

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN
PADI (*Oryza sativa*) SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
Pectobacterium aroidearum SECARA *IN-VITRO***

(Skripsi)

Oleh

DITA MEI LIANA



**JURUSAN PROTEKSI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN PADI (*Oryza sativa*) SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI *Pectobacterium aroidearum* SECARA *IN-VITRO*

Oleh

DITA MEI LIANA

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dan mengetahui identitas bakteri endofit yang mempunyai kemampuan antagonis terbaik terhadap *P. aroidearum*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Agustus 2022-Maret 2023. Sebanyak 92 isolat diduga bakteri endofit berhasil diisolasi dari tiga varietas tanaman padi (Pajajaran, Srikandi 80, dan Inpari 32). Hasil uji antagonis menunjukkan tujuh isolat bakteri (IA1, PB123, PB121, PB12, PB11, PD21, dan PA12) memiliki kemampuan antagonis terhadap *P. aroidearum*, sementara 85 isolat lainnya tidak. Hasil uji biokimia menunjukkan empat isolat (IA1, PB123, PB121, dan PA12) bakteri gram negatif sedangkan tiga isolat (PB12, PB11 dan PD21) gram positif. Ketujuh isolat negatif pada uji hipersensitif, hipovirulen, *Arginine Dihydrolase* positif, tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C. Isolat IA1, PB12 dan PB11 tidak pendar ketika ditumbuhkan pada media King's B, tetapi PB123, PB121 dan PA12 pendar. Enam isolat positif uji *Lechitinase*, *casein*, mampu melarutkan fosfat, tapi tidak untuk isolat IA1. Semua isolat bersifat *soft rot* negatif dan O/F, kecuali isolat PB12 dan PB11 bersifat *soft rot* positif dan O. Isolat IA1, PB123, PB121, PA12, PB12 dan PB11 mampu menggunakan *D-melibiose*, *D-arabinose*, *Citric acid monohydrate*, *Glycerol*, *Mannitol*, *Ascorbic acid*, *Myo-inositol*, *Lactose*, *Sodium L-glutamat*, *Trisodium citrate dihydrate*, *M-tartrate*, *Starch*, *D-tartrate*, *D-raffinose*, dan *5-ketogluconate*. Isolat PD21 tidak mampu menggunakan 16 bahan organik yang diujikan. Isolat PA12 merupakan isolat dengan kemampuan antagonis tertinggi. Hasil analisis sekuen 16SrDNA menunjukkan bahwa isolat PA12 berada satu kelompok dengan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: antagonis, endofit padi, identifikasi, karakterisasi dan *P. aroidearum*

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN
PADI (*Oryza sativa*) SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
Pectobacterium aroidearum SECARA *IN-VITRO***

Oleh

Dita Mei Liana

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
ENDOFIT TANAMAN PADI (*Oryza
sativa*) SEBAGAI AGENS PENGENDALI
HAYATI *Pectobacterium aroidearum*
SECARA *IN-VITRO*

Nama Mahasiswa : Dita Mei Tiana

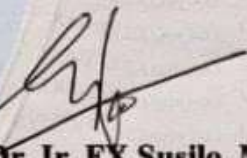
Nomor Pokok Mahasiswa : 1954191002

Jurusan : Proteksi Tanaman

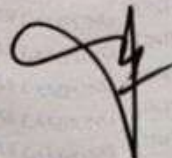
Fakultas : Pertanian




Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
NIP 198106212005011003


Prof. Dr. Ir. FX Susilo, M.Sc.
NIP 195908081983031001

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman




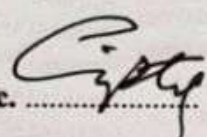
Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 198108152008122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

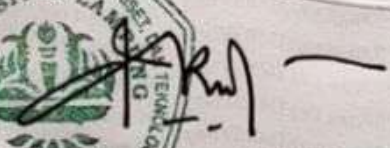
Pembimbing Utama : **Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.** 

Anggota Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. FX Susilo, M.Sc.** 

Penguji Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Cipta Ginting, M.Sc.** 

2. Dekan Fakultas Pertanian




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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **24 Agustus 2023**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“EKSPLOKASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN PADI (*Oryza sativa*) SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI *Pectobacterium aroidearum* SECARA *IN-VITRO*”** merupakan hasil saya sendiri dan 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, 24 Agustus 2023
Penulis,



Dita Mei Liana
NPM 1954191002

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Belitang III, Kabupaten Oku Timur, Provinsi Sumatera Selatan pada 13 Mei 2001. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Yunarno dan Ibu Rumini. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di TK Budi Utomo pada tahun 2007, SDN 2 Nusa Raya pada tahun 2013, SMPN 1 Belitang III pada tahun 2016, dan SMAN 1 Belitang III pada tahun 2019. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung Jurusan Proteksi Tanaman melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMM PTN-Barat).

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Sindur, Kecamatan Cambai, Kota Prabumulih dan Praktik Umum di Laboratorium Pengamatan Hama dan Penyakit Trimurjo, Lampung Tengah pada tahun 2022. Penulis pernah aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota Bidang Kewirausahaan (2021,2022). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi (2021), Perbanyakan Massal Agensia Hayati (2023), dan Bioteknologi Proteksi Tanaman (2023).

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya ini sebagai ungkapan terima kasihku untuk:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Yunarno dan Ibu Rumini yang senantiasa mendoakan dan mengiringi langkahku dengan segala daya serta tiada henti memberikan nasihat, bimbingan, dan curahan kasih sayang.
2. Kakekku Sumar (Alm.) dan Nenekku Wartinem terimakasih atas doa, perhatian dan dukungannya selama ini, serta curahan kasih sayang yang selalu engkau berikan. Semoga aku selalu bisa menjadi cucu kebanggaanmu.
3. Adikku Farel Dwi Andika terimakasih atas doa dan dukungannya selama ini, semoga kita bisa menjadi putra-putri yang selalu membanggakan orang tua.

Karya sederhana ini ku bingkiskan untuk:

1. Teman-teman seperjuangan Proteksi Tanaman 2019
2. Almamaterku Universitas Lampung sebagai tempatku menimba ilmu.

"Dan ketahuilah, sesungguhnya kemenangan itu beriringan dengan kesabaran. Jalan keluar beriringan dengan kesukaran. Dan sesudah kesulitan pasti akan datang kemudahan."

H.R. At-Tirmidzi

*"Dan bersabarlah. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar".
(QS. Al-Anfaal :46)*

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Ia mendapat pahala (dari kebaikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang dikerjakannya."

(QS. Al-Baqarah:286)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, nikmat dan limpahan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Tanaman Padi (*Oryza sativa*) sebagai Agens Pengendali Hayati *Pectobacterium aroidearum* Secara *In-Vitro***”. Skripsi ini disusun secara maksimal dengan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr. selaku pembimbing utama yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, nasehat, saran, masukan serta mengarahkan penulis dengan penuh kesabaran selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi hingga selesai.
4. Prof. Dr. Ir. FX Susilo, M.Sc. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, nasihat, masukan, serta saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Prof. Dr. Ir. Cipta Ginting, M.Sc. selaku pembahas yang telah memberikan motivasi, nasihat, masukan, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Puji Lestari S.P., M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis dari awal sampai akhir perkuliahan.

7. Kedua orang tuaku Bapak Yunarno dan Ibu Rumini yang telah memberikan banyak dorongan, kasih sayang, saran, masukan, nasihat, semangat, serta doa yang tak pernah putus sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dan dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung.
8. Kakekku Sumar (Alm.) dan nenekku Wartinem tersayang yang selalu memberi nasihat, serta doa disetiap langkah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
9. Adikku tersayang Farel Dwi Andika yang selalu memberi dukungan, doa dan selalu memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi.
10. Handoko Wijaya yang selalu sabar dan selalu memberi semangat serta dukungan kepada penulis.
11. Defi Ariza yang senantiasa berkenan mendengarkan keluh, kesah dan duka serta memberikan bantuan, dukungan, saran dan semangat kepada penulis.
12. Sobat Santuy kak Dita O, Suci, dan Salsa yang telah memberi dukungan, doa, saran, dan kebersamaan perkuliahan.
13. Teman-teman seperjuangan biotek squad 2019 Haura, Hafiz, Intan, Oka, Iis, Andreas, Hikmah, Ketut, Caca, Ani dan teman-teman yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu atas doa, dukungan, bantuan dan kebersamaan.
14. Mba Tari, Momi Yeyen, Bang Nando, Bang Sem, atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
15. Keluarga Proteksi Tanaman 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Bandar Lampung, 24 Agustus 2023

