

**PENGUJIAN ANTAGONISME BAKTERI ENDOFIT  
TERHADAP PATOGEN PENTING TANAMAN NANAS  
(*Ananas comosus* L.)**

( Skripsi )

Oleh

**DIYAN ADINDA SAFITRI**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

## ABSTRAK

### PENGUJIAN ANTAGONISME BAKTERI ENDOFIT TERHADAP PATOGEN PENTING TANAMAN NANAS (*Ananas comosus* L.)

Oleh

**DIYAN ADINDA SAFITRI**

Penelitian bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri endofit sebagai antagonis bakteri *Dickeya* sp., jamur *Curvularia* sp., *Thielaviopsis paradoxa*, dan *Phytophthora* sp.. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan Agustus hingga Desember 2016. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan diulang tiga kali. Pengamatan dilakukan terhadap presentase penghambatan dan zona bening pada hari ke-1 sampai hari ke-7 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 15 isolat bakteri endofit dari lahan perkebunan nanas. Dari 15 isolat, hanya 2 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan *Dickeya* sp. secara *in-vitro* yaitu GKSKP dan AP. Isolat yang menghambat *Curvularia* sp. GKSKKn, GBSKW, GKSKK, AK dan GKSKC; yang menghambat *Phytophthora* sp. adalah GKSKC, AK, CH, A31, 3C, GKSKP dan GBSKW; yang menghambat *Thielaviopsis paradoxa* adalah CH, GKSKP, A31, 3C, NS, dan GBSH.

Kata kunci : Bakteri endofit, *Curvularia* sp., *Dickeya* sp., *Phytophthora* sp.,  
*Thielaviopsis paradoxa*.

**PENGUJIAN ANTAGONISME BAKTERI ENDOFIT  
TERHADAP PATOGEN PENTING TANAMAN NANAS  
(*Ananas comosus* L.)**

**Oleh**

**DIYAN ADINDA SAFITRI**

**Skripsi**

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

**Pada**

**Program Studi Agroteknologi**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

Judul Skripsi : **PENGUJIAN ANTAGONISME BAKTERI  
ENDOFIT TERHADAP PATOGEN  
PENTING TANAMAN NANAS  
(*Ananas comosus* L.)**

Nama Mahasiswa : **Diyan Adinda Safitri**

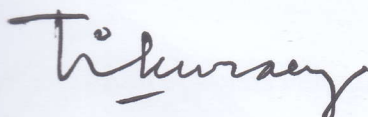
Nomor Pokok Mahasiswa : 1214121060

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



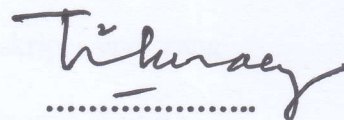
**Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.**  
NIP 196305081988112001

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua

: Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.



Sekretaris

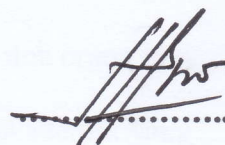
: Dr. Ir. Suskandini Ratih D., M.P.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.



Dekan Fakultas Pertanian

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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 September 2017

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Pengujaan Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Patogen Penting Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L.)” merupakan hasil karya sendiri bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di 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, Oktober 2017

Penulis,



Diyan Adinda Safitri  
1214121060

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Tanjung Karang, Bandar Lampung pada tanggal 13 Maret 1994. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Ayub, S.Pd., MM. dan Ibu Rosniwati.

Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Dharma Wanita Pewa Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan pada tahun 2000, SD Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2006, SMP Negeri 22 Bandar Lampung pada tahun 2009, dan SMA Negeri 12 Bandar Lampung pada tahun 2012. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung Jurusan Agroteknologi melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Penulis melaksanakan Praktik Umum pada tahun 2015 di Laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Trimurjo, Lampung Tengah. Pada tahun 2016 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Datar Lebuay, Kecamatan Air Nanningan, Kabupaten Tanggamus. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi Asisten Dosen untuk mata kuliah Bioteknologi Penyakit Tumbuhan (2015 dan 2016), dan Pengendalian Penyakit Tumbuhan (2015).



## **MOTTO**

“Perubahan tidak akan pernah terjadi  
jika kita terus menunggu waktu atau orang yang tepat.

Kita adalah perubahan itu sendiri”

(Barack Obama)

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT,  
kupersembahkan karyaku ini untuk

Buya, Ibu, adikku tercinta M.Irfan Nanda Dwitama,  
dan keluargaku tercinta atas doa, kasih sayang, kesabaran  
dan semangat yang diberikan kepada penulis

Dan keluarga besar almamater Universitas Lampung

## SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang karena atas segala rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Pengujian Antagonisme Bakteri Endofit Terhadap Patogen Penting Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L.)”. Penelitian ini merupakan bagian penelitian ibu Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc dan bapak Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.

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 selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk serta mengarahkan penulis dengan penuh kesabaran selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi.
2. Ibu Dr. Ir. Suskandini Ratih Dirmawati, M.P. selaku Pembimbing Kedua atas arahan, saran, motivasi, dan ilmu yang diberikan.
3. Bapak Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D selaku Pembahas atas ilmu, saran, nasehat, dan pengarahan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Pembimbing Akademik.

5. Keluargaku, buya, ibu, adikku tercinta M.Irfan Nanda Dwitama, dan keluargaku tercinta atas doa, kasih sayang, kesabaran dan selalu memberikan semangat kepada penulis.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S., selaku Ketua Bidang Proteksi Tanaman atas saran, nasehat, dan pengarahan yang diberikan.
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banua, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
8. Bapak Ir. Sri Yusnaini selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Universitas Lampung.
9. Teman-teman seperjuangan Dina, Dea, Dwi, Diny, Anindita, Emmy, Mega, Gusty, Niken, Ghani, Wulan, Meri, Aeni, Nova, Windari, Santia, Rina, Yuni, Bihikmi, Adam, Mba Dina, Kak Frans yang telah membantu dan memberikan perhatian serta dukungannya.

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

Bandar Lampung, Oktober 2017

Penulis,

**Diyan Adinda Safitri**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	4
1.4 Hipotesis .....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1 Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus</i> ) .....	7
2.2 Penyakit Penting padaTanaman Nanas .....	8
2.2.1 Penyakit Busuk Hati Bakteri Nanas .....	8
2.2.2 Penyakit BercakDaun.....	10
2.2.3 Penyakit Busuk Hati dan Busuk Akar.....	12
2.2.4 Penyakit Busuk Pangkal.....	14
2.3 Bakteri Endofit .....	16
2.3.1 Bakteri Endofit sebagai Agensia Hayati .....	16
2.3.2 Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat.....	17
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	<b>19</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	19
3.2 Alat dan Bahan .....	19
3.3 Metode Penelitian .....	20
3.3.1 Persiapan Penelitian.....	20
3.3.1.1 Peremajaan Biakan Bakteri Endofit .....	20
3.3.1.2 Peremajaan Biakan Bakteri <i>Dickeya</i> sp.....	20
3.3.1.3 Peremajaan Biakan <i>Curvularia</i> sp.....	21

3.3.1.4 Peremajaan Biakan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> .....	21
3.3.1.5 Peremajaan Biakan <i>Phytophthora</i> sp.....	21
3.3.1.6 Pembuatan Media NA ( <i>Nutrient Agar</i> ) untuk Media Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Bakteri Patogen.....	22
3.3.1.7 Pembuatan Media PDA ( <i>Potato Dextrose Agar</i> ) Untuk Media Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen.....	22
3.3.1.8 Pembuatan Media <i>Pikovskaya</i> .....	23
3.3.2 Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Bakteri Patogen .....	23
3.3.3 Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen .....	24
3.3.4 Uji Antagonisme Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat.....	25
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
4.1 Hasil .....	27
4.1.1 Antagonisme Bakteri Endofit terhadap <i>Dickeya</i> sp.....	27
4.1.2 Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen.....	28
4.1.3 Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen.....	33
4.1.4 Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat .....	33
4.2 Pembahasan .....	33
4.2.1 Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Bakteri Patogen.....	33
4.2.2 Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen .....	35
4.2.3 Bakteri Endofit sebagai Pelarut fosfat.....	35
<b>V SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>37</b>
5.1 Simpulan .....	37
5.2 Saran .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>44</b>
Tabel 6-40 .....	45-60

