

**IDENTIFIKASI DAN UJI KARAKTERISTIK BAKTERI YANG
BERASOSIASI DENGAN LALAT BUAH YANG BERPOTENSI SEBAGAI
ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BUAH JAMBU KRISTAL**

(Skripsi)

Oleh

Hafizh Mutiara Rizky

1954191001



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**IDENTIFIKASI DAN UJI KARAKTERISTIK BAKTERI YANG
BERASOSIASI DENGAN LALAT BUAH YANG BERPOTENSI SEBAGAI
ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BUAH JAMBU KRISTAL**

Oleh

Hafizh Mutiara Rizky

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI DAN UJI KARAKTERISTIK BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN LALAT BUAH YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BUAH JAMBU KRISTAL

Oleh

HAFIZH MUTIARA RIZKY

Sebanyak 32 isolat bakteri yang diduga berasosiasi dengan lalat buah pada perkebunan jambu kristal di daerah Tanggamus dan Lampung Tengah diuji kemampuannya sebagai antagonis *Stenotrophomonas maltophilia*, penyebab penyakit busuk buah pada jambu kristal. Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa terdapat 6 isolat bakteri (B1(2), 31(1), 11(2)(1), 31(2)(2), C1(1)(2), dan 42(1)) yang memiliki kemampuan antagonis terhadap *S. maltophilia* tetapi tidak untuk 26 isolat yang lain. Enam isolat tersebut kemudian dilakukan pengujian lebih lanjut. Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa satu isolat B1(2) bersifat gram negatif namun kelima isolat lainnya termasuk kedalam bakteri gram positif. Satu isolat B1(2) berpendar pada media king's B. Keenam isolat bersifat negatif pada uji hipersensitif, hipovirulen, *soft rot*, dan uji lechitinase, namun keenam isolat ini menunjukkan hasil positif pada uji *casein* serta uji *arginine dehydrolase moeller*. Lima isolat bersifat fermentatif sedangkan satu isolat 31(2)(2) bersifat oksidatif. Isolat B1(2) dan 31(1) mampu untuk melarutkan fosfat tapi tidak keempat isolat yang lain. Keenam isolat mampu tumbuh pada suhu 39 °C. Empat isolat B1(2), 31(1), 31(2)(2) dan C1(1)(2) mampu tumbuh pada suhu 40 °C. Keenam isolat mampu menggunakan L-glutamat dan Tri sodium citrate dihydrate. Isolat C1(1)(2), 31(1), 1.1(2)(1), B1(2) dan 42(1) mampu menggunakan Lactose dan D-arabinose. Isolat C1(1)(2), 31(1), 1.1(2)(1), B1(2) mampu menggunakan Glycerol. Isolat C1(1)(2), 31(1) dan 1 B1(2) mampu menggunakan Citric acid monohydrate. Dua isolat (C1(1)(2) dan 31(1)) mampu menggunakan Myo-inositol dan M-tartrate. Isolat C1(1)(2), 31(1), 1.1(2)(1) dan 42(1) mampu menggunakan Starch. Isolat C1(1)(2), 31(1) dan 1.1(2)(1) mampu menggunakan 5-ketogluconate. Isolat C1(1)(2), B1(2) dan 31(2)(2) mampu menggunakan Mannitol. Isolat C1(1)(2), 1.1(2)(1) dan 42(1) mampu menggunakan Inulin. Isolat 31(1), B1(2) dan 1.1(2)(1) mampu menggunakan D-melibiose dan isolat B1(2) mampu menggunakan Sorbic acid. Isolat B1(2) merupakan isolat yang memiliki kemampuan antagonis tertinggi. Hasil analisis sekuen 16SrDNA menunjukkan bahwa isolat tersebut berada satu kelompok dengan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci : antagonis, identifikasi, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI DAN UJI KARAKTERISTIK
BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN
LALAT BUAH YANG BERPOTENSI
SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK
BUAH JAMBU KRISTAL**

Nama Mahasiswa : **Hafizh Mutiara Rizky**

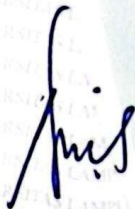
Nomor Pokok Mahasiswa : **1954191001**

Program Studi : **Proteksi Tanaman**

Fakultas : **Pertanian**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.
NIP 196406131987031002



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

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman



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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.