Dita Mei Liana

DAFTAR ISI

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran	2

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi	4
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Padi	4
2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Padi.....	5
2.1.3 Kendala dalam Budidaya Tanaman Padi	6
2.2 Penyakit Busuk Batang Padi	6
2.2.1 Gejala Penyakit.....	6
2.2.2 Penyebab Penyakit.....	6
2.2.3 Epidemiologi.....	7
2.2.4 Pengendalian Penyakit Busuk Batang Padi	7
2.3 Bakteri Endofit	7
2.3.1 Bakteri Endofit Tanaman Padi.....	8
2.4 Metode Identifikasi Bakteri	8

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat	9
3.2 Bahan dan Alat	9
3.3 Metode Penelitian.....	10
3.3.1 Pengambilan Sampel Tanaman Padi	10
3.3.2 Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Padi	11
3.3.3 Pemurnian dan Peremajaan.....	11
3.3.4 Uji Kemampuan Bakteri Endofit dalam Menghambat Pertumbuhan <i>P. aroidearum</i> secara <i>In Vitro</i>	11
3.3.5 Karakterisasi Bakteri Antagonis	12
3.3.5.1 Uji Gram	12
3.3.5.2 Uji Hipersensitif	13
3.3.5.3 Uji <i>Soft Rot</i>	13
3.3.5.4 Uji Hipovirulen	13
3.3.5.5 Uji Oksidatif/Fermentarif (O/F)	15
3.3.5.6 Uji <i>Casein</i>	15
3.3.5.7 Uji Fluoresensi pada Media King's B	16
3.3.5.8 Uji <i>Lecithinase</i>	16
3.3.5.9 Uji <i>Arginine Dihydrolase</i>	17

3.3.5.10 Uji Kemampuan Tumbuh pada Suhu 39 °C dan 40 °C	17
3.3.5.11 Uji Kemampuan Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik	18
3.3.6 Uji Kemampuan Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat	18
3.3.7 Identifikasi Molekuler	19
3.3.7.1 Ekstraksi DNA	20
3.3.7.2 Amplifikasi DNA dengan PCR	20
3.3.7.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR	21
3.3.7.4 Sekuensing dan Analisis Hasilnya	21

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian.....	22
4.1.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Padi.....	22
4.1.2 Uji Kemampuan Bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan <i>P. aroidearum</i> secara <i>In Vitro</i>	22
4.1.3 Karakterisasi Bakteri Antagonis	24
4.1.3.1 Uji Gram	24
4.1.3.2 Uji Hipersensitif	25
4.1.3.3 Uji <i>Soft Rot</i>	25
4.1.3.4 Uji Hipovirulen	26
4.1.3.5 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)	27
4.1.3.6 Uji <i>Casein</i>	28
4.1.3.7 Uji Fluoresensi pada Media King's B	28
4.1.3.8 Uji Lecithinase	29
4.1.3.9 Uji <i>Arginine Dihydrolase</i>	29
4.1.3.10 Uji Kemampuan Tumbuh pada Suhu 39 °C dan 40 °C	30
4.1.3.11 Uji Kemampuan Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik	30
4.1.4 Uji Kemampuan Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat	33
4.1.5 Identifikasi Molekuler	34
4.2 Pembahasan	34

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran	41

DAFTAR PUSTAKA LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Skor keparahan penyakit.....	15
2. Hasil isolasi bakteri endofit tanaman padi	22
3. Hasil uji gram isolat yang didapat.....	24
4. Hasil uji hipovirulen.....	26
5. Hasil uji O/F.....	27
6. Hasil uji kemampuan bakteri terhadap beberapa jenis bahan organik.	32
7. Hasil uji kemampuan bakteri sebagai pelarut fosfat	33
8. Luas zona bening pada uji antagonis secara <i>in vitro</i>	50
9. Data uji hipovirulen.....	50
10. Rerata nilai DSI (%) dari masing-masing isolat bakteri.	50
11. Data uji fosfat.....	51
12. Nama-nama isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman padi	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema uji kemampuan antagonisme	12
2. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri.....	19
3. Uji antagonisme secara <i>in vitro</i>	23
4. Grafik rerata luas zona bening pada uji antagonis secara <i>in vitro</i>	23
5. Hasil KOH string test bakteri antagonis busuk batang padi.....	25
6. Hasil negatif pada uji hipersensitif menggunakan daun tembakau	25
7. Hasil uji <i>soft rot</i> pada umbi kentang	26
8. Hasil uji hipovirulen.....	26
9. Hasil uji OF.....	27
10. Hasil uji <i>casein</i>	28
11. Hasil uji fluoresensi.....	28
12. Hasil uji lechitinase.....	29
13. Hasil uji arginine	29
14. Hasil uji kemampuan tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C	30
15. Hasil uji kemampuan bakteri terhadap beberapa jenis bahan organik	31
16. Hasil uji pelarut fosfat.....	33
17. Pohon filogeni hasil analisis sekuen 16SrDNA	34

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa*) adalah salah satu tanaman pangan utama bagi masyarakat Indonesia. Saat ini, pasokan beras di Indonesia selalu mengalami fluktuasi. Hal ini disebabkan oleh adanya kendala-kendala dalam produksi di pusat-pusat penghasil beras. Berbagai kendala tersebut diantaranya adalah anomali iklim seperti curah hujan yang tidak menentu dan gangguan patogen tanaman padi. Patogen yang menyerang tanaman padi yaitu *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri, *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blast, *Helminthosporium oryzae* penyebab bercak daun, *Drechslera oryzae* penyebab bercak coklat, virus tungro, kerdil rumput dan kerdil hampa (Semangun, 2008).

Kehilangan hasil pertanian di Indonesia khususnya tanaman padi yang diakibatkan oleh gangguan hama dan penyakit tanaman masih sangat tinggi dan cenderung meningkat. Pestisida saat ini masih menjadi pilihan utama untuk mengendalikan serangan hama dan patogen tanaman. Penggunaannya yang dilakukan secara terus menerus dan tidak bijaksana ternyata menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan, pengguna dan konsumen (Djojsumarto, 2000). Kematian organisme non-target, pencemaran lingkungan, resistensi hama dan patogen tanaman terhadap jenis pestisida tertentu, keracunan, dan residu bahan kimia berbahaya pada produk pertanian merupakan contoh dampak negatif dari penggunaan pestisida (Djojsumarto, 2000). Untuk mengurangi dampak negatif dari penggunaan pestisida, maka perlu dicari alternatif pengendalian yang aman dan ramah lingkungan. Salah satunya adalah dengan pengendalian hayati.

Pengendalian hayati merupakan teknik pengendalian hama dan patogen tanaman yang didasarkan pada pemanfaatan mikroba antagonis. Mikroba antagonis merupakan jasad renik yang diperoleh dari alam baik berupa bakteri, cendawan, actinomycetes, maupun virus yang dapat menekan dan menghambat organisme pengganggu tanaman (OPT) (Tombe, 2002 dalam Hanudin dan Marwanto, 2012). Mekanisme penekanan perkembangan penyakit dapat berupa antibiosis. Antibiosis merupakan mekanisme antagonis yang dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik (Haggag and Mohamed, 2007). Pengendalian hayati dengan memanfaatkan bakteri endofit banyak diteliti pada saat ini. Bakteri endofit dilaporkan dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen tanaman (Balosi dkk., 2014).

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dan berasosiasi dengan jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tanaman tersebut. Keberadaan bakteri-bakteri endofit di dalam jaringan tanaman selain berperan dalam perbaikan pertumbuhan tanaman (*plant growth promotion*), bakteri endofit diduga juga mampu meningkatkan sistem pertahanan tanaman terhadap gangguan penyakit tanaman (Backman and Sikora, 2008). Namun begitu, hingga saat ini belum ada laporan tentang keberadaan dan kemampuan bakteri endofit tanaman padi yang berperan sebagai antagonis *P. aroidearum*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan bakteri endofit yang mempunyai kemampuan antagonis terhadap *P. aroidearum*.
2. Mengetahui identitas bakteri endofit yang mempunyai kemampuan antagonis terbesar terhadap *P. aroidearum*.

1.3 Kerangka Pemikiran

Pectobacterium sp. yang sebelumnya dikenal dengan nama Erwinia merupakan patogen tanaman penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman pangan dan

tanaman hias. *Pectobacterium* sp. dilaporkan tersebar di seluruh dunia, dengan kisaran inang yang luas (Ma *et al.*, 2007; Toth *et al.*, 2021). *Pectobacterium* spp. dilaporkan dapat menyerang berbagai jenis tanaman pangan seperti padi, konjak; buah-buahan termasuk melon, nanas, mulberi; sayuran seperti sawi putih, kentang, brokoli, bawang daun, kubis, wortel, seledri; dan tanaman hias seperti dollar dan tsukena (Goto, 1965; Ma *et al.*, 2007; Kaneshiro *et al.*, 2008; Suharjo, 2013).