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Zona bening yang terbentuk disekitar bakteri endofit. ....	27
2. Antagonisme bakteri endofit terhadap jamur <i>Curvularia</i> sp.....	29
3. Antagonisme bakteri endofit terhadap jamur <i>Phytophthora</i> sp .....	30
4. Antagonisme bakteri endofit terhadap jamur <i>Thielaviopsis paradoxa</i> .....	32
5. Rekapitulasi hasil pengujian antagonism bakteriendofit terhadap bakteri dan jamur patogen .....	33
6. Data mentah persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari pertama .....	45
7. Data mentah persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari ketiga .....	45
8. Data mentah persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari kelima .....	46
9. Data mentah persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari ketujuh.....	46
10. Data mentah persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari pertama.....	47
11. Data mentah persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari ketiga.....	47
12. Data mentah persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari kelima.....	48
13. Data mentah persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari ketujuh.....	48
14. Data mentah persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari pertama .....	49
15. Data mentah persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari ketiga .....	49
16. Data mentah persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari kelima .....	50

17. Data mentah persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari ketujuh .....	50
18. Data olahan persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari pertama .....	51
19. Data olahan persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari ketiga .....	51
20. Data olahan persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari kelima .....	52
21. Data olahan persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari ketujuh .....	52
22. Data olahan persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari pertama.....	53
23. Data olahan persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari ketiga .....	53
24. Data olahan persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari kelima.....	54
25. Data olahan persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari ketujuh.....	54
26. Data olahan persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari pertama .....	55
27. Data olahan zona penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari ketiga .....	55
28. Data olahan persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari kelima .....	56
29. Data olahan persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari ketujuh .....	56
30. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari pertama.....	57
31. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari ketiga .....	57
32. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari kelima .....	57
33. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Curvularia</i> sp. pada hari ketujuh.....	57
34. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari pertama .....	58
35. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari ketiga.....	58



36. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari kelima .....	58
37. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. pada hari ketujuh .....	59
38. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari pertama .....	59
39. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari ketiga .....	59
40. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari kelima .....	59
41. Analisis ragam persentase penghambatan <i>Thielaviopsis paradoxa</i> pada hari ketujuh .....	60

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gejala penyakit busuk hati yang disebabkan oleh <i>Dickeya</i> sp.....	10
2. Gejala penyakit bercak daun yang disebabkan oleh <i>Curvularia</i> sp. ....	12
3. Gejala penyakit busuk hati dan busuk akar yang disebabkan oleh <i>Phytophthora</i> sp. ....	14
4. Gejala penyakit busuk buah pangkal (A) atau busuk lunak (B) .....	16
5. Skema pengujian bakteri endofit (A) sebagai antagonis <i>Dickeya</i> sp. ....	24
6. Skema pengujian bakteri endofit(A) sebagai antagonis Jamur patogen (B) .....	25
7. Skema pengujian bakteri endofit (A) sebagai pelarut fosfat.....	26
8. Hasil uji antagonism bakteri endofit terhadap <i>Dickeya</i> sp.....	28
9. Hasil uji antagonisme bakteri endofit terhadap <i>Curvularia</i> sp .....	29
10. Hasil uji antagonism bakteri endofit terhadap <i>Phytophthora</i> sp.....	31
11. Hasil uji antagonism bakteri endofit terhadap <i>Thielaviopsis paradoxa</i> .....	32



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman nanas (*Ananas comosus* L. Merr.) sudah lama dikenal di Indonesia. Menurut Muljohardjo (1984), tanaman nanas berasal dari Amerika Selatan dan Hindia Barat. Pada abad ke-6 Bangsa Spanyol membawa nanas ke Filipina dan semenanjung Malaysia, dan mungkin juga sampai ke Indonesia. Pada mulanya nanas dibudidayakan hanya sebagai tanaman pekarangan namun kemudian dikembangkan di lahan-lahan kebun atau tegalan. Saat ini nanas sudah banyak dibudidayakan di sebagian besar wilayah Indonesia.

Saat ini, nanas merupakan salah satu komoditas hortikultura penting di Indonesia. Dari total produksi nanas dunia pada tahun 2001 yang tercatat sebesar 1.888.368 ton, Indonesia menyumbang sebesar 1.837.5159 ton, sedangkan untuk produksi nanas di Provinsi Lampung pada tahun 2013 mencapai 722.620 ton. Menurut Badan Pusat Statistik (2014) produksi buah nanas di Lampung pada tahun 2012 mencapai 585.608 ton dan pada tahun 2013 mengalami peningkatan produksi mencapai 722.620 ton namun pada tahun 2014 produksi nanas mengalami penurunan sehingga jumlah produksi hanya sebesar 560.025 ton. Penurunan produksi nanas nasional antara lain terjadi karena berbagai kendala dalam budidayanya, tidak saja dalam hal penerapan teknologi produksi tetapi juga karena

adanya serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). Menurut Prasetyo dan Aeny, (2014) salah satu permasalahan yang beberapa tahun terakhir ini merugikan petani nanas mencapai 50 % adalah adanya penyakit busuk pangkal atau busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi*(*Dickeya* sp.), sedangkan kerugian akibat penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *Curvularia* sp. sebesar 41,73 %, penyakit busuk pangkal disebabkan oleh *Thielaviopsis paradoxase* sebesar 34,44% (Elfina dan Puspita, 2008), dan penyakit busuk hati yang disebabkan oleh *Phytophthora* sp. Sebesar 90 % sehingga dibutuhkan pengendalian yang tepat (Purwantisari dan Hasturi, 2009).

Secara umum, pengendalian penyakit tanaman masih banyak menggunakan senyawa kimia. Pengendalian dengan senyawa kimia yang dilakukan secara terus menerus dapat menimbulkan dampak negatif seperti pencemaran lingkungan dan keracunan (Anitha dan Rabeeth, 2009). Untuk mengurangi dampak negatif bahan kimia maka diperlukan pengendalian yang ramah lingkungan, yaitu pengendalian secara hayati. Pengendalian secara hayati merupakan cara pengendalian yang memanfaatkan mikroba antagonis yang dapat menghambat atau mengendalikan patogen tanaman. Salah satu mikroba yang banyak diteliti sebagai agensia pengendalian penyakit adalah bakteri endofit. Beberapa bakteri endofit telah dilaporkan mampu berperan sebagai agen biokontrol dan juga sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau dikenal sebagai PGPB (*Plant Growth Promoting Bacteria*) (Khoironi, 2015).

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Simarmata *et al*, 2007). Menurut Hallman (2001) bakteri endofit mampu meningkatkan ketahanan tanaman secara langsung yaitu berfungsi sebagai antagonisme atau mengeluarkan senyawa tertentu pada relung patogen, menginduksi sistem resistensi tanaman, dan meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan biotik. Selain itu, bakteri endofit juga dilaporkan dapat berperan sebagai pelarut fosfat sehingga meningkatkan kesuburan tanaman (Wulandari, 2001). Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri yang berperan dalam penyuburan tanaman karena bakteri tipe ini mampu melakukan pelarutan fosfat dengan mengekskresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah seperti oksalat, suksinat, fumarat, malat. Namun demikian, sampai saat ini belum diketahui apakah bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman nanas juga mampu menekan perkembangan penyakit pada tanaman nanas ataupun berperan sebagai pelarut fosfat. Oleh karena itu akan dilakukan penelitian ini.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri endofit yang berasal dari tanaman nanas (*Ananas comosus* L.) sebagai antagonis bakteri *Dickeya* sp., jamur *Curvularia* sp., *Thielaviopsis paradoxa* dan *Phytophthora* sp.. Disamping itu, akan diuji juga apakah bakteri endofit yang berasal dari tanaman nanas (*Ananas comosus* L.) dapat berperan sebagai pelarut fosfat.