Anggota Pembimbing : Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.



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



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Dr. H. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002**

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 18 Januari 2024

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“IDENTIFIKASI DAN UJI KARAKTERISTIK BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN LALAT BUAH YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BUAH JAMBU KRISTAL”** merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian 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, 7 Februari 2024
Penulis.



Hafizh Mutiara Rizky
NPM 1954191001

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Belitang, Kabupaten Oku Timur, Provinsi Sumatra Selatan pada 15 Agustus 2001. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, pasangan Bapak Sunardi dan Ibu Mujiati. Penulis telah menyelesaikan Pendidikan di TK Nurul Iman pada tahun 2007, SDN 3 Durian pada tahun 2013, SMP AL-KAUTSAR Bandar Lampung pada tahun 2016, dan SMA YP-UNILA Bandar Lampung pada tahun 2019. Pada tahun tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Universitas Lampung Fakultas Pertanian Jurusan Proteksi Tanaman melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMM PTN-Barat).

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Gedung Dalam, Kecamatan Way Lima, Kabupaten Pesawaran dan Praktik Umum di PTPN 7 Unit Rejosari Kecamatan Natar, Lampung Selatan pada tahun 2022. Penulis pernah aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai ketua Bidang Kewirausahaan (KWU) pada tahun 2022. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Pengendalian Hayati Hama Penyakit Tanaman (2022) dan Bakteriologi Tumbuhan (2023).

PERSEMBAHAN

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

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Sunardi dan Ibu Mujiati yang senantiasa mendoakan dan mengiringi langkahku sampai saat ini dengan segala daya dan upaya, serta tiada hentinya memberikan nasihat, bimbingan, motivasi dan kasih sayang kepada penulis.
2. Kedua adikku Rafa Mutiara Putri dan Inas Mutiara Pabela terimakasih atas segala doa, dan dukungannya selama ini kepada penulis.
3. Teman-teman seperjuangan Proteksi Tanaman Angkatan 2019, serta Almamaterku tercinta Universitas Lampung tempat penulis menempuh studi.

“BISA KARENA TERBIASA”

**“JANGAN TAKUT BERJALAN LAMBAT, TAKUTLAH JIKA HANYA
BERDIRI DIAM”**

“DO WHAT YOU LOVE”

**“KEGAGALAN YANG SESUNGGUHNYA ADALAH PADA SAAT KITA
BERHENTI MENCOBA”**

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan Rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“IDENTIFIKASI DAN UJI KARAKTERISTIK BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN LALAT BUAH YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BUAH JAMBU KRISTAL”**. Skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan fasilitas kepada mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk melaksanakan penelitian,.
2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, masukan dan saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi,.
3. Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S. selaku pembimbing pertama yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, masukan dan saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi,.
4. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr. selaku pembahas yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, saran, dan masukan selama proses penelitian dan penyusunan skripsi,.
5. Prof. Dr. Ir. Rosma Hasibuan, M.Sc., selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis dari awal sampai ke akhir perkuliahan,.
6. Kedua orang tuaku Bapak Sunardi dan Ibu Mujiati yang telah memberikan banyak dorongan, kasih sayang, nasihat, semangat, dan juga doa yang tak

pernah putus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dan dapat menyelesaikan studi di Universitas Lampung,.

7. Adik- adikku, Rafa Mutiara Putri dan Inas Mutiara Pabela yang telah memberikan doa dan semangat kepada penulis,.
8. Kekasih, Nelyta Pebrianis yang selalu setia menemani serta memberikan dukungan dan motivasi selama penulis menyelesaikan skripsi,.
9. Rekan seperjuangan bakteri squad Haura, Dita M, Defi, Dita O, Oka, dan Intan yang banyak memberikan bantuan kepada penulis selama masa penelitian dan penulisan skripsi,.
10. Teman-teman seperjuangan biotek squad 2019 Agung, Hikmah, Ketut, Andreas, Ani, Anisa, Iis, Lisa, Puja dan teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu atas doa, bantuan dan kebersamaan yang telah diberikan,.
11. Mba Tariyati, Mba Yeyen, dan Bang Nando atas bantuan yang banyak diberikan kepada penulis,.
12. Rekan seperjuangan SOAP Catur, Adit, Agung, Bintang, Bobi, Sakti, Joel, Aziz, dan Dimas atas pertemanan, doa, dan dukungan kepada penulis,.
13. Keluarga Proteksi Tanaman 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu,.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu-persatu, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini,.