Penyakit busuk lunak merupakan salah satu kendala dalam peningkatan produksi tanaman pangan seperti padi dan jagung baik di dalam maupun di luar negeri (Parent *et al.*, 1996; Hanudin dan Suhardi, 2009). Gejala akibat serangan patogen ini pada umumnya busuk lunak pada jaringan tanaman yang terinfeksi. Hingga saat ini, pengendalian penyakit busuk lunak masih bertumpu pada penggunaan bakterisida. Penggunaan pestisida yang secara tidak bijaksana dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan, pengguna, dan konsumen (Djojsumarto, 2000). Kematian organisme non-target, pencemaran lingkungan, resistensi hama dan patogen tanaman terhadap jenis pestisida tertentu, keracunan, dan residu bahan kimia berbahaya. Dilihat dari dampak negatif penggunaan pestisida, maka perlu dilakukan pengendalian dengan memanfaatkan agens hayati.

Beberapa mikroba antagonis seperti *Pseudomonas brassicacearum* PP1-210F dan PA1G7 dan *Bacillus simplex* BA2H3 dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Pectobacterium* secara *in-vitro* (Leventors *et al.*, 2008; Ortet *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2012; Schwarts *et al.*, 2013). Beberapa isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman padi dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan miselia beberapa patogen pada tanaman padi seperti *Fusarium oxysporum*, *P. oryzae*, dan *Rhizoctonia solani* secara *in-vitro* (Munif *et al.*, 2012). Menurut Habazar dan Yaherwandi (2006), bakteri endofit seperti *B. subtilis* dan *P. fluorescens* telah banyak digunakan sebagai agens pengendali hayati patogen tumbuhan, karena kedua bakteri tersebut mampu menghasilkan senyawa antimikroba dan ketahanan terhadap serangan patogen tumbuhan. *B. subtilis* mampu menekan perkembangan patogen tular tanah seperti *Erwinia* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., dan *Aspergillus* sp. (Muis, 2007).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

Tanaman padi adalah tanaman yang dibudidayakan secara umum untuk memenuhi kebutuhan masyarakat Indonesia. Pemenuhan kebutuhan yang semakin meningkat menyebabkan tingginya permintaan berbanding terbalik dengan kondisi lingkungan penanaman. Padi memiliki beberapa varietas dan banyak ditanam di Asia kecuali di Korea dan Jepang (Silitonga, 2010). Proses budidaya tanaman padi membutuhkan air 150 mm per bulan, atau dengan kata lain membutuhkan curah hujan > 200 mm/bulan, tumbuh optimum pada suhu 15 -30 °C, kelembapan 40 - 60%, dan ketinggian 0-1500 mdpl (Supartha dkk., 2012).

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Padi

Klasifikasi padi dalam sistematika tumbuhan menurut Purwono dan Purnamawati (2007) :

Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Poales
Family	: Graminae
Genus	: <i>Oryza</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa</i>

Padi termasuk golongan tumbuhan Graminae dengan batang yang tersusun dari beberapa ruas. Ruas-ruas itu merupakan bubung kosong yang pada kedua ujungnya ditutup oleh buku. Ruas-ruas tersebut memiliki panjang yang tidak sama. Pada buku bagian bawah dari ruas, tumbuh daun pelepah yang membalut ruas sampai buku bagian atas. Tepat pada buku bagian atas, ujung dari daun

pelepah memperlihatkan percabangan di mana cabang yang terpendek menjadi lidah daun dan bagian yang terpanjang dan terbesar menjadi daun kelopak yang memiliki bagian telinga daun pada sebelah kiri dan kanan (Tjitrosoepomo, 1998).

Daun tanaman padi muncul pada buku-buku dengan susunan berseling dan berbentuk lanset (sempit memanjang) serta memiliki pelepah daun. Tiap buku tumbuh satu daun yang terdiri dari pelepah daun, helai daun, telinga daun dan lidah daun (Purwono dan Purnamawati, 2007). Daun terpanjang tanaman padi berada pada daun keempat dari daun bendera.

Batang tanaman padi berbentuk bulat, berongga dan beruas. Antara ruas yang satu dengan yang lain dipisahkan oleh satu buku. Ruas batang tanaman padi sangat pendek dan rapat pada awal pertumbuhan dan akan memanjang ketika memasuki fase produktif. Batang sekunder tumbuh pada bagian buku paling bawah dan batang sekunder akan menjadi batang tersier (Meiliza, 2006).

2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Padi

Tanaman padi tumbuh di daerah dengan iklim tropis dan subtropis dengan garis lintang 450 lintang utara dan 450 lintang selatan dengan kondisi panas dan kelembapan yang tinggi. Tanaman padi menghendaki sinar matahari penuh selama 12 jam. Proses budidaya tanaman padi membutuhkan air 150 mm per bulan, atau dengan kata lain membutuhkan curah hujan > 200 mm/bulan, tumbuh optimum pada suhu 15-30 °C, kelembapan 40-60%, dan ketinggian 0-1500 mdpl (Supartha dkk., 2012).

Tanaman padi dapat tumbuh dengan baik di daerah yang berhawa panas dan banyak mengandung uap air dengan curah hujan rata-rata 200 mm perbulan atau lebih, dengan distribusi selama 4 bulan. Curah hujan yang dikehendaki sekitar 1500-2000 mm pertahun dengan ketinggian tempat berkisar antara 0-1500 m dpl. Tanah yang baik untuk pertumbuhan tanaman padi adalah tanah sawah dengan kandungan fraksi pasir, debu dan lempung dengan perbandingan tertentu dan diperlukan air dalam jumlah yang cukup dengan ketebalan lapisan atasnya sekitar 18-22 cm dengan pH 4-7 (Surowinoto, 1982).

2.1.3 Kendala dalam Budidaya Tanaman Padi

Kendala utama dalam budidaya tanaman padi yaitu gangguan hama dan penyakit tanaman. Penyakit penting pada tanaman padi antara lain: hawar daun bakteri (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*), penyakit tungro (virus tungro), bercak daun pyricularia (*Pyricularia grisea*), busuk batang (*Helminthosporium sigmoideum*), hawar pelepah daun (*Rhizoctonia solani* Kuhn), kerdil hampa (*Reget stunt*) dan kerdil rumput (*Grassy stunt*) (Semangun, 2008). Hama-hama yang banyak ditemui menyerang tanaman padi sawah antara lain penggerek batang padi (*Sesamia inferens*, *Chilo suppressalis*, *Tryporyza innotata*, *Nymphula depunctalis* dan *Scircophaga incertulas*), hama wereng coklat dan hijau (*Nilaparvata lugens* dan *Nepotetix apicalis*), walang sangit (*Leptocorisa acuta*), hama lembing hijau (*Nezara viridula*), keong mas (*Pomacea canaliculata*), tikus (*Ratus-ratus* sp.) dan hama unggas (burung) (Kalshoven, 1981; Pathak, 1977).

2.2 Penyakit Busuk Batang Padi

2.2.1 Gejala Penyakit

Penyakit busuk batang padi yang disebabkan oleh *P. aroidearum* memiliki beberapa gejala. Gejala dari serangan patogen ini umumnya busuk lunak pada jaringan yang terinfeksi, berlendir, dan terdapat bercak coklat kehitaman disekitar bagian tanaman yang terinfeksi (Goto, 1992). Gejala lain penyakit ini menyebabkan terjadinya kebusukan pada batang sehingga batang tanaman padi mudah roboh atau rebah.

2.2.2 Penyebab Penyakit

Pada umumnya penyakit busuk lunak pada tanaman disebabkan oleh kelompok bakteri gram negatif dari genus *Pectobacterium* seperti *Pectobacterium aroidearum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) dan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (*P. carotovorum* subsp. *atrosepticum* syn. *E. carotovora* subsp. *atroseptica*) atau *Dickeya dadantii* (*D. dadantii* syn. *E. chrysanthemi*) (Samson et al., 2005).

2.2.3 Epidemiologi

Patogen ini mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat sehingga menyebabkan busuk lunak pada tanaman. Bakteri ini menyerang jaringan tanaman pada umumnya melalui pelukaan dan juga dapat melalui lubang alami (Joko *et al.*, 2011). Penyakit busuk batang berkembang sangat baik pada kelembapan tinggi dan suhu sekitar 30 °C.

