra. 1991. *Pengantar Ilmu Tanah : Terbentuknya Tanah dan Tanah Pertanian*. Rineka Cipta. Jakarta. 447 hlm.
- Suwandi, U. 1989. Mikroorganisme Penghasil Antibiotik. *Cermin Dunia Kedokteran*. 58 : 37-40.

- Takizawa, M., R.R. Colwell, and R.T. Hill. 1993. Isolation and diversity of *actinomycetes* in Chesapeake Bay. *Journal of Applied Environmental Microbiology*. 59 : 997-1002.
- Tim Karya Tani Mandiri. 2010. *Pedoman Bertanam Buah Nanas*. Nuansa Aulia. Bandung. 176 hlm.
- Tohn, I., and J. Elphinstone. 2017. *Erwinia chrysanthemy (Dickeya spp.) – The Facts*. SCRI. Dundee. 23 hlm.
- Umo, W.D., Y. Retnowati, dan N. Kandowanko. 2012. Biodiversitas *actinomycetes* pada kawasan mangrove desa Bulalo kecamatan Kwandang dan uji potensi sebagai penghasil antibiotika. *Laporan Penelitian I-Mhere*. Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo. 42 hlm.
- Utomo, M. 2012. *Tanpa Olah Tanah*. Universitas Lampung. Lampung. 110 hlm.
- Volk, W.A., dan M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Penerjemah Markham Jilid 1. Erlangga. Jakarta. 388-396 hlm.
- Wahyuni, D.S. 2014. Skrining aktivitas isolat aktinomisetes tanah asal Indonesia penghasil antibakteri. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 35 hlm.
- Widayati, W.E. 2005. Bakteri diazotrof endofit pada tanaman tebu (*Solanum officinarum* L.) identifikasi dan mekanisme asosiasi. (Skripsi). UGM. Yogyakarta.
- Widiastuti, A. 2011. Uji efektivitas pestisida terhadap beberapa patogen penyebab penyakit penting pada buah naga (*Hylocereus* sp.) secara *in vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 17 (2) : 73-76.
- Xu, L., Q. Li, and C. Jiang. 1996. Diversity of soil *actinomycetes* in Yunnan, China. *Journal of Applied Environmental Microbiology*. 62 (1) : 244-248.
- Yulindari, R. 2013. pengaruh penambahan konsentrasi inokulum dan media terhadap efektivitas fermentasi kitin dengan *actinomycetes* an1-4 untuk pembuatan glukosamin. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 64 hlm.
- Zhi, X.Y., W.J. Li and E. Stackebrandt. 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 589-608.