Bandar Lampung, Februari 2024

Hafizh Mutiara Rizky
NPM 1954191001

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran	2
1.4 Hipotesis.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman jambu kristal	4
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Jambu Kristal	4
2.1.2 Budidaya Tanaman Jambu Kristal.....	5
2.1.3 Kendala Budidaya Tanaman Jambu Kristal.....	6
2.2 Busuk Buah Jambu Kristal	7
2.2.1 Gejala Penyakit	7
2.2.2 Penyebab Penyakit.....	7
2.2.3 Pengendalian.....	8
2.3 Bakteri Antagonis	8
2.3.1 Bakteri Antagonis yang Berasosiasi dengan Serangga.....	8
III. METODE PENELITIAN	9
3.1 Waktu dan Tempat	9
3.2 Bahan dan Alat	9
3.3 Pelaksanaan Penelitian	10

3.3.1 Isolasi Bakteri Simbion Lalat Buah Koleksi Laboratorium Bioteknologi	10
3.3.2 Pemurnian dan Peremajaan.....	10
3.3.3 Karakterisasi Bakteri.....	10
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1 Hasil Penelitian.....	20
4.1.1 Penggoresan Kembali Bakteri Simbion Lalat Buah Koleksi Laboratorium Bioteknologi	20
4.1.2 Pemurnian dan Peremajaan.....	20
4.1.3 Karakterisasi Bakteri.....	21
4.2 Pembahasan	31
V. SIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Simpulan.....	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Skor Keparahan Penyakit.....	13
2. Hasil Penggoresan Bakteri Simbion Lalat Buah.....	20
3. Luas Zona Bening pada Uji Antagonisme secara <i>In Vitro</i>	21
4. Hasil Uji Gram	22
5. Hasil Uji Hipovirulen.....	23
6. Hasil Uji O/F.....	24
7. Hasil Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat.....	25
8. Hasil Uji Casein	26
9. Hasil Uji Bahan Organik.....	28
10. Hasil Uji pada Suhu 39 °C dan 40 °C	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gejala busuk buah jambu kristal	7
2. Skema uji kemampuan antagonisme bakteri. Luas koloni (lk), luas zona bening (lzb).....	11
3. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri. Luas koloni (lk), luas zona bening (lzb).....	15
4. Uji antagonisme	21
5. Hasil uji gram. A. Gram negatif, B. Gram positif.....	22
6. Hasil negatif uji hipersensitif	22
7. Hasil negatif pada uji <i>soft rot</i>	23
8. Hasil uji hipovirulen.....	24
9. Hasil uji o/f. A. Bakteri fermentatif, B. Bakteri oksidatif.....	25
10. Hasil uji pelarut fosfat.....	25
11. Hasil positif uji casein.....	26
12. Hasil uji fluoresensi. A. Positif, B. Negatif.....	27
13. Hasil uji bahan organik. A. Positif, B. Negatif.	27
14. Hasil uji lechitinase	28
15. Hasil uji arginin.....	29
16. Hasil uji suhu. A. Positif, B. Negatif.....	30
17. Pohon filogenik hasil analisis sekuen 16srDNA yang dibuat menggunakan program mega 11 dengan metode <i>maximum likelihood</i>	30

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jambu kristal (*Psidium guajava* L.) merupakan varietas baru dari jambu biji yang telah dibudidayakan sejak 1998 di Indonesia. Jambu kristal banyak dibudidayakan karena rasanya yang enak dan dapat dikonsumsi langsung tanpa melalui proses pengolahan (Mahendra dkk., 2017). Potensi peluang bisnis jambu kristal masih sangat besar, hal ini dikarenakan permintaannya yang tinggi sedangkan pasokannya masih rendah. Kekurangan pasokan dibandingkan permintaan supermarket yang ada di Bogor dan Jakarta terhadap jambu Kristal grade A di *Agribusiness Development Center* Institut Pertanian Bogor - *International Cooperative Development Fund* (ADC IPB-ICDF) yang signifikan, yaitu dalam jangka waktu 12 bulan perusahaan ini tidak dapat memenuhi permintaan jambu Kristal grade A dari supermarket sebesar 14.794,5 kg. Dalam hal ini, perusahaan telah kehilangan kesempatan untuk meningkatkan penjualannya sebesar Rp295.890.000 (Paratidina dkk., 2015).