2.2.4 Pengendalian Penyakit Busuk Batang Padi

Penyakit busuk lunak merupakan salah satu kendala dalam peningkatan produksi tanaman pangan seperti padi dan jagung baik di dalam maupun diluar negeri (Parent *et al.*, 1996; Hanudin dan Suhardi, 2009). Gejala akibat serangan patogen *Pectobacterium* umumnya busuk lunak pada jaringan tanaman yang terinfeksi. Hingga saat ini, pengendalian penyakit busuk lunak masih bertumpu dengan penggunaan bakterisida. Dilihat dari dampak penggunaan pestisida yang tidak bijaksana, maka perlu dilakukan pengendalian dengan memanfaatkan agensia hayati khususnya bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap patogen penyebab penyakit busuk lunak *Pectobacterium aroidearum*.

2.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri saprofit yang hidup dan berasosiasi dengan jaringan tanaman sehat tanpa menimbulkan gejala penyakit (Hallmann *et al.*, 1997; Backman and Sikora, 2008). Beberapa bakteri endofit dapat menghasilkan hormon perangsang pertumbuhan tanaman, salah satunya adalah IAA (Indole Acetic Acid) atau dikenal dengan auksin. Auksin berperan memacu pertumbuhan tanaman dan biasanya ditemukan pada jaringan meristem (Spaepen *et al.*, 2007). Bakteri endofit selain berperan dalam peningkatan pertumbuhan tanaman, juga mampu memobilisasi fosfat dan berperan sebagai pengendali hayati (Hallmann, 2001 dalam Ramadhan, 2017).

2.3.1 Bakteri Endofit Tanaman Padi

Beberapa bakteri endofit tanaman padi telah berhasil diisolasi, antara lain *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Mycobacterium*, *Enterobacter*, *Chryseobacterium* (Mano *et al.*, 2007). Bakteri endofit tersebut dilaporkan mampu berperan sebagai agen biokontrol, menekan perkembangan patogen tanaman, dan beberapa jenis nematoda melalui mekanisme langsung maupun tidak langsung.

Bakteri endofit yang berasal dari akar tanaman padi (*Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus thuringiensis*) dilaporkan mampu menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman seperti asam indol asetat, dan mampu mengikat nitrogen yang dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman (Mbai *et al.*, 2013). Hasil penelitian Chung *et al.* (2015) juga menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari akar padi sawah mampu menghambat pertumbuhan miselia beberapa patogen pada tanaman padi seperti *Fusarium oxysporum*, *P. oryzae*, dan *Rhizoctonia solani* secara *in vitro*.

2.4 Metode Identifikasi Bakteri

Salah satu langkah awal untuk menentukan identitas suatu bakteri yaitu dengan mengetahui karakteristik biokimia bakteri tersebut dengan melakukan serangkaian uji biokimia (Schaad *et al.*, 2001 dalam Suharjo dkk., 2022). Uji biokimia merupakan metode standar untuk identifikasi suatu bakteri tumbuhan tersebut termasuk ke dalam bakteri patogen atau bukan. Uji biokimia yang dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri antara lain uji gram, uji hipersensitif, uji *soft rot*, uji hipovirulen, uji O/F, uji *arginine dihydrolase*, dan uji kemampuan tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2022 hingga Maret 2023. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Jurusan Proteksi Tanaman dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian ini yang pertama yaitu eksplorasi bakteri endofit yang berasal dari tanaman padi. Langkah yang kedua yaitu setelah diperoleh bakteri endofit dari tanaman padi, kemudian dilakukan uji antagonis untuk mengetahui kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *P. aroidearum*. Langkah selanjutnya dilakukan beberapa uji pada bakteri yang bersifat antagonis terhadap *P. aroidearum*. Beberapa uji yang dilakukan yaitu uji karakterisasi bakteri, uji pelarut fosfat, dan identifikasi molekuler.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat untuk isolasi bakteri sampai uji antagonis, uji karakterisasi bakteri, dan identifikasi molekuler. Alat yang digunakan untuk isolasi bakteri sampai uji antagonis yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), bunsen, tabung *ependorf* 1,5 mL, jarum ose, pinset, scalpel, gunting, cawan petri, mikropipet, dan erlemeyer. Alat yang digunakan untuk uji karakterisasi bakteri yaitu tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, jarum ent, *Laminar Air Flow* (LAF), rotamixer, timbangan elektrik, autoklaf, mikropipet, kertas merang, *water bath*, pinset, plastik tahan panas, nampan, spidol, pisau, penggaris, plastik wrapping, tissue, aluminium foil, karet gelang, korek api, kapas, dan alat tulis. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler yaitu cetakan gel 20x16x1 cm³, *freezer*, mikropipet 0 -

1000 μ L, pipet tip 0 - 1000 μ L, tabung *eppendorf* 100 μ L, *microcentrifuge*, mesin PCR, alat elektroforesis, dan *gel documentation system*.

Beberapa bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu bahan untuk isolasi bakteri sampai uji antagonis, uji karakterisasi bakteri, dan identifikasi molekuler. Bahan yang digunakan untuk isolasi sampai uji antagonis yaitu tanaman padi, alkohol 70%, air steril, media *Yest Pepton Agar* (YPA), dan media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Bahan yang digunakan untuk uji karakterisasi bakteri yaitu minyak parafin, HCl, KOH 3%, 5% NaCl, alkohol 70%, sodium hypochlorite 2%, Oksidatif/Fermentatif (O/F), media Skim Milk, media Ayer's, media *Yeast Peptone* (YP), media moeller, media King's B, media YP Broth, media pikovskaya, *Water Agar* (WA), akuades, benih mentimun, kentang, tanaman padi, tembakau, egg yolk, Bromothymol Blue (BTB) 2 %, *Mannitol*, *Ascorbic acid*, *M-tartrate*, *Starch*, *Myo-inositol*, *D-melibiose*, *D-tartrate*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *Lactose*, *Inulin*, *D-arabinose*, *Cisaconitic acid*, *Citric acid monohydrate*, *Trisodium citrate dihydrate*, dan *Sodium L-glutamat*. Bahan yang digunakan untuk identifikasi molekuler yaitu *ethidium bromide* (EtBr), *MyTaqTM Red Mix*, DNA primer (fD1 dan rP2), marker DNA *ladder*, *loading dye*, buffer TE, agarose, dan air steril.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel Tanaman Padi

Pengambilan sampel tanaman padi dilakukan pada bulan Agustus 2022. Varietas tanaman padi yang dipakai yaitu Inpari 32, Srikandi 80, dan Pajajaran. Sampel (tanaman padi sehat) diambil sebanyak satu rumpun untuk setiap varietas tanaman padi secara acak dari lahan persawahan di Desa Sukadamai, Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan, dengan titik koordinat -5,2416090, 105,3030000. Kemudian sampel dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk diisolasi setiap bagiannya.

3.3.2 Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Padi

Isolasi dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan cara disiapkan 18 tabung *ependorf* 1,5 mL yang berisi 1 mL akuades steril untuk setiap bagian tanaman. Tanaman padi yang diisolasi yaitu akar, batang, dan daun. Tanaman padi yang telah diambil dari lahan pertanaman padi di Desa Sukadamai dicuci bagian akarnya menggunakan air hingga bersih dari tanah yang menempel. Setiap bagian tanaman padi (akar, batang, daun) disterilisasi menggunakan alkohol. Alkohol disemprotkan pada setiap bagian tanaman dan didiamkan selama 1 menit. Setiap bagian tanaman yang sudah disterilisasi menggunakan alkohol kemudian dipotong kecil-kecil (± 5 mm) menggunakan gunting atau skapel steril. Potongan tersebut selanjutnya dibilas kembali dengan menyelupkan ke dalam air steril. Setiap bagian dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* yang berisi air steril dengan dua kali ulangan lalu dihaluskan dengan menekan bagian tanaman menggunakan pinset sampai hancur dan didiamkan selama 5 menit. Setelah 5 menit, diambil satu ose suspensi dan digoreskan di atas media *Yeast Pepton Agar* (YPA).

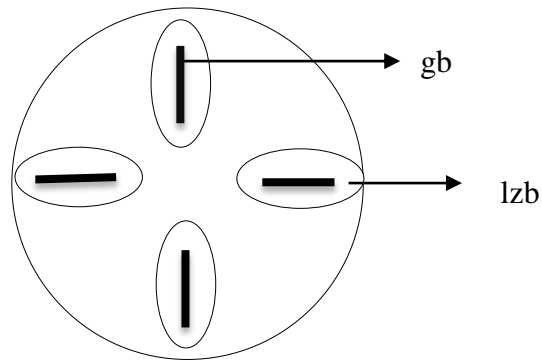
3.3.3 Pemurnian dan Peremajaan

Pengamatan dilakukan terhadap bentuk dan warna koloni. Setiap koloni dengan bentuk dan warna yang sama diambil satu koloni (sebagai representasi kelompok bakteri tersebut) dan digores ke dalam tabung reaksi berisi media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Isolat tersebut diremajakan pada media yang sama. Sebelum dilakukan pengujian isolat harus diremajakan 1 hari sebelumnya pada media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA).