### 1.3 Kerangka Pemikiran

Bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman secara langsung ataupun secara tidak langsung. Secara langsung, bakteri endofit ini dapat menyediakan nutrisi bagi tanaman seperti nitrogen, fosfat dan mineral lainnya serta menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auksin dan sitokinin (Salamone, 2001 dalam Harni, 2007). Mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri endofit ini dapat terjadi dengan beberapa proses diantaranya melarutkan senyawa fosfat, fiksasi nitrogen, merangsang pertumbuhan akar lateral. Secara tidak langsung, bakteri endofit ini terlebih dahulu menekan pertumbuhan penyakit melalui mekanisme kompetisi, predasi dan antibiotik (Harni *et al.*, 2007).

Menurut Kartini *et al.* (2014), 99 isolat bakteri endofit yang diperoleh dari akar tanaman kentang memiliki kemampuan sebagai antagonis *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman kentang secara *in vitro*. Isolat bakteri endofit yang terpilih menunjukkan reaksi antibiosis terhadap *Erwinia* sp. Dan beberapa bakteri endofit menunjukkan indeks zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Kartini *et al.*, 2014).

Selain *Dickeya* sp., patogen yang jugadilaporkan menyerang nanas di Lampung adalah jamur *Curvularia* sp. Rumia Manurung (2014) melaporkan bahwa jamur tersebut menyebabkan penyakit bercak daun pada tanaman nanas. Terhambatnya pertumbuhan *Curvularia* sp. disebabkan oleh pertumbuhan bakteri endofit

yang mendekati patogen. Penghambatan ini bisa dikarenakan adanya senyawa biologi atau metabolit sekunder yang dihasilkan oleh endofit.

Sumacipta (2013) menyatakan bahwa lima isolat bakteri endofit yang diperoleh dari akar dan batang tanaman sirih memiliki kemampuan antagonisme terhadap *Phytophthora capsici* secara *in vitro*. Lima isolat bakteri endofit tersebut dilaporkan sebagai agen hayati. Isolat bakteri endofit tersebut menunjukkan reaksi antibiosis terhadap *Phytophthora capsici*. Hasil pengujian menunjukkan zona hambat yang tinggi yang tampak dari terhentinya pertumbuhan koloni patogen pada batas media yang ditumbuhi oleh koloni bakteri endofit. Diniyah (2010) menyatakan bahwa tiga isolat bakteri endofit diketahui memiliki kemampuan penghambatan jamur *Phytophthora infestans*.

Sejumlah bakteri endofit telah dilaporkan mampu berperan sebagai pelarut fosfat (Merry Silitonga *et al*, 2015). Fosfat merupakan salah satu unsur hara tanah yang mutlak dibutuhkan oleh tanaman karena berperan dalam menyimpan dan mentransfer energi serta sebagai komponen protein dan asam nukleat.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Merry Silitonga *et al*. (2015) uji kemampuan pelarutan fosfat terhadap 8 isolat mampu melarutkan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Delapan isolat tersebut setelah diinkubasi selama 3 hari, dapat membentuk zona bening dengan ukuran yang bervariasi.



#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bakteri endofit yang berasal dari tanaman nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Dickeya* sp., jamur *Curvularia* sp., *Thielaviopsis paradoxa* dan *Phytophthora* sp. secara *in vitro*.
2. Bakteri endofit yang berasal dari tanaman nanas mampu berperan sebagai pelarut fosfat secara *in vitro*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Nanas

Nanas merupakan tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah *Ananas comosus*. Nanas merupakan tanaman buah dengan daging buah berwarna kuning. Nanas berasal dari Brasilia (Amerika Selatan) yang telah di domestikasi disana sebelum masa Colombus. Pada abad ke-16 orang Spanyol membawa nenas ini ke Filipina dan Semenanjung Malaysia, masuk ke Indonesia pada abad ke-15, (1599). Di Indonesia pada mulanya hanya sebagai tanaman pekarangan dan meluas dikebunkan di lahan kering (tegalan) di seluruh wilayah nusantara(Sunarjono, 2008).

Menurut USDA (2013) Tanaman nanas diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*  
Superdivisio : *Spermatophyta* (tumbuhan berbiji)  
Divisio : *Magnoliophyta* (berbunga)  
Kelas : *Liliopsida* (monokotil)  
Ordo : *Bromeliales*  
Famili : *Bromeliaceae* (nenas-nenasan)  
Genus : *Ananas*  
Spesies : *Ananas comosus*(L.) Merr.

Hadiati dan Indriyani (2008) menyatakan bahwa tanaman nanas dapat tumbuh dan beradaptasi baik pada daerah tropis dengan ketinggian 100-800 meter diatas permukaan laut dan pada temperature antara 21-27° C. Tanaman ini tidak dapattumbuh pada suhu yang terletak diantara 10-16° C. Bila temperatur diatas

27° C, maka tanaman akan mengalami luka-luka karena transpirasi dan respirasi yang berlebihan. Tanaman nanas membutuhkan curah hujan 1000-1500 mm per tahun dan kelembapan udara 70-80%. Tanaman nanas memerlukan lahan dengan tanah lempung sampai berpasir, mengandung bahan organik, drainase yang baik dan pada pH tanah berkisar antara 4,5-6,5. Sinar matahari adalah faktor iklim yang menentukan pertumbuhan dan kualitas buah nanas. Apabila presentase sinar matahari sangat rendah, maka pertumbuhan akan terhambat, buah kecil, kadar asam tinggi, dan kadar gula buah rendah. Sebaliknya, apabila sinar matahari terlalu banyak maka akan menyebabkan luka bakar pada buah yang hampir masak (Hadiati dan Indriyani, 2008).

## **2.1 Penyakit Penting pada Tanaman Nanas**

Penyakit-penyakit yang terdapat pada tanaman nanas adalah busuk hati dan busuk akar yang disebabkan oleh *Phytophthora* sp., busuk pangkal batang, daun, buah dan bibit yang disebabkan oleh jamur *Thielaviopsis paradoxa*, bercak daun yang disebabkan oleh jamur *Curvularia* sp. dan penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia chrysanthemi* (Semangun, 2007).

### **2.2.1 Penyakit Busuk Hati Bakteri Nanas**

Penyakit busuk buah nanas yang disebabkan oleh bakteri dilaporkan menyerang tanaman nanas di Malaysia, Brazil, Costa Rica, Filipina dan Hawaii. Di Malaysia, sejak tahun 1972 dilaporkan adanya penyakit rebah buah dan busuk hati bakteri (*bacterial heart rot*) pada buah nanas yang diduga disebabkan oleh bakteri *E. carotovora* (Semangun, 2007).

Klasifikasi bakteri *E. Chrysanthemi* adalah sebagai berikut (Uniprot, 2002):

Kingdom :Bacteria  
 Divisio :Proteobacteria  
 Kelas : Gammaproteobacteria  
 Ordo : Enterobacteriales  
 Famili : Enterobacteriaceae  
 Genus : *Erwinia*  
 Spesies : *Erwinia chrysanthemi*.

Dalam ekosistem tumbuhan alami, *E. Chrysanthemi* menyebabkan penyakit busuk lunak pada nanas dan pada tanaman lain dengan berbagai gejala seperti nekrosis dan hawar. Dari total 322 strain *E. chrysanthemi* yang diujikan, seluruhnya merupakan golongan bakteri Gram negatif, motil dengan flagel di seluruh permukaan tubuhnya, berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan menunjukkan hasil positif pada uji pembusukan umbi kentang (*soft rot*). Hal ini sejalan dengan penelitian Kaneshiro *et al.* (2008) terhadap strain *E. chrysanthemi* yang menginfeksi nanas menunjukkan bahwa *E. chrysanthemi* merupakan golongan bakteri Gram negatif, tergolong dalam bakteri anaerob fakultatif dan bersifat *soft rot*. Saat ini nama *E. chrysanthemi* yang menyebabkan penyakit busuk pada nanas lebih dikenal sebagai *Dickeya* sp.. *Dickeya* sp. sebuah genus baru yang diusulkan oleh Samson *et al.* (2005) dalam Rachmachandran, *et al.* (2008) sehingga menjadi sinonim *Erwinia chrysanthemi*. Oleh karena itu, pada uraian selanjutnya digunakan nama *Dickeya* sp..