Kurangnya pasokan ini terkait dengan produksi jambu kristal yang masih rendah, hal ini terjadi salah satunya karena adanya serangan hama dan patogen tanaman. Salah satu patogen yang menyerang jambu kristal adalah patogen busuk buah. Selama ini pestisida sintetik menjadi pilihan utama dalam pengendalian hama dan patogen tanaman. Namun begitu, aplikasi pestisida sintetik dalam jangka waktu yang lama akan menimbulkan berbagai dampak negatif bagi lingkungan. Untuk mengurangi dampak negatif penggunaan pestisida, maka perlu dicari alternatif pengendalian yang aman dan ramah lingkungan, salah satunya adalah penggunaan bakteri antagonis.

Berbagai jenis bakteri antagonis telah dilaporkan mampu untuk menekan perkembangan patogen tumbuhan, beberapa bakteri antagonis juga dilaporkan dapat berasosiasi dengan serangga-serangga tertentu (Saraswati, 2021).

Lalat buah merupakan serangga hama yang banyak ditemukan pada lahan pertanian, terutama lahan buah-buahan, termasuk jambu kristal. Selain memiliki peranan sebagai hama, lalat buah juga berpotensi sebagai pembawa bakteri antagonis patogen tanaman.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui potensi bakteri yang berasosiasi dengan lalat buah yang menyerang jambu kristal sebagai antagonis patogen busuk buah jambu kristal,;
2. Mengetahui karakteristik bakteri antagonis yang ditemukan,;
3. Mengetahui identitas bakteri antagonis terpilih yang ditemukan.;

1.3 Kerangka Pemikiran

Busuk buah pada jambu kristal dapat disebabkan oleh beberapa patogen, seperti jamur dan bakteri. Jamur yang mengakibatkan penyakit busuk buah pada jambu kristal adalah *Colletotrichum gloeosporioides*. Jamur ini mampu menghasilkan enzim selulase yang dapat menghidrolisis selulosa kulit buah sehingga kulit buah terdisintegrasi dan lunak. Selanjutnya akan berubah warna menjadi coklat yang dapat meluas dan akhirnya membusuk. Proses pembusukan semakin cepat ketika buah mencapai kematangan puncak (Ippolito and Nigro, 2000).

Selain jamur, busuk buah jambu kristal juga dapat disebabkan oleh bakteri. Bakteri patogen tanaman ini dapat berasal dari berbagai habitat, seperti tanaman, tanah, dan juga berasal dari serangga. Berdasarkan laporan dari Farahdiba (2023) bakteri penyebab busuk buah pada jambu kristal dapat berasal dari serangga lalat buah, hal ini dikarenakan pada fase larva lalat buah ditemukan bakteri simbiosis *Stenotrophomonas maltophilia* yang dilaporkan sebagai bakteri patogen tanaman.

Pengendalian terhadap patogen penyebab busuk buah pada jambu kristal dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti penggunaan pestisida sintetik dan pestisida nabati (Ramadhani, 2022), namun penggunaan pestisida ini tentunya masih belum cukup efektif guna mengendalikan patogen busuk buah jambu kristal tersebut. Sehingga diperlukan alternatif yang efektif dalam pengendalian patogen busuk buah jambu kristal tersebut.