3.3.4 Uji Kemampuan Bakteri Endofit dalam Menghambat Pertumbuhan *P. aroidearum* secara *In Vitro*

Pengujian ini dilakukan menggunakan ± 20 mL media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA) dengan suhu 40 °C yang telah ditambahkan 100 μ L suspensi bakteri *P. aroidearum* yang kemudian dituangkan ke dalam cawan petri (Gambar 1). Setelah media padat, bakteri antagonis digoreskan pada cawan petri. Pengamatan terhadap pertumbuhan zona bening dilakukan setiap hari selama

tujuh hari dengan menggambar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri menggunakan plastik transparan dan spidol kemudian luas zona bening dihitung menggunakan kertas *milimeterblock*. Uji antagonis dikelompokkan berdasarkan besarnya nilai penghambatan (Saraswati, 2021).



Gambar 1. Skema uji kemampuan antagonisme bakteri. Goresan bakteri (gb), luas zona bening (lzb).

3.3.5 Karakterisasi Bakteri

3.3.5.1 Uji Gram

Uji gram dilakukan dengan metode Ryu untuk mengelompokkan bakteri endofit ke dalam kelompok gram positif ataupun gram negatif (Anasari, 2022).

Pengujian dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes larutan KOH 3% diatas kaca preparat, kemudian diambil satu ose biakan bakteri yang berumur 24 jam yang ditumbuhkan di media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA) miring dicampurkan dan setelah tercampur merata kemudian diangkat ose secara perlahan. Apabila terbentuk benang lendir yang tidak terputus sepanjang kurang lebih 1 cm, maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif, dan apabila tidak terbentuk lendir maka bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri gram positif (Suharjo dkk., 2022).

3.3.5.2 Uji Hipersensitif

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apa respon tanaman tembakau setelah diinokulasi bakteri endofit tanaman padi. Uji dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dari media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA) dan disuspensikan menggunakan 1 mL air steril setelah itu dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. Selanjutnya suspensi bakteri endofit dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi bakteri tersebut diambil sebanyak 300 μ L dan disuntikkan pada daun tembakau tepat diantara kedua epidermis daun tembakau menggunakan jarum suntik. Bagian area tepi suntikan diberi label nama dan diinkubasi selama 24-48 jam. Jika setelah diinkubasi terdapat gejala nekrotik pada area inokulasi maka reaksi ini menunjukkan reaksi positif, sedangkan jika tidak terdapat gejala nekrotik maka reaksi ini menunjukkan reaksi negatif (Baroroh dkk., 2014).

3.3.5.3 Uji *Soft rot*

Uji *soft rot* dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri endofit tanaman padi yang digunakan termasuk ke dalam bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Pengujian ini menggunakan umbi kentang dengan cara mencucinya sampai bersih selanjutnya umbi kentang dipotong dengan ketebalan \pm 1 cm. Umbi kentang yang telah dipotong kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 – 45 menit. Setelah itu, irisan umbi kentang ditiriskan di atas tissue kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Sebanyak 1 ose biakan murni (dari agar miring) diambil dan digoreskan pada tengah umbi kentang. Untuk menjaga kelembapan, tambahkan 1 mL akuades steril dipinggir cawan petri dan diinkubasi di suhu ruang. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah inokulasi. Suatu bakteri dikatakan *soft rot* positif apabila bakteri tersebut menyebabkan busuk lunak pada umbi kentang yang telah diinokulasikan (Suharjo dkk., 2022).

3.3.5.4 Uji Hipovirulen

Uji ini menggunakan mentimun sebagai tanaman indikator. Benih mentimun direndam di dalam air hangat (\pm 45 °C) selama 30 menit, setelah itu direndam

dalam alkohol selama 10 detik, direndam dalam air klorok 0,3% selama 10 detik, dan dicuci tiga kali menggunakan akuades. Cara membuat air klorok 0,3% yaitu dengan mencampurkan air steril dan larutan klorok dengan kandungan klorok sebanyak 0,3% dari jumlah air steril. Benih dikecambahkan di atas kertas merang lembap dalam nampan. Nampan ditutup menggunakan wrap selama dua hari. Setelah dua hari, empat benih dipindahkan ke dalam cawan petri berisi media *water agar* untuk diinkubasi dalam suhu kamar selama satu hari. Cara membuat media *water agar* adalah dengan cara memasukkan 2 g agar dan 500 mL air steril ke dalam *erlenmeyer* lalu disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

Isolat bakteri endofit tanaman padi yang digunakan untuk uji hipovirulen berumur 24 jam. Suspensi dibuat dengan memasukkan 1 mL air steril ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL, lalu sebanyak satu ose isolat bakteri endofit diambil dan dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi tersebut diambil sebanyak 300 µL, diteteskan di tengah-tengah hipokotil bibit mentimun berumur tiga hari. Setiap isolat diulang sebanyak tiga kali. Pengamatan dilakukan setiap hari selama empat belas hari terhadap gejala nekrotik yang muncul. Pengamatan gejala bertujuan untuk menentukan Indeks Keparahan Penyakit (*Disease Severity Index/DSI*). Isolat dikatakan hipovirulen jika nilai $DSI < 2$. Rumus *Disease Severity Index* (DSI) yang digunakan adalah sebagai berikut (Supriyanto, 2009):

$$DSI = \frac{\sum N}{Z}$$

dengan:

DSI = Indeks Keparahan Penyakit;

N = Skor keparahan penyakit pada masing-masing sampel (Tabel 1);

Z = Jumlah sampel yang digunakan.

Tabel 1. Skor keparahan penyakit

Skor	Gejala
0	sehat, tidak ada infeksi pada hipokotil
1	satu atau dua bercak coklat muda < 0,25 cm
2	bercak coklat muda < 0,5 cm dan area kebasahan < 10% pada hipokotil
3	bercak coklat muda sampai tua > 1 cm yang kemudian bergabung dengan bercak lainnya. Daerah kebasahan $10% < x < 100%$ pada hipokotil (daun belum layu dan hipokotil masih putih)
4	hipokotil kolap, daun layu, dan bibit mati.

Sumber: Supriyanto (2009).

3.3.5.5 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

Uji O/F bertujuan untuk mengetahui sifat isolat bakteri termasuk aerob atau anaerob. Pengujian dilakukan menggunakan media O/F yang dibuat dengan cara memasukkan 0,938 g O/F Basal Medium, 1 g glukosa, dan 100 mL akuades ke dalam erlenmeyer. Campuran dipanaskan menggunakan *microwave*. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 4 mL kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil menggunakan jarum preparat kemudian dimasukkan ke dalam media O/F sampai dasar tabung, diulang dua kali. Salah satu tabung ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 mL. Pengamatan dilakukan selama tujuh sampai empat belas hari. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna media O/F. Apabila warna hijau berubah menjadi kuning terjadi pada media yang ditambah dan tidak ditambah minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya, apabila terjadi perubahan warna hanya pada media yang tidak ditambah minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat oksidatif (Tito, 2014 dalam Prasajo, 2022).

3.3.5.6 Uji Casein

Uji casein bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein. Uji casein dilakukan menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA). Cara

membuatnya adalah dengan mencampur 5,1 g bubuk Skim Milk Agar (SMA), 1,5 g agar batang, dan 100 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam, selanjutnya digoreskan pada cawan petri yang berisi media *Skim Milk Agar* (SM Agar). Setelah itu bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C selama 24-48 jam. Apabila terdapat zona bening disekitar goresan bakteri maka reaksi ini menunjukkan reaksi positif, sedangkan jika tidak terdapat zona bening maka reaksi ini menunjukkan reaksi negatif (Fardiaz, 1992 dalam Prasajo, 2022).

3.3.5.7 Uji Fluoresensi pada Media King's B

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan fluoresen. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media King's B. Cara membuat media adalah dengan mencampurkan 20 g peptone, 1,5 g K₂HPO₄, 1,5 g MgSO₄·7H₂O, 15 mL *glycerol*, 15 g agar, dan 1000 mL akuades. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf. Setelah media King's B disiapkan lalu isolat bakteri pada media PPGA yang berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose menggunakan jarum ose lalu digoreskan secara zig-zag pada media King's B dan inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28 °C. Apabila bakteri memproduksi pigmen fluoresen maka reaksi akan terlihat ketika biakan bakteri disinari ultra violet (UV) menghasilkan warna hijau berpendar (Schaad *et al.*, 2001 dalam Prasajo, 2022).