Gejala penyakit busuk hati bakteri pada tanaman nanas dapat berupa tanaman muda yang terserang penyakit ini mempunyai daun yang klorosis dengan ujung nekrotik, daun-daun muda mudah dicabut dan pangkalnya busuk. Bagian daunnya yang membusuk mempunyai batas yang berwarna coklat (Gambar 1).

Pembusukan dapat meluas ke bagian batang tanaman. Bagian yang busuk berbau tidak sedap. Pada tanaman tua jarang terjadi infeksi, jika hal ini terjadi pada jaringan sukulen pada bagian atas dan terbatas pada petak kecil di lapang.

Tanaman yang terserang penyakit ini tidak selalu mati, hanya rebah dan membentuk tunas-tunas baru dan secara perlahan melanjutkan pertumbuhannya.

Perkembangan penyakit busuk hati bakteri nanas ini pada umumnya dibantu oleh curah hujan yang tinggi dan seringkali menyebabkan kerugian yang lebih besar di tanah yang basah dan sejuk ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) (Semangun, 2007). Pengendalian yang dapat dilakukan menggunakan cara kultur teknis dengan memperbaiki drainase tanah, mengurangi kelembaban sekitar kebun, memotong atau mencabut tanaman yang sakit. Selain itu, mencelupkan bibit dalam suspensi fungisida, antara lain bubuk *bordeaux* atau *kaptafol*, atau pestisida berbahan aktif mankozeb 80%.



Gambar 1. Gejala penyakit busuk hati yang disebabkan oleh *Erwinia chrysanthemi* (Sumber: Kaneshiro *et al.*, 2008).

### 2.2.2 Penyakit Bercak Daun

Penyakit bercak daun pada nanas disebabkan oleh jamur *Curvularia* sp.. Pada serangan ringan jamur ini tidak menimbulkan kerugian yang berarti, namun pada

serangan berat bercak daun akan menurunkan produksi buah hingga 50%. Oleh karena itu, penyakit ini perlu dikendalikan untuk mencegah perkembangan penyakit ini lebih luas (Hanif, 2012).

Klasifikasi *Curvularia* sp. adalah sebagai berikut (Dongyou Liu, 2011) :

Kingdom : Fungi  
Phylum : Ascomycota  
Class : Hyphomycetes  
Ordo : Pleosporales  
Family : Pleosporaceae  
Genus : *Curvularia*  
Spesies : *Curvularia* sp.

Tanaman nanas yang terserang *Curvularia* sp. menunjukkan gejala berupa bercak kuning kecil pada daun lalu pada tingkat lanjut akan melebar bergabung menjadi bercak yang lebih besar di daun. *Curvularia* sp. juga menyerang tanaman selain nanas yaitu kelapa sawit hal ini dikemukakan oleh (Susanto dan Agus, 2013) bercak daun yang disebabkan oleh *Curvularia* sp. pada menunjukkan gejala seperti dimulai dengan adanya titik bercak berwarna kecokelatan yang dikelilingi oleh selaput hitam transparan. Selaput hitam tersebut akan berubah menjadi kuning muda, sedangkan bercak coklat muda yang terdapat di pusat bercak akan berubah menjadi coklat tua (Gambar 2).

Jamur patogen dapat masuk kedalam bagian tumbuhan melalui luka, lubang alami, atau dengan langsung menembus permukaan bagian tumbuhan yang utuh.

Bila patogen tidak dapat menembus lapisan-lapisan tersebut, patogen masuk melalui luka. *Curvularia* sp. disebarkan karena terbawa angin maupun karena percikan air hujan, dan juga oleh serangga (Semangun, 2007).

Pengendalian penyakit bercak daun sangat berkaitan dengan kesehatan bibit. Bibit yang dalam kondisi lemah akibat kurang pemupukan dan penyiraman akan menjadi penyakit bercak daun. Kelembaban yang tinggi pada bibit akibat terlambatnya pindah tanam dari pembibitan *pre-nursery* ke *mainnursery* juga akan memperparah penyakit ini (Semangun, 2007). Praktik pengendalian penyakit bercak daun yang paling sering dilakukan ialah sanitasi daun terinfeksi dan aplikasi fungisida dengan bahan aktif mancozeb dengan interval 7–10 hari (Alexet *et al.*, 2013).



Gambar 2. Gejala penyakit yang disebabkan oleh *Curvularia* sp. (Ningsih, 2015).

### 2.2.3 Penyakit Busuk Hati dan Busuk Akar

Penyakit busuk hati dan busuk akar ini disebabkan oleh jamur *Phytophthora* sp. yang terjadi pada titik tumbuh dan akar (Semangun, 2007). Penyakit busuk hati ini berbeda dengan busuk hati yang disebabkan oleh *Erwinia chrysanthemi*, karena tanaman nanas yang terserang dicirikan dengan adanya bercak berwarna coklat yang mulai dari bagian akar. Jaringan yang tidak terinfeksi tampak jelas dan dibatasi oleh permukaan kasar, tetapi bercak dapat berkembang dengan cepat dan

seringkali menampilkan pembusukan yang menyeluruh dan berwarna hitam.

Penyakit busuk hati disebut hearth rot, sedangkan busuk akar dinamakan root rot.

Klasifikasi jamur *Phytophthora* sp. adalah sebagai berikut (Global Biodiversity Information Facility, 2015) :

Kingdom : Fungi  
 Phylum : Myxomycota  
 Class : Phycomycota  
 Ordo : Peronosporales  
 Family : Pythiaceae  
 Genus : *Phytophthora*  
 Spesies : *Phytophthorasp.*

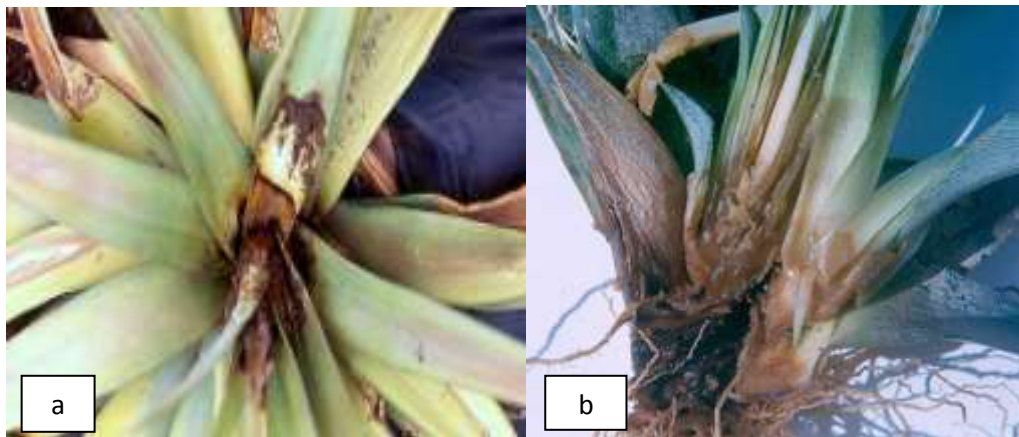
Gejala penyakit busuk hati padatanaman muda dapat dilihat dari daun yang klorotis dengan ujung nekrotik, daun-daun muda mudah dicabut dan pangkalnya busuk. Bagian daun yang membusuk mempunyai batas yang berwarna coklat. Pembusukan dapat meluas ke bagian batang tanaman dan bagian yang busuk menjadi berbau tidak sedap. Pada tanaman tua jarang terjadi infeksi, tetapi jika hal ini terjadi, maka umumnya hanya sebatas pada jaringan sukulen pada bagian atas batang dan terbatas pada petak kecil dilapang. Tanaman yang terserang ringan mungkin tidak mati, tetapi hanya rebah dan membentuk tunas-tunas baru dan secara perlahan melanjutkan pertumbuhannya. Tetapi, tanaman yang menunjukkan gejala busuk akar (Gambar 3) dapat berakibat rusak atau matinya tanaman.