Lalat zaitun (*Bactrocera oleae*; Dacinae) dewasa dan larva menjadi inang bakteri (*Candidatus* *Erwinia dacicola*: Enterobacteriaceae), yang dianggap sebagai simbiosis obligat (Capuzzo *et al.*, 2005). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Evans and Armstrong, (2006) ditemukan bakteri antagonis yang ada pada larva lebah madu, bakteri ini mampu menekan patogen utama pada larva lebah madu yaitu *Paenibacillus larvae*. Penelitian terbaru yang dilakukan Skowronek *et al.*, (2020) melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas chlororaphis* yang berasosiasi dengan kumbang *Melolontha melolontha* L. dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri genus *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

1. Bakteri yang berasosiasi dengan lalat buah pada pertanaman jambu kristal ada yang berperan sebagai antagonis busuk buah jambu kristal,.
2. Bakteri yang berasosiasi dengan lalat buah pada pertanaman jambu kristal memiliki karakter yang berbeda-beda.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman jambu kristal

Tanaman jambu biji termasuk tanaman daerah tropis namun dapat tumbuh pula di daerah sub-tropis sehingga tanaman ini banyak dibudidayakan negara lain seperti Jepang dan Brazil. Morton (1987) menyebutkan bahwa tanaman jambu biji termasuk tanaman yang toleran terhadap cekaman lingkungan seperti kekeringan, lahan berbatu, pH rendah, tetapi tidak tahan terhadap beku. Di daerah tropis, tanaman jambu biji dapat tumbuh pada suhu 15-45 °C, namun untuk memperoleh hasil terbaik yaitu pada suhu antara 23-28 °C (Soetopo, 1992 dalam Ramadhani, 2022). Indonesia termasuk dalam 10 negara penghasil utama buah jambu biji di dunia (Asia Farming, 2018). Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) (2023), produksi buah jambu biji di Indonesia mencapai 472.686 ton pada tahun 2022.

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Jambu Kristal

Jambu kristal termasuk ke dalam tanaman berbiji (*Spermatophyte*) dengan biji tertutup (*Angiospermae*) serta berkeping dua (*Dicotyledoneae*). Tanaman jambu kristal dalam taksonomi tumbuhan dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Damayanti, 2016) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae

Genus : *Psidium*

Spesies : *Psidium guajava* L.

Tanaman jambu biji memiliki habitus berupa semak atau perdu, dengan tinggi pohon dapat mencapai 9 m (Nakasone and Paull, 1999 dalam Ramadhani, 2022). Tanaman jambu biji memiliki jenis akar tunggang dengan batang muda berbentuk segiempat, sedangkan batang tua berkayu keras berbentuk gilig dengan warna coklat. Permukaan batang licin dengan lapisan kulit yang tipis dan mudah terkelupas. Apabila kulit pohon dikelupas maka akan terlihat bagian dalam batang berwarna hijau. Arah tumbuh batang tegak lurus dengan percabangan sympodial. Daun pada tanaman jambu biji memiliki struktur daun tunggal dan mengeluarkan aroma yang khas. Terdapat beberapa bentuk daun pada tanaman jambu biji, yaitu bentuk daun lonjong, jorong, dan bundar telur terbalik. Bentuk daun yang paling dominan adalah bentuk daun lonjong. Bunga jambu biji memiliki tipe benang sari polyandrous yang artinya benang sari saling bebas tidak berlekatan. Benang sari berwarna putih dengan kepala sari yang berwarna krem. Putik berwarna putih kehijauan dengan bentuk kepala putik yang bercuping (lobed). Benang sari memiliki panjang antara 0,5 sampai 1,2 cm, sedangkan jumlah benang sari antara 180 sampai 600. Buah jambu biji memiliki tipe buah tunggal dan termasuk buah berry (buni), yaitu buah yang daging buahnya dapat dimakan. Buah jambu biji memiliki kulit buah yang tipis dan permukaannya halus sampai kasar. Bentuk buah pada varietas sukun merah, kristal, dan Australia adalah bulat (Fadhilah dkk., 2018).

2.1.2 Budidaya Tanaman Jambu Kristal

Jambu biji dapat beradaptasi pada jenis tanah apapun, namun akan tumbuh subur pada tanah dangkal. Pada tanah yang berbatu, tanaman ini dapat tumbuh namun buahnya hanya sedikit. Jika pada tanah dengan pH kurang dari 5 dan lebih dari 7 tanaman ini akan kekurangan Zn dan Fe. Waktu yang ideal untuk berbunga adalah pada akhir musim kemarau dan berbuah pada musim hujan, namun tanaman jambu kristal dapat berbuah sepanjang tahun dengan bantuan irigasi di musim kemarau. Syarat tumbuh jambu kristal yaitu ditanam pada ketinggian kurang dari 1000 mdpl, curah hujan yang optimum berkisar 1000-2000 mm/tahun,

pH tanah berkisar 5,5- 6,5, sinar matahari dan pengairan yang cukup, drainase yang baik serta tanah kaya akan bahan organik. Jarak lubang tanam antara satu lubang dengan lubang yang lain yaitu 4 m x 3 m, sedangkan panjang dan lebar lubang tanam yaitu 40 cm x 40 cm dengan kedalaman lubang sepanjang 80 cm (Nakasone and Paull, 1999 dalam Ramadhani, 2022).