3.3.5.8 Uji Lecithinase

Uji lecithinase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzim lecithinase. Pengujian ini menggunakan media berbahan dasar YPA dan *egg yolk*. Bahan yang digunakan dalam pembuatan media YPA antara lain 10 g pepton, 5 g yeast, 20 g agar, dan 1000 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan cara menuangkan 1 mL *egg yolk* (kuning telur) ke dalam cawan petri. Setelah itu 10 mL media YPA dituangkan ke dalam cawan petri dan digoyang perlahan agar *egg yolk* tercampur merata dengan media. Setelah padat, sebanyak satu ose biakan bakteri berumur 24 jam digoreskan pada

media dan diinkubasi selama tujuh hari pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan setiap hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya daerah putih disekitar bakteri (Suharjo dkk., 2022).

3.3.5.9 Uji *Arginine Dihydrolase*

Uji arginine dihydrolase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim *arginine dihydrolase* yang akan memecah arginine sehingga dapat digunakan bakteri sebagai sumber karbon dan sebagai energi untuk pertumbuhannya. Pengujian dilakukan menggunakan media moeller 21 g dan 1000 mL akuades dan dihomogenkan. Setelah itu media tersebut dipanaskan menggunakan microwave dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 mL dan selanjutnya disterilitasi menggunakan autoklaf. Pengujian dilakukan dengan mengambil isolat bakteri yang berumur 24 jam menggunakan jarum preparat dan ditusukkan ke media moeller sampai dasar tabung. Lalu dua tabung dengan isolat bakteri yang sama salah satunya diberi minyak parafin steril dan salah satunya tidak diberi minyak parafin. Selanjutnya di inkubasi pada suhu 28 °C dan diamati selama tujuh sampai empat belas hari. Pengamatan dilakukan untuk melihat perubahan warna yang terjadi, apabila terjadi perubahan warna media dari merah kecoklatan menjadi warna ungu maka menunjukkan reaksi positif, sedangkan apabila terjadi perubahan warna media menjadi warna kuning maka menunjukkan reaksi negatif (Suharjo dkk., 2022).

3.3.5.10 Uji Kemampuan Tumbuh pada Suhu 39 °C dan 40 °C

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri apakah dapat tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C. Pengujian dilakukan menggunakan media Yeast Pepton (YP) dengan bahan yang digunakan antara lain 10 g pepton, 5 g yeast, dan 1000 mL akuades. Semua bahan dicampur hingga homogen, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing- masing tabung berisi 5 ml media dan diautoklaf pada suhu 121 °C selama 10 menit. Diambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan disuspensikan ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang telah berisi 1 mL air steril. Selanjutnya suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan

rotamixer. Setelah itu suspensi diambil menggunakan jarum preparat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media Yeast Pepton (YP). Kemudian bakteri di inkubasi di dalam waterbath secara bergantian pada suhu 39 °C dan 40 °C selama tujuh hari. Apabila setelah dilakukan inkubasi terjadi perubahan warna media dari warna kuning keruh menjadi putih keruh maka menunjukkan reaksi positif (Suharjo dkk., 2022).

3.3.5.11 Uji Kemampuan Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan dalam uji ini adalah media Ayer's, cara membuatnya dengan mencampurkan 1g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,2 g KCl, 0,2 g $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2% Bromothymol Blue (BTB) dan 1000 mL akuades. Beberapa bahan organik yang digunakan untuk uji yaitu *Mannitol*, *Ascorbic acid*, *M-tartrate*, *Starch*, *Myo-inositol*, *D-melibiose*, *D-tartrate*, *D-raffinose*, *S-ketogluconate*, *Lactose*, *Inulin*, *D-arabinose*, *Sodium L-glutamat*, *Citric acid monohydrate*, *Trisodium citrate dihydrate*, dan *Glycerol* dimasukkan ke dalam botol kaca (volume 100 mL) berisi media Ayer's. Media disterilkan menggunakan autoklaf. Satu ose isolat bakteri diambil dari media miring PPGA, disuspensi dengan 0,5 mL air steril dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL dan dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Jarum preparat dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, diinokulasikan pada media Ayer's dengan cara jarum preparat ditusukkan sampai dasar tabung, diinkubasi pada suhu 28 °C selama dua puluh satu hari. Pengamatan dilakukan pada dua, empat, tujuh, empat belas dan dua puluh satu hari terhadap perubahan warna media. Jika terjadi perubahan warna media dari warna asal, artinya bakteri mampu menggunakan bahan organik tersebut (Saraswati, 2021).

3.3.6 Uji Kemampuan Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat

Pengujian ini menggunakan media pikovskaya. Cara membuat media pikovskaya adalah dengan mencampurkan 31,3 g pikovskaya bubuk, 2 g agar batang, dan 1000 mL akuades di dalam erlenmeyer. Mulut erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Sterilisasi media

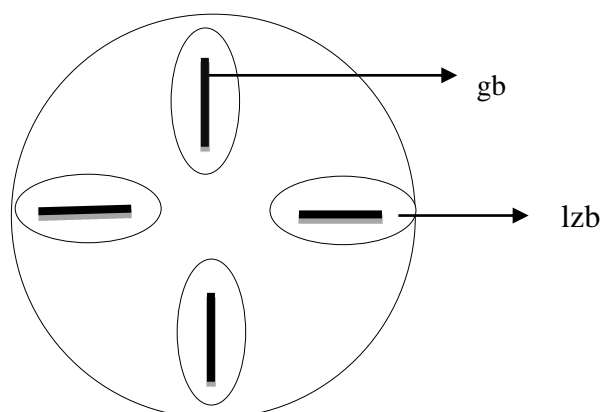
menggunakan autoklaf. Media dituang ke dalam cawan petri (Gambar 2). Setelah media siap, bakteri diinokulasikan dengan cara menggoreskan satu ose bakteri pada cawan yang telah berisi media. Pengamatan dilakukan selama tujuh hari dengan menghitung rerata luas zona bening. Luasan zona bening dihitung dengan cara menggambar zona bening tersebut pada plastik transparan, kemudian dihitung luasannya menggunakan milimeter blok. Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat dapat diketahui dengan menghitung nilai indeks pelarut fosfat. Nilai indeks pelarut fosfat dihitung dengan rumus Karpagan and Nagalakshmi (2014) sebagai berikut:

$$\text{Indeks Pelarut Fosfat} = \frac{gb + lzb}{gb}$$

gb = Goresan bakteri;

lzb = Luas zona bening

Nilai indeks pelarut fosfat (Matos *et al.*, 2017): >3 = Tinggi; >2-3 = Sedang; >1-2 = Rendah; >0-1 = Sangat Rendah.



Gambar 2. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri. Goresan bakteri (gb), luas zona bening (lzb).

3.3.7 Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan terhadap isolat bakteri terpilih yang memiliki kemampuan antagonis terbesar. Identifikasi molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis, visualisasi hasil PCR, sekuensing DNA, dan analisis hasil (Suharjo, 2013 dalam Saraswati, 2021).

3.3.7.1. Ekstraksi DNA

Bakteri berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose dari media PPGA dan dipindahkan ke dalam tabung yang telah berisi media *Yeast Peptone Broth*, kemudian diinkubasi selama 24 jam di dalam shaker dengan kecepatan 180 rpm. Setelah itu media *Yeast Peptone Broth* dipindah ke dalam tabung mikrosentrifus kemudian di sentrifus pada 14.000 rpm selama 1 menit dan diulang hingga media habis. Setelah itu ditambahkan 567 μL TE menggunakan mikropipet, lalu ditambah 30 μL SDS 10 % + 3 μL proteinase K dan dihomogenkan. Tube yang telah berisi bakteri diinkubasi di dalam waterbath pada suhu 37 °C selama 1 jam lalu ditambah 100 μL NaCl 5M dan dihomogenkan secara perlahan. Selanjutnya ditambah 80 μL CTAB 2% dan inkubasi kembali pada suhu 65 °C selama 10 menit di dalam waterbath, setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 720 μL Chloroform Isoamyl Alcohol (24:1) dan dihomogenkan menggunakan tangan lalu disentrifus 14.000 rpm selama 5 menit.