Penyakit busuk hati atau busuk akar ini berkembang dengan baik pada kondisi pertanaman nanas yang drainasenya tidak baik atau tergenang air. Patogen dapat menyerang pada saat fase pembentukan bunga, pembentukan buah, fase pertumbuhan vegetatif, alat-alat pertanian, curah hujan tinggi, tanah yang



mengandung bahan organik dan kelembaban tanah tinggi antara 25°-35°C(Direktorat Perlindungan Hortikultura, 2013).

Pengendalian penyakit busuk hati atau busuk akar ini dilakukan dengan cara perbaikan drainase tanah, mengurangi kelembapan sekitar kebun, dan memotong atau mencabut tanaman yang sakit, cara kimiawi dengan pencelupan bibit dalam larutan fungisida sebelum tanam, seperti bithane M-45 atau benlate (Direktorat Perlindungan Hortikultura, 2013).



Gambar 3. Gejala penyakit busuk hati (a) dan busuk akar(b) yang disebabkan oleh *Phytophthora* sp.(Nelson, 2012).

#### 2.2.4 Penyakit Busuk Pangkal Buah

Penyakit busuk pangkal buah disebabkan oleh *Thielaviopsis paradoxa* atau *Ceratocystis paradoxa* yang terjadi pada batang, pangkal daun, buah dan bibit (Semangun, 2007). Gejala pada pangkal bibit nanas terjadi busuk lunak yang berwarna coklat. Pembusukan ini dapat meluas ke atas, ke daun-daun sebelum atau sesudah bibit dipindah ke lapang daun timbul bercak-bercak putih kekuningan atau garis-garis yang lebar dan pendek. Buah matang yang terinfeksi menjadi busuk, berwarna kuning yang akhirnya berubah menjadi hitam (Gambar

4). Infeksi biasanya dimulai dari bekas potongan pada tangkai dan dari bagian yang busuk keluar bau yang khas.

Menurut National Center For Biotechnology Information (2011), jamur

*Thielaviopsis paradoxa* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Fungi  
Phylum : Ascomycota  
Class : Sordariomycetes  
Ordo : Microascales  
Family : Ceratocystidaceae  
Genus : *Thielaviopsis*  
Spesies : *Thielaviopsis paradoxa*.

Menurut Semangun (2007), gejala penyakit dapat timbul pada batang, pangkal daun, buah dan bibit. Gejala yang tampak yaitu pada pangkal batang nanas terjadi busuk lunak yang berwarna coklat meluas ke daun. Hal ini terjadi pada saat sebelum atau sesudah bibit dipindah ke lapang. Bagian daun timbul bercak-bercak putih kekuningan atau coreng-coreng (streak) yang melebar dan pendek. Buah matang yang terinfeksi membusuk, berwarna kuning, lalu berubah menjadi hitam mulai dari bidang potongan tangkai dan mengeluarkan bau yang khas. Kerugian terbesar yang diakibatkannya yaitu pada saat buah setelah dipetik.

Patogen hanya dapat menginfeksi melalui luka, baik luka pemotongan maupun karena penanganan yang tidak benar. Bibit-bibit yang mempunyai bidangpotongan yang cukup besar pada pangkalnya, sangat rentan terhadap penyakit, terutama jika banyak hujan (Semangun 2007).



Gambar 4. Gejala penyakit busuk pangkal buah yang disebabkan oleh *Thielaviopsis paradoxa* (sumber : Herique, 2014).

### 2.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam. Secara khusus, bakteri masuk ke jaringan melalui jaringan yang berkecambah, akar, stomata, maupun jaringan yang rusak. Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang sebagian atau seluruh dari siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit. Bakteri tersebut hidup pada jaringan tanaman sehat seperti pada bagian biji, akar, batang dan daun tanaman. Bakteri endofit yang hidup pada jaringan tanaman dapat berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, dan meningkatkan resistensi tanaman dari berbagai macam patogen dengan cara memproduksi zat antibiotik. Endofit juga memproduksi metabolit sekunder yang sangat penting bagi tumbuhan (Juwita, 2010).

#### 2.3.1 Bakteri Endofit sebagai Agensia Hayati

Senyawa antimikroba tidak hanya dapat dihasilkan oleh tumbuhan maupun hewan, akan tetapi dapat juga berasal dari mikroba. Salah satu mikroba yang

berpotensi tersebut adalah bakteri endofit. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan vascular tumbuhan tanpa menyebabkan efek negatif. Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti terkandung di dalam tumbuhan inangnya (Barbara and Christine, 2006).

Bakteri endofit maupun rizobakteri lainnya merupakan bagian dari mikroflora alamiah dari tanaman yang sehat di lapangan. Bakteri ini dapat dikatakan sebagai kontributor penting bagi kesehatan tanaman. Menurut Hallman (1997) dalam Wulandari *et al* (2012), bakteri endofit berperan dalam kesehatan tanaman dalam hal: (1) antagonisme langsung atau penguasaan relung atas patogen, (2) menginduksi ketahanan sistemik dan (3) meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan. Karena sifat-sifat tersebut bakteri endofit telah terbukti dapat dimanfaatkan sebagai pengendali hayati penyakit tanaman bahkan dapat mengurangi serangan hama tanaman.

### **2.3.2 Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat**

Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri dekomposer yang berperan dalam penyuburan tanah karena mampu melakukan mekanisme pelarutan fosfat dengan mengekskresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah. Bakteri memanfaatkan senyawa karbon sederhana yang berasal dari eksudat akar tanaman dan sisa dari tanaman. Bakteri pelarut fosfat juga berperan dalam proses metabolisme vitamin D yang berfungsi untuk memperbaiki pertumbuhan akar tanaman dan meningkatkan serapan unsur hara pada tanaman (Wulandari, 2001).

Menurut Purwaningsih (2003), bakteri pelarut fosfat mampu mensekresikan enzim fosfatase yang berperan dalam proses hidrolisis P organik menjadi P anorganik dan juga dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh. Beberapa bakteri yang berperan sebagai pelarut fosfat pada tanaman telah ditemukan, diantaranya berasal dari genus *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azetobacter*, *Mycrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Flovobacterium*.

Potensi bakteri endofit sebagai pelarut fosfat juga telah diteliti oleh Premono (1994) dan Maryanti (2006). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa bakteri endofit mampu berperan sebagai pelarut fosfat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman secarasangat signifikan. Aplikasi bakteri endofit pelarut P mampu meningkatkan kadar P tanah asal pupuk dan meningkatkan efisiensi serapan P asal TSP sebanyak 60-135%. Pemanfaatan isolat bakteri endofit dikenal dengan istilah penginokulasian. Aplikasinya biasanya dilakukan pada biji atau tanah bersama dengan pemakaian pupuk yang mengandung fosfat(Maryanti,2006).

### **III. BAHAN DAN METODE**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian. Pelaksanaan penelitian berlangsung sejak bulan Agustus 2016 sampai dengan Desember 2016.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri, tabung reaksi, timbangan, jarum ose, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, lampu bunsen, *laminar air flow*, penggaris, spidol marker, aluminium foil, plastik *wrap*, kertas label, nampan, plastik tahan panas, autoklaf, tisu, termometer, rotamixer, mikropipet, kaca preparat, cover glass, mikroskop dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 15 isolat bakteri endofit, isolat bakteri *Dickeya* sp., isolat jamur *Thielaviopsis paradoxa*, isolat jamur *Curvularia* sp., isolat jamur *Phytophthora* sp., alkohol 70%, media *Nutrient Agar*(NA), media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*), akuades, air steril, minyak paraffin, dan media *agar Pikovskaya*.

### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini terdiri atas dua percobaan. Percobaan pertama adalah uji antagonisme bakteri endofit terhadap bakteri patogen *Dickeya* sp., dan jamur patogen *Curvularia* sp., *T.paradoxa*, dan *Phytophthora* sp.secara *in vitro*. Percobaan kedua adalah uji kemampuan sebagai pelarut fosfat e cara *in vitro*. Perlakuan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 ulangan pada masing-masing subpercobaan. Nilai tengah antar perlakuan diuji dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5 %.

#### **3.3.1 Persiapan Penelitian**

##### **3.3.1.1 Peremajaan Biakan Bakteri Endofit**

Isolat bakteri endofit yang digunakan diambil dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Koleksi diperoleh dari peneliti sebelumnya (Khoironi, 2015). Isolat bakteri endofit diremajakan menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode penggoresan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Selanjutnya beberapa koloni tunggal digoreskan pada media agar miring untuk digunakan pada pengujian selanjutnya.

##### **3.3.1.2 Peremajaan Biakan Bakteri *Dickeya* sp.**

Isolat bakteri *Dickeya* sp.yang digunakan diambil dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Koleksidiperoleh dari peneliti sebelumnya (Desnida, 2015).Isolatbakteri *Dickeya* sp.diisolasikan pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode penggoresan dan diinkubasi pada

suhuruang selama 24-48 jam. Selanjutnya koloni tunggal digoreskan pada media agar miring untuk digunakan pada pengujian selanjutnya.

#### **3.3.1.3 Peremajaan Biakan *Curvularia* sp.**

Isolat *Curvularia* sp. yang digunakan diambil dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Koleksi diperoleh dari peneliti sebelumnya (Ningsih,2016). Isolat *Curvularia* sp. diisolasikan ke dalam media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*) dengan menggunakan bor gabus kemudian isolat diletakkan didalamnya dan diinkubasi pada suhu ruang selama 4x24 jam. Beberapa koloni yang tumbuh diisolasi kembali menggunakan media yang sama untuk memperoleh koloni tunggal dari isolat murni.

#### **3.3.1.4 Peremajaan Biakan *Thielaviopsis paradoxa* atau *Ceratocystis paradoxa***

Isolat *Thielaviopsis paradoxa* atau *Ceratocystis paradox* yang digunakan diambil dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Koleksi diperoleh dari peneliti sebelumnya (Ningsih,2016). Isolat *Thielaviopsis paradoxa* atau *Ceratocystis paradox* diisolasikan ke dalam media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*) dengan menggunakan bor gabus kemudian isolat diletakkan didalamnya dan diinkubasi pada suhu ruang selama 4x24 jam. Beberapa koloni yang tumbuh diisolasi kembali menggunakan media yang sama untuk memperoleh koloni tunggal dari isolat murni.

#### **3.3.1.5 Peremajaan Biakan *Phytophthora* sp.**

Isolat *Phytophthora* sp. yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Isolat *Phytophthora* sp.



diisolasikan ke dalam media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*) dengan menggunakan bor gabus kemudian isolat diletakkan didalamnya dan diinkubasi pada suhu ruang selama 4x24 jam. Beberapa koloni yang tumbuh diisolasi kembali menggunakan media yang sama untuk memperoleh koloni tunggal dari isolat murni.

#### **3.3.1.6 Pembuatan Media PDA untuk Media Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen**

Media PDA dibuat dengan menimbang kentang sebanyak 100 gram lalu kentang tersebut dipotong-potong kecil dan ditambahkan dengan air steril sebanyak 500 gram lalu dimasak sampai mendidih. Setelah itu, air rebusan dimasukkan kedalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan dengan gula dan potongan agar batang masing-masing sebanyak 10 gram. Tabung erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan diikat dengan karet. Setelah itu, tabung erlenmeyer yang berisi media dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diautoklaf pada suhu 121°C atau tekanan 1atm selama 15 menit. Setelah itu, media dikeluarkan dari dalam autoklaf, ditunggu sampai agak dingin dan dituang ke dalam cawan petri. Setiap cawan petri diisi dengan media sebanyak 10 ml secara aseptik di dalam *laminar air flow*.

#### **3.3.1.7 Pembuatan Media Nutrient Agar untuk Media Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Bakteri Patogen**

Media NA dibuat dengan mencampurkan bubuk NA dengan akuades. Bubuk NA yang sudah ditimbang sebanyak 15 gr dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan kemudian ditambahkan akuades sebanyak 500 ml. Tabung erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan diikat dengan karet gelang. Setelah itu, tabung erlenmeyer yang berisi media dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diautoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1atm selama 15 menit. Selanjutnya,

media dikeluarkan dari dalam autoklaf, ditunggu sampai agak dingin dan dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptik di dalam *laminar air flow*.

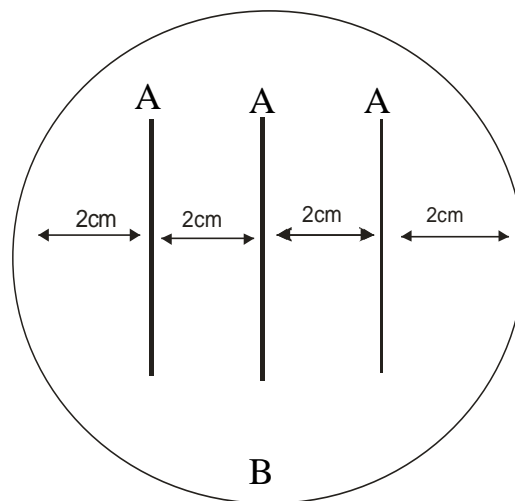
### **3.3.1.8 Pembuatan Media *Pikovskaya* untuk Deteksi Bakteri Pelarut Fosfat**

Media *pikovskaya* dibuat dengan mencampurkan bubuk media *Pikovskaya* dengan akuades (Pratamaningtyas, 2011). Bubuk *pikovskaya* yang sudah ditimbang sebanyak 16,1 gr dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan kemudian ditambahkan akuades sebanyak 1 liter. Tabung erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan diikat dengan karet gelang. Setelah itu, tabung erlenmeyer yang berisi media dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diautoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya, media dikeluarkan dari dalam autoklaf, ditunggu sampai agak dingin dan dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptik di dalam *laminar air flow*.

### **3.3.2 Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Bakteri Patogen**

Pengujian kemampuan antagonisme bakteri endofit sebagai antagonis bakteri *Dickeya* sp. dilakukan dengan cara sebagai berikut : suspensi biakan murni *Dickeya* sp. disiapkan dengan cara menambahkan dua ose ke dalam 5 ml air steril. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan rotamixer. Suspensi *Dickeya* sp. dicampur dengan 100 ml media NA yang masih cair dan digoyang agar merata. Media tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan masing-masing sebanyak 10 ml kemudian digunakan sebagai media pengujian secara *in vitro*. Selanjutnya, bakteri endofit digoreskan pada media tersebut dengan jarak 2 cm. Dalam setiap cawan masing-masing digoreskan sebanyak 3 garis (Gambar 5), kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk diamati zona bening yang

terbentuk disekitar bakteri endofit. Pengamatan zona bening dilakukan dengan menggunakan bantuan plastik transparan untuk menggambar pola zona bening yang terbentuk dan selanjutnya diukur luasannya menggunakan kertas *milimeterblock* sehingga diketahui luasan zona bening yang terbentuk disekitar bakteri endofit. Luasan zona bening menunjukkan besarnya kemampuan bakteri endofit dalam menekan pertumbuhan bakteri *Dickeyasp.* (Damayanti, 2010).



Gambar5. Skema uji antagonis bakteri endofit (A) terhadap pertumbuhan *Dickeya* sp. yang dicampurkan dalam media NA.

### 3.3.3 Uji Antagonisme Bakteri Endofit terhadap Jamur Patogen

Pengujian kemampuan bakteri endofit sebagai antagonisme dilakukan pada tiga jamur patogen yaitu *Curvularia* sp., *Thielaviopsis paradoxa* dan *Phytophthora* sp..