2.1.3 Kendala Budidaya Tanaman Jambu Kristal

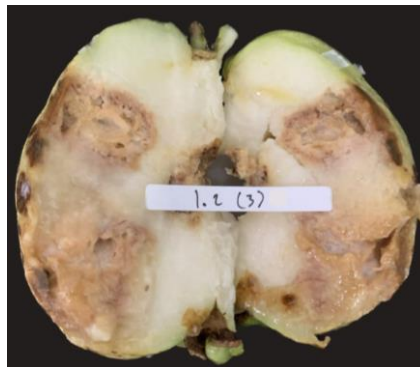
Resiko tertinggi penurunan produksi buah jambu biji antara lain berkaitan dengan kondisi cuaca yang tidak menentu, serangan hama dan patogen tanaman, kurangnya sistem keamanan, kurangnya sarana pascapanen, kurangnya sarana pengairan, kesalahan dalam proses pembungkusan, kesalahan proses penjarangan, dan belum adanya SOP yang terdokumentasi. Fluktuasi produksi jambu biji tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah serangan hama dan patogen penyakit. Hama dan patogen penyakit merupakan salah satu masalah potensial dalam budi daya jambu kristal yang dapat menyebabkan kerugian secara ekonomi, menurunkan kualitas buah maupun menurunkan kuantitas hasil dalam usahatani jambu kristal secara komersial (Pratiwi, 2016 dalam Ramadhani, 2022).

Hama yang sering ditemukan di pertanaman jambu kristal antara lain ulat *Attacus atlas* (Lepidoptera: Saturniidae), kutu putih *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae), kutu daun *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), kutu perisai *Aspidiotus destructor* (Hemiptera: Diaspididae), belalang *Valanga nigricornis* (Orthoptera: Acrididae), lalat buah *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae), dan kumbang penggerek *Carpophilus* sp. (Coleoptera: Nitidulidae) (Eriza, 2015). Jenis penyakit yang sering ditemukan pada tanaman jambu kristal yaitu karat merah (*red rust*), embun jelaga (*sooty dew*), antraknosa (*anthracnose*) dan kanker buah (*fruit cancer*) (Ramadhani, 2022). Selain penyakit yang disebabkan jamur terdapat pula penyakit tanaman jambu kristal yang disebabkan oleh bakteri, seperti busuk buah jambu kristal akibat bakteri patogen tumbuhan (Kardinan, 2005 dalam Syahfari dan Mujiyanto, 2013).

2.2 Busuk Buah Jambu Kristal

2.2.1 Gejala Penyakit

Penyakit busuk buah yang disebabkan oleh bakteri memiliki karakter yang berbeda dengan busuk buah yang disebabkan oleh jamur. Pada buah stroberi ditemukan busuk buah akibat bakteri dengan ciri-ciri bagian buah yang busuk terlihat basah, berwarna sedikit kecoklatan, berlendir, dan mengeluarkan bau busuk (Yuliasari dkk., 2015). Busuk buah pada jambu kristal juga memiliki ciri yang sama yaitu bagian buah yang busuk akan basah terlihat sedikit berlendir dan berubah warna, serta mengeluarkan aroma yang tidak sedap (Gambar 1).