Diambil sebanyak 600 μL supernatan dan dipindah ke dalam tube 1,5 mL kemudian ditambah Phenol Chloroform Isoamylalcohol (PCI) (25:24:1) dengan volume sama dengan supernatan lalu dihomogenkan menggunakan tangan dan disentrifus 14.000 rpm selama 5 menit, setelah disentrifus supernatan diambil sebanyak 400 μL dan dipindah ke dalam tube 1,5 mL, ditambah isopropanol 60% pada volume yang sama dengan supernatan lalu dihomogenkan dan diinkubasi dalam refrigerator selama 10 menit. Hasil dari inkubasi disentrifuse 14.000 rpm selama 15 menit. Setelah selesai supernatan dibuang kemudian ditambah ethanol 70% dingin sebanyak 400 μL , disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah itu ethanol dibuang dan pelet diinkubasi selama satu hari pada suhu ruang, setelah kering tube yang berisi pelet ditambahkan 20 μL TE. Untuk mengidentifikasi ada tidak DNA dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digi-doc-imaging-system*.

3.7.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan mesin PCR dengan memasukkan Master Mix (Red Mix) sebanyak 12,5 μL ke dalam tabung *epENDORF* 100 μL ,

ditambahkan primer FD1 dan RP2 dengan masing-masing sebanyak 1 μL , larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 μL dan akuades steril 9,5 μL . Larutan yang telah dibuat selanjutnya diamplifikasi menggunakan mesin PCR. Ada lima tahapan dalam menggunakan PCR yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Isiasi merupakan tahapan yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit dan hanya satu kali siklus, dilanjutkan dengan tiga puluh siklus tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 1 menit, selanjutnya annealing pada suhu 58 °C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit dan yang terakhir elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit dalam satu kali siklus (Suharjo *et al.*, 2014 dalam Prasojo, 2022).

3.3.7.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Gel elektroforesis disiapkan dengan membuat gel agarose 0,5% yang sudah ditambah 1 μL *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/mL), dituang pada cetakan dengan sisir. Setelah padat dimasukkan ke dalam alat elektroforesis berisi larutan TBE, pada sumur pertama dimasukkan 3 μL Marker DNA *ladder* dan pada sumur kedua dan seterusnya dimasukkan hasil PCR. Setiap sumur diisi 3 μL hasil PCR yang telah dicampur dengan loading dye, kemudian dielektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 50-60 menit. Hasil PCR dielektroforesis sampai DNA bergerak sampai di tengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis divisualisasi menggunakan *digi-doc-imaging-system*. Keberadaan profil DNA terlihat seperti pita terang.

3.3.7.4 Sekuensing dan Analisis Hasilnya

Hasil PCR sebelumnya dikemas terlebih dahulu dengan memberi nama dan keterangan pada kertas kemudian sampel hasil PCR diletakkan dengan perekat berupa solasi putih pada kertas tersebut. Setelah itu kertas digulung dan dilapisi dengan bubble wrap kemudian masukan ke dalam kotak. Hasil PCR selanjutnya dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia untuk disekuensing. Analisis hasil sekuensing dan pembuatan dendogram dilakukan menggunakan program MEGA.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Diperoleh tujuh isolat bakteri endofit yang memiliki kemampuan antagonis terhadap *P.aroidearum* (IA1(2), PA12(1) (akar)), (PB123(1), PB121(1), PB12(2) PB11(3) (batang)), dan (PD21(3) (daun)).
2. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa identitas isolat bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap *P.aroidearum* adalah *Pseudomonas aeruginosa* (isolat PA12(1)).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan:

1. Diuji lebih lanjut bakteri antagonis (IA1(2), PA12(1) (PB123(1), PB121(1), PB12(2), PB11(3), dan (PD21(3) dalam menekan perkembangan *P.aroidearum* secara in-vivo.
2. Dilakukan uji hemolisis untuk mengetahui apakah bakteri antagonis (*Pseudomonas aeruginosa*) yang diperoleh berbahaya bagi manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H.S. 2008. Aktivitas *Pseudomonas Pendar Fluor* dalam mengendalikan penyebab penyakit patik (*Cercospora nicotianae*) pada tembakau. *Jurnal Pengendalian Hayati*. 1(2): 98-103.
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., and Gupta, R.S. 2016. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacteriales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66: 5575-5599.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 3d Ed. Academic Press. New York. 803p.
- Anasari, S., Nurdin, M., Ivayani., dan Ratih, S. 2022. Eksplorasi mikroorganisme prokariot asal bonggol pisang untuk mengendalikan penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) tanaman pisang secara *In Vitro*. *Jurnal Agrotek Tropika*. 10(3): 461-468.
- Apriliana, R., Rudiyantri, S., dan Purnomo, P.W. 2014. Keanekaragaman jenis bakteri perairan dasar berdasarkan tipe tutupan permukaan perairan di Rawa Pening. *Diponegoro Journal of Maquares*. 3(2): 119-128.
- Backman, P. A. and Sikora, R.A. 2008. Endophytes: an emerging tool for biological control. *Biological Control*. 46(1): 1-3.
- Balosi, F., Lakani, I. dan Panggeso, J. 2014. Eksplorasi bakteri endofit sebagai agens pengendalian hayati terhadap penyakit darah pada tanaman pisang secara *in-vitro*. *E-Jurnal Agrotekbis*. 2(6): 579-586.
- Baroroh, H. F., Aini, L. Q., dan Abadi, A. L. 2014. Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap blood disease bacterium. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2(2): 87-97.
- Brooks., Geo, F., Janet, S., Butel, dan Stephen, A. M. 2005. *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology Second Edition*. Alih Bahasa: Bagian

Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.

- Chung, E. J., Hossain, M. T., Khan, A., Kim, K. H., Jeon, C.O., and Chung, Y. R. 2015. *Bacillus oryzicola* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from the roots of rice with antimicrobial, plant growth promoting, and systemic resistance inducing activities in rice. *Journal of Plant Pathology*. 31(2): 152-164.
- Danaatmaja, Y., Siti, S., Tri, J., dan Cavrina, U.S. 2009. Isolasi dan karakterisasi *Ralstonia syzygii*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(1): 7-12.
- Deak, T. and Farkas, J. 2013. *Microbiology of Thermally Preserved Food: Canning and Novel Physical Methods*. USA: Destech Publications. Inc.
- Djojoseumarto, P. 2000. *Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 152 hlm.
- Dowling, D. N. and O’Gara, F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. *Tibtech*. 12: 133-141.
- Esseelman, M. T. and Liu, P. V. 1961. *Lecithinase* production by Gram negative bacteria. *Jurnal Bacteriology*. 81(6): 939-945.
- Goto, M. 1965. A comparative study of the sheath rot bacteria of rice. *annalysis Phytopathology Society Japan*. XXX: 42-45.
- Goto, M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Academic. Press, Tokyo. 342 hlm.
- Habazar, T. dan Yaherwandi. 2006. *Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Andalas University Press. Padang.
- Haggag, W.M. and Mohamed, H. A. A. 2007. Biotechnological aspects of microorganism used in plant biological control. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(6): 771-776.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., and Kloepper, J. W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43(10): 895-914.
- Hanudin dan Suhardi. 2009. *Praevaluasi Karakter Ketahanan Terhadap Penyakit Busuk Lunak Pada Anggrek Phalaenopsis*. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Tanaman Hias TA 2008 Segunung. 14 hlm.
- Hanudin dan Marwoto, B. 2012. Prospek penggunaan mikroba antagonis sebagai agens pengendali hayati penyakit utama pada tanaman hias dan sayuran. *Jurnal Litbang Pertanian*. 31(1): 8-13.