Pengujian antagonisme bakteri endofit sebagai antagonisme jamur dilakukan dengan digoreskan pada dua sisi medium dengan jarak 2 cm dari tepi cawan. Selanjutnya isolat jamur patogen yang sudah berumur 7 hari dengan diameter 0,5cm diletakkan pada bagian tengah cawan (Gambar 6), lalu diinkubasi pada suhu kamar dan diamati zona penghambatan yang terbentuk disekitar jamur patogen. Pengamatan dilakukan menggunakan plastik transparan kemudian

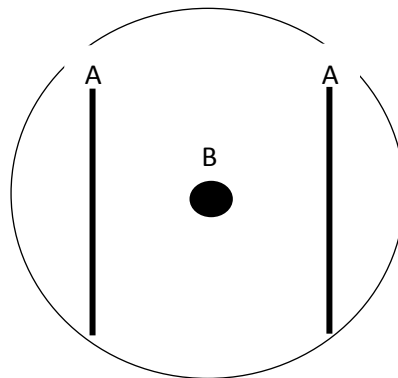
menggambar zona hambat dengan spidol selanjutnya menggunakan kertas *milimeterblock* dengan menghitung luas zona penghambatan yang terbentuk disekitar bakteri endofit. Untuk mengetahui presentase penghambatan digunakan rumus (Skidmore and Dickinson (1976), dalam Sumacipta (2013)) :

$$\text{Presentase Penghambatan} = \frac{L1-L2}{L1} \times 100 \%$$

Keterangan :

L1 = luasan zona penghambatan yang menjauhi koloni bakteri (kontrol).

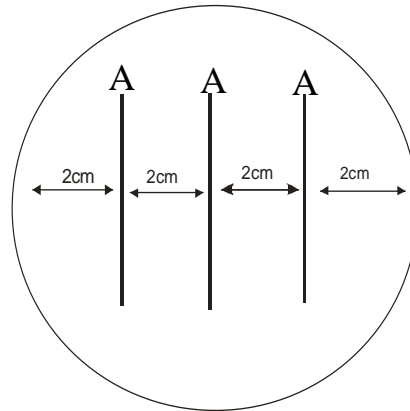
L2 = luasan zona penghambatan yang mendekati koloni bakteri.



Gambar 6. Skema uji antagonisme bakteri endofit (A) terhadap jamur patogen (B).

### 3.3.4 Uji Kemampuan Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat

Pengujian kemampuan bakteri endofit sebagai pelarut fosfat dilakukan menyiapkan media pelarut fosfat pada cawan yang akan digunakan. Selanjutnya, bakteri endofit digoreskan pada media tersebut dengan jarak 2 cm. Dalam setiap cawan digoreskan masing-masing sebanyak 3 goresan (Gambar 7). Selanjutnya, cawan petri diinkubasi selama 24 jam lalu diamati zona bening yang terbentuk di sekitar goresan bakteri endofit. Luasan zona bening menunjukkan besarnya kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan fosfat yang terkandung dalam media (Pelczar dan Chan, 2006).



Gambar 7. Skema uji pelarutan fosfat oleh bakteri endofit(A) pada media cawan.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Isolat bakteri endofit yang menghambat pertumbuhan bakteri *Dickeya* sp. adalah GKS KP dan AP; yang menghambat *Curvularia* sp. adalah GKS Kn, GBS KW, GKS K, AK dan GKS K; yang menghambat *Phytophthora* sp. adalah GKS K, AK, CH, A31, 3C, GKS KP dan GBS KW; yang menghambat *Thielaviopsis paradoxa* adalah CH, GKS KP, A31, 3C, NS, dan GBS H.
2. Bakteri endofit yang diuji tidak berperan sebagai pelarut fosfat.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi isolat-isolat endofit yang mampu menghambat bakteri *Dickeya* sp., jamur *Curvularia* sp., *Phytophthora* sp., dan *Thielaviopsis paradoxa*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anitha, A., & M. Rabeeth. 2009. Control of *Fusarium* wilt of tomato by bioformulation of *Streptomyces griseus* in green house condition. *Journal of Basic & Applied Sciences*. 1(1–2):9–14.
- Alex, D., L. Dongmei., C. Richacrd., & P. Shetpen. 2013. Identification of *Curvularia lunata* by polymerase chain reaction in case of fungal endophthalmitis. *Med Mycol Case Report*. 1(2):137–140.
- Arwiyanto, T., M. YMS., & A. Nining Azizah. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluorescence*, Agensi Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *Jurnal Biodiversitas*. 8:147-151.
- Asnawi, I. Rida., & M. Hiasinta F.J. 2012. Eksplorasi Agens Biokontrol *Phytophthora palmivora* Penyebab Penyakit Gugur Buah Kelapa. *Jurnal Agroteknologi Universitas Negeri Gorontalo*. Manado. Sulawesi Utara. 2(1):61-66.
- Badan Pusat Statistika. 2014. Produksi Buah Tanaman Nanas. Tersedia dalam [http://www.bps.go.id. Diakses pada 14 Agustus 2016]
- Barbara, J.E.S., & B. Christine, J.C. 2006. *What are Endophytes, In Microbial Root Endophytes*. Springer-Verlag, Berlin. 354 Halaman.
- Daulay, D.M., A. Luqman Qurota & S. Muhammad Akhid. 2014. Potensi Bakteri Bermanfaat dari Lumpur Sidoarjo untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak *Erwinia* sp. pada Umbi Kentang. *Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Universitas Brawijaya. Malang. 9 halaman.
- Damayanti, I. 2010. Seleksi dan karakterisasi bakteri endofit untuk menekan kejadian penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tanaman tomat. Skripsi. IPB. Bogor. 42 halaman.
- Desnidasari. 2015. Karakterisasi dan uji kisaran inang bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman nanas (*Ananas Comosus* L. Merr.). Skripsi. Universitas Lampung. Lampung. 42 halaman.

- Desriani., P. Ukhradia M.S., B. Maria., R. Akhmad & L. Puspita. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(2):1-7.
- Direktorat Perlindungan Hortikultura. 2013. Organisme Pengganggu Tanaman Buah Busuk Hati dan Busuk Akar. Tersedia dalam [http://ditlin.hortikultura.pertanian.go.id. Diakses pada 22 Februari 2017]
- Diniyah, S. 2010. Potensi isolat bakteri endofit sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan jamur (*Fusarium* sp. dan *Phytophthora infestans*) penyebab penyakit layu pada tanaman. Skripsi. Universitas Malik Ibhamin. Malang. 65 halaman.
- Dongyou L. 2011. *Molecular Detection Human Pathogens*. Taylor and Francis Group. 922 halaman.
- Elfina, Y., & P. Fenti. 2008. Identifikasi Jamur pada Rizosfir Tanaman Nenas (*Ananas comosus* L.) dan Uji Indikasi Antagonisnya terhadap Patogen *Thielaviopsis paradoxa* di Desa Rimbo Panjang Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. *JurnalSagu*. 7(1):45-52.
- George, TS., PJ.Gregori., M.Wood., J. Read & RJ.Buresh. 2002. Phosphatase Activity and Organic Acids in the Rhizosphere of Potential Agroforestry Species and Maize. *Soil Biol. Biochem*. 34:1487-1494.
- Glick, B.R. 2012. *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications*. Tersedia dalam [http://www.hindawi.com/journals/scientifica/2012/963401/. Diakses pada 2 Juli 2016]
- Global Biodiversity Information Facility. 2015. *Phytophthora* sp. [http://www.gbif.org/.Diakses pada 6 Januari 2017]
- Hadiati, S., & N.L.P. Indriyani. 2008. Budidaya Nanas. *Jurnal Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika*. 12:1-24.
- Hallmann, J., A.Quadt-Hallmann., W.F. Mahaffee., & J.W.Kloepper. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Can. Jurnal Microbiol*. 43: 895-9214.
- Hallmann, J. 2001. Plant Interaction with Endophytic Bacteria. Di dalam: Jeger MJ, Spencer NJ. editor. Biotic Interaction in Plant-Pathogen Associations. *CAB International*. 87-119.
- Hanif, A., S. Dwi., & N. Isnaini. 2012. Pemanfaatan Bakteri Pemanfaatan Bakteri Kitinolitik dalam Menghambat Pertumbuhan *Curvularia* sp. Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Mentimun. *Jurnal FMIPA*. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara. 1(1) : 1-7.