Gambar 1. Gejala busuk buah jambu kristal (Sumber : Farahdiba, 2023)

2.2.2 Penyebab Penyakit

Salah satu patogen penyebab penyakit busuk buah tanaman jambu kristal adalah bakteri. Menurut Kardinan (2005) didalam syahfari dan mujiyanto (2013) bakteri penyebab busuk buah jambu kristal yaitu berasal dari larva lalat buah karena larva yang baru keluar dari telur segera dapat makanan yang melimpah. Larva menggunakan alat mulutnya yang berupa sepasang kait (*hook*), serta mengeluarkan enzim perusak dan pencerna. Enzim ini dapat mempercepat pembusukan dan selanjutnya mengeluarkan aroma kuat yang diduga berasal dari senyawa alkohol sehingga dapat menarik perhatian serangga lain bersamaan dengan membusuknya daging buah, bakteri pembusuk juga mempertinggi aktivitasnya sehingga buah menjadi rusak.

2.2.3 Pengendalian

Pengendalian penyakit busuk buah jambu kristal dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti penggunaan pestisida sintetik, pestisida nabati serta penanaman tanaman sehat (Ramadhani, 2022). Pengendalian menggunakan teknik pembungkusan buah juga dapat mengurangi resiko serangan patogen serta hama yang dapat menyebabkan busuk buah jambu kristal (Saputra dkk., 2022).

2.3 Bakteri Antagonis

Bakteri antagonis merupakan bakteri yang mempunyai sifat mampu mengendalikan patogen dan meningkatkan pertumbuhan tanaman yang juga disebut sebagai PGPR (*plant growth promoting rhizobacteria*). Salah satu bakteri yang secara luas telah dilaporkan sebagai antagonis adalah *Bacillus subtilis*., Bakteri ini mampu berperan sebagai antagonis melalui mekanisme antibiosis dan kompetisi baik ruang maupun nutrisi (Beneduzi *et al.*, 2012).

2.3.1 Bakteri Antagonis yang Berasosiasi dengan Serangga

Beberapa laporan yang ada menyatakan bahwa terdapat bakteri antagonis yang berasosiasi dengan serangga. Aktinomisetes *Micrococcus luteus* yang berasosiasi dengan kumbang *Dendroctonus rufipennis* memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus nomius*, *A. fumigatus*, *Trichoderma harzianum*, serta *Leptographium abietinum*. *Pseudomonas chlororaphis* yang berasosiasi dengan larva kumbang *Melolontha melolontha* L. dapat menghambat pertumbuhan bakteri dari kelompok genus *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* (Skowronek *et al.*, 2020).

Lalat zaitun (*Bactrocera oleae*; Dacinae) dewasa dan larva menjadi inang bakteri (*Candidatus* *Erwinia dacicola*: Enterobacteriaceae), yang dianggap sebagai simbiosis obligat (Capuzzo *et al.*, 2005). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Evans and Armstrong (2006) ditemukan bakteri antagonis yang ada pada larva lebah madu, bakteri ini mampu menekan patogen utama pada larva lebah madu yaitu *Paenibacillus larvae*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2022 hingga April 2023, di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Jurusan Proteksi Tanaman dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu alkohol 70%, minyak parafin, HCl, KOH 3%, asam sulfat, 5% NaCl, *sodium hypochlorite* 2%, KOH 3%, *ethidium bromide* (EtBr), MyTaq™ Red Mix, DNA primer (fD1 dan rP2), *marker DNA ladder*, *loading dye*, buffer TE, *Bromothymol Blue* (BTB) 2 %, agarose, air steril, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), akuades, benih mentimun, dan tembakau. Bahan organik yang digunakan yaitu *Myo-inositol*, *D-raffinose*, *Innulin*, *Mannitol*, *Glycerol*, *5-ketogluconate*, dan *Lactose*, dan *Ascorbic acid*. Media yang digunakan untuk pengujian yaitu *Yeast Peptone Agar* (YPA), *Water Agar* (WA), *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA), Oksidatif/Fermentatif (O/F), media *Skim Milk*, media *Ayer's*, media *King's B*, media *Yeast Peptone* (YP), dan media *pikovskaya*.

Alat yang digunakan 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, tabung *eppendorf* 1,5 mL, dan plastik tahan panas. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler yaitu cetakan gel 20 x 16 x 1 cm³, *freezer*, mikropipet 0 - 1000 µL, pipet tip 0 - 1000 µL, tabung *Eppendorf* 100 µL, *microcentrifuge*, mesin PCR, alat elektroforesis, dan *gel documentation system*. Alat lainnya yang

digunakan yaitu nampan, spidol