- Hardiansyah, M.Y., Musa, Y., dan Jaya, A.M. 2020. Identifikasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* pada rizosfer bambu duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41-46.
- Hidayah, N. dan Yulianti, T. 2015. Uji antagonisme *Bacillus cereus* terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. 7(1): 1-8.
- Ilham, Ida, B. G. D., I Gusti, M. O. N., dan Retno, K. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri pelarut fosfat potensial pada tanah konvensional dan tanah organik. *Jurnal Simbiosis*. II(1): 173-183.
- Irwansyah, A., Suskandini, R.D., Muhammad, N., dan Cipta, G. 2019. Pengaruh bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Paenibacillus polymixa* terhadap intensitas penyakit hawar upih serta pertumbuhan tanaman jagung hibrida P27. *Jurnal Agrotek Tropika*. 7(1): 211-218.
- Joko, T., Kiswanti, D., Subandiyah, S., and Hanudin. 2011. *Occurrence of Bacterial Soft Rot of Phalaenopsis Orchids in Yogyakarta and West Java, Indonesia*. In Y: Koentjoro (ed.). *Proceeding of Internasional Seminar on "Natural Resources, Climate Change, and Food Security in Developing Countries"*. p. 255–265. 27–28 June 2011. Surabaya. Indonesia.
- Kalshoven, L. G. E. 1981. *The Pests of Crops In Indonesia*. PT. Ichtiar Baru Van Hoeve. Jakarta. 701 hlm.
- Karpagan, T. and Nagalakshmi, P.K. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(3): 601-614.
- Kaneshiro, W. S., Burger, M., Vine, B. G., de Silva, A. S., and Alvarez, A. M. 2008. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a bacterial heart rot of pineapple outbreak in Hawaii. *Plant Disease*. 92: 1444-1450.
- Kucharek, T. and Bartz, J. 2000. *Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops Plant Pathology Fact Sheet*. [Cited: 4.2.2014]. Available from: <http://plantpath.ifas.ufl.edu/extension/fact-sheets/pdfs/pp0012.pdf>.
- Leventors, J. P., Eberhard, T. H., Levenfors, J.J., Gerhardson, B., and Hökeberg, M. 2008. Biological control of snow mould (*Microdochium nivale*) in winter cereals by *Pseudomonas brassicacearum*, MA250. *Biological Control*. 53: 651-665.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H. S., Reedy, R. M., Yedidia, I., and Breuer, J. 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot Enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology*. 97: 1150-1163.

- Mano, H., Tanaka, F., Nakamura, C., Kaga, H., and Morisaki, H. 2007. Culturable endophytic bacterial floral of the maturing leaves and roots of rice plants (*Oryza sativa*) cultivated in a paddy field. *Microbes and Environments*. 22(2): 175-185.
- Matos, A. D. M., Gomes, I. C. P., Nietsche, S., Xavier, A. A., Gomes, W. S., Neto, J. A. D. S., and Pereira, M.C.T. 2017. Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees. *Journal Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 89(4): 2945-2954.
- Mbai, F. N., Magiri, E. N., Matiru, V.N., Ng'ang'a, J., and Nyambati, V. C. S. 2013. Isolation and characterisation of bacterial root endophytes with potential to enhance plant growth from kenyan basmati rice. *American International Journal of Contemporary Research*. 3(4): 25-40.
- Meiliza, R. 2006. Pengaruh pupuk terhadap optimasi produksi padi sawah di Kabupaten Deli Serdang. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Melliawati, R., Djohan, A.C., dan Yopi. 2015. Seleksi bakteri asam laktat sebagai penghasil enzim protease. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(2): 184 -188.
- Muis, A. 2007. Pengelolaan Penyakit Busuk Pelepah (*Rhizoctonia solani* Kuhn) pada Tanaman Jagung. *Jurnal Litbang Pertanian*. 26(3): 100-103.
- Munif, A., Suryo, W., dan Suwarni. 2012. Isolasi bakteri endofit asal padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8(3): 57-64.
- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Mati Pucuk pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ortet, P., Barakat, M., Lalaouna, D., Fochesato, S., Barbe, V., Vacherie, B., Santaella, C., Heulin, T., and Achouak, W. 2011. Complete genome sequence of a beneficial plant root-associated bacterium, *Pseudomonas brassicacearum*. *Journal of Bacteriology*. 193: 31-46.
- Parent, J.G., Lacroix, M., Page, D., Vezina, L., and Vegiard, S. 1996. Identification of *Erwinia Carotovora* from soft rot diseased plants by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Plant Disease*. 80: 494-499.
- Pathak, M.D. 1977. *Insect Pest of Rice*. The International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 68 hlm.

- Prasojo, U. B. 2022. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Tanaman Cocor Bebek (*Kalanchoe* spp.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Purwono dan Purnamawati, H. 2007. *Budi Daya 8 Jenis Tanaman Pangan Unggul*. Penebar Swadaya. Depok. 139 hlm.
- Purwaningsih, S. 2012. Isolasi, populasi dan karakterisasi bakteri pelarut fosfat pada daerah perakaran dan tanah dari Bengkulu, Sumatra. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 13(1): 101-108.
- Rajvanshi, A. 2010. Bacterial load on street vended salads in Jaipur City, India. *Internet Journal of Food Safety*. 112: 136-139.
- Ramadhan, A. R., Oedjijono., dan Ratih, D. H. 2017. Efektifitas bakteri endofit dan penambahan *Indole Acetic Acid* (IAA) dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi *Oryza sativa* L. *Scripta Biologica*. 4(3): 177-181.
- Rustam, Giyanto, Wiyono, S., Santosa, D.A., dan Susanto, S. 2011. Seleksi dan identifikasi bakteri antagonis sebagai agens pengendali hayati penyakit hawar pelepah padi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 30(3): 164-171.
- Safitri, D.A. 2017. Pengujian Antagonisme Bakteri Endofit Nanas (*Ananas comosus* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Lampung.
- Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Saux, M.F., Achouak, W., and Gardan, L. 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 zae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 1415-1427.
- Saraswati, L. 2021. Karakterisasi dan Potensi Bakteri yang Berasosiasi dengan Arthropoda pada Pertanaman Jagung sebagai Pengendali Hayati *Dickeya zae*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Schwartz, A., Ortiz, I., Maymon, M., Herbold, C., Fujishige, N., Vijanderan, J., Vilella, W., Hanamoto, K., Diener, A., Sanders, E., DeMason, D., Hirsch, A. 2013. *Bacillus simplex*- a little known PGPB with anti-fungal activity- alters pea legume root architecture and nodule morphology when coinoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae. *Agronomy*. 3: 595-620 hlm.

- Semangun, H. 2008. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. 2nd Ed. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 475 hlm.
- Serdani, A.D., Luqman, Q.A., dan Abdul, L.A. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari tanaman padi (*Oryza sativa*) sebagai pengendali penyakit hawar daun bakteri akibat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Jurnal Viabel Pertanian*. 12(1): 18-26.
- Silitonga, T. S. 2010. Pengelolaan dan pemanfaatan plasma nutfah padi di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah*. 10(2): 56-71 hlm.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. CV Sagung Seto. Jakarta.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., and Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. *FEMS Microbiological Revolution*. 31(4): 425-448.
- Suliasih dan Widawati, S. 2005. Isolation and identification of phosphate solubilizing and nitrogen fixing bacteria from soil in Wamena Biological Garden, Jayawijaya, Papua. *Biodiversitas*. 6(5): 175-177.
- Suharjo, R. 2013. Studies on the Taxonomy and Identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. Isolated in Japan. PhD. Thesis. Shizuoka University. Jepang. 198 hlm.
- Suharjo, R., Sawada, H., and Takikawa Y. 2013. A new rapid identification method for Japanese *Pectobacterium* strains based on *recA*, *mdh* and *rpoD* PCR RFLP. *Acta phytopathologica sinica*. 43:Supplement. The 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, Beijing China. 540 hlm.
- Suharjo, R., Yuyun, F. dan Puji, L. 2022. *Prosedur Isolasi dan Karakterisasi Biokimia Spesies Dickeya*. Pusaka Media. Bandar Lampung. 75 hlm.
- Supartha, I. N. Y., Wijana, G., dan Adnyana, G. M. 2012. Aplikasi jenis pupuk organik pada tanaman padi sistem pertanian organik. *E- Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 1(2): 98-106.
- Supriyanto. 2009. Penapisan PGPF untuk pengendalian penyakit busuk lunak lidah buaya (*Aloe vera*) di tanah gambut. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(2): 71-82.
- Surowinoto, S. 1982. *Budidaya Tanaman Padi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tjitrosoepomo, G. 1998. *Taksonomi Umum: Dasar-Dasar Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 216 hlm.

- Toth, I. K., Barny, M. A., Czajkowski, R., Elphinstone, J. G., Li X., and Pédrón, J. 2021. "Pectobacterium and Dickeya: Taxonomy and Evolution," in *Plant Diseases Caused by Dickeya and Pectobacterium species*. Van Gijsegem F., Toth I. K., van der Wolf J. M. (Cham: Springer;) (eds). 13-38. Juli 2020. Dundee. Scotland.
- Usman, W. S. 2015. Bakteri Asosiasi Karang yang Terinfeksi Penyakit Brown Band (BRB) di Perairan Pulau Barrang Lompo Kota Makasar. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Zhou, T., Chen, D., Li, C., Sun, Q., Li, L., Liu, F., Shen, Q., and Shen, B. 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas brassicacearum* J12 as antagonist against *Ralstonia solanacearum* and identification of its antimicrobial components. *Microbiological Research*. 167: 388-394.