- Harni, R., Supramana., M.S.Sinaga., Giyanto., & Supriadi.2012. Potensi Bakteri Endofit Pengendali Nematoda Peluka Akar (*Pratylenchus branchyurus*) pada Tanaman Nilam. *Buletin RISTRI*. 14(1):7-12.
- Herique, L. 2014. Images *Ceratocystis paradoxa*.  
[<http://www.slideshare.net/denielmotaba/abacaxizairo-prages-e-doenes>.  
Diakses pada 10 Februari 2017]
- Juwita.2010. Potensi bakteri endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) terhadap serangan nematoda sista kuning (*Globodera rostochiensis*). Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Jawa Timur. 83 halaman.
- Kartini, E., A. Abdul Latief & A. Luqman Qurata. 2014. Pengembangan Bio-Bakterisida yang Memanfaatkan Bahan Aktif Bakteri Endofit Potensial Antagonis untuk Mengendalikan *Erwinia* sp. di Umbi Kentang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman*. 2(4):2338–4336.
- Kaneshiro, W.S., M. Burger., B.G. Vine., A.S. de Silva., & A.M. Alvarez. 2008. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a Bacterial Heart Rot of Pineapple Outbreak in Hawaii. *Plant Disease*. 92(10):1444-1450.
- Khoironi, T. 2015. Isolasi bakteri endofit dari daun nanas dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman.Skripsi. Universitas Lampung. Lampung. 40 halaman.
- Khotimah, S.& Rahmawati. 2009. Isolasi, karakterisasi, dan kepadatan populasi bakteri pelarut fosfat di daerah rhizosfer tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) pada kawasan tanah gambut daerah Rasau Jaya. Skripsi.Universitas Tanjungpura. Pontianak. 30 halaman.
- Manurung, I.R., P. Mukhtar Iskandar& L. Lahmuddin. 2014. Uji Antagonisme Jamur Endofit terhadap *Cercospora oryzae* dan *Curvularia lunata* (Wakk) Boed. dari Tanaman Padi di Laboratorium. *Jurnal Agroteknologi*. 2(4):1563-1571.
- Maryanti, D. 2006. Isolasi dan uji kemampuan bakteri pelarut fosfat dari rhizosfir tanaman pangan dan semak. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang. 84 halaman.
- Muljoharjo, M. 1984. Nanas dan Teknologi Pengolahannya (*Ananas comosus* (L) Merr). Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Liberty. Hal 99-100.
- National Center of Biotechnology Information. 2011. Taxonomy.  
[<http://www.gbif.org/species/105142528>. Diakses pada 10 Februari 2017]

- Nelson, S. 2012. Pineapple Images.  
[<http://www.flickr.com/photos/scotelson/8250775784>. Diakses pada 12 Maret 2017]
- Ningsih, M.G.D. 2016. Inventarisasi patogen di pertanaman nanas (*Ananas comosus* L.) varietas queen di Desa Astomulyo Kecamatan Punggur Kabupaten Lampung Tengah. Skripsi. Universitas Lampung. Lampung. 45 hal.
- Nursanty, R., & Suhartono. 2012. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Antomikroba Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Johar (*Cassia siame* Lamk). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 4(1):7-10.
- Pelczar, M.J. & Chan. E.C.S. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. UI Press. Jakarta. 570 hal.
- Pratamaningtyas, S. 2011. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktifitas Mikroba Pelarut Fosfat dan Pengikat Nitrogen dari Mol (*Mikroorganisme Lokal*) Bonggol dan Batang Pisang (*Musa paradisiaca*). Universitas Brawijaya. Malang.
- Premono, E. 1994. Jasad renik pelarut fosfat pengaruhnya terhadap P-tanah dan efisiensi pemupukan P-tanaman tebu. Disertasi. Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor. 193 halaman.
- Purwaningsih, S. 2003. Isolasi, Populasi dan Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah dari Taman Nasional Bogani Nani Wartabone, Sulawesi Utara. *Biologi* 3. (1):22-31.
- Purwantisari, S., & Hasturi, R.B. 2009. Uji Antagonisme Jamur Patogen *Phytophthora infestans* Penyebab Penyakit Busuk Daun dan Umbi Tanaman Kentang dengan Menggunakan *Trichoderma* spp. Isolat Lokal. *Jurnal Bioma*. 11 (1): 24-32.
- Prasetyo, J. & A. Titik Nur. 2014. Pineapple fruit collapse: newly emerging disease of pineapple fruit in Lampung, Indonesia. *Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman Tropika*. 14(1):96-99.
- Ramachandran, K., M. Uyub Abdul & Z. Latiffah 2015. Molecular Characterization and Pathogenicity of *Erwinia* spp. Associated with Pineapple (*Ananas comosus* L. (Merr.)) and Papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Plant Protection Research*. 55(4):1-9.
- Rao, S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi ke 2. UI Press. Jakarta. 353 hal.
- Sariyanto, N. 2006. Eksplorasi agens antagonis yang berpotensi menekan penyakit layu fusarium pada pisang. Skripsi. IPB. Bogor. 42 hal.

- Semangun, H. 2007. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Edisi ke-2. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 511-522.
- Shehata, S.,F. Sawsan & Borollosy. 2008. Induction of Resistance Against Zucchini yellow Mosaic Potyvirus and Growth Enhancement of Squash Plants Using Some Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Journal of Basic and Applied Sciences*. 2: 174-182.
- Silitongga, D.M., P. Nunuk& N. Isnaini. 2015. Isolasi dan Uji Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine max* L.) pada Tanah Kuning. *Jurnal Biologi*. 35-36.
- Simarmata, R.,L. Sylvia & S. Harmastini. 2007. Isolasi Endofitlik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Berk. Penel. Hayati*.13:85-90.
- Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. PT. Rajawali Grafindo Persada. Jakarta.544 halaman.
- Strobe, G. & D. Bryn. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Journal of Microbiology*.4:491-502.
- Sumacipta, F. 2013. Seleksi bakteri endofit untuk pengendalian penyakit rebah kecambah (*Phytium* sp.) pada tanaman mentimun. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 36 halaman.
- Sunarjono, H. 2008. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Penebar Swadaya. Jakarta. 176 halaman.
- Susanto,A.,&A.E.Prasetyo, 2013. Respons *Curvularia lunata* Penyebab Penyakit Bercak Daun Kelapa Sawit terhadap Berbagai Fungisida. *Jurnal Fitopatologi*.9(6):165–172.
- Torres, G.A., G.A. Sarria., G. Martinez., F. Varon., A. Drenth., &D.I. Guest. 2015. Bud Rot Caused by *Phytophthora palmivora*: A Destructive Emerging Disease of Oil Palm. *JournalThe Americans Phytopathological Society*. 160:320-329.
- Uniprot. 2002. Taxonomy *Erwinia chrysanthemi*.  
[<http://www.uniprot.org/taxonomy/556>. Diakses 8 Mei 2017]
- USDA. 2013. Plants profile for *Ananas comosus* (Pineapple).  
[<http://plants.usda.gov/care/profile?symbol=ANCO30>. Diakses 5 Desember 2016]
- Wicaksono. 2015. *Produksi Tanaman Nanas (Ananas comosus* L. Merr). Universitas Padjajaran. Bandung. 27 halaman.

Wulandari, S. 2001. Efektifitas Bakteri Pelarut Fosfat *Pseudomonas* sp. terhadap Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) pada Tanah Podsolik Merah Kuning. *JurnalNaturIndonesia*.4(1): 21-25.

Wulandari, H., Zakiatulyaqin& Supriyanto. 2012. Isolasi dan Pengujian Bakteri Endofit dari Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.) sebagai Antagonis Terhadap Patogen Hawar Beludru (*Septobasidium* Sp.). *Jurnal Perkebunan dan Lahan Tropik*. 2(2): 23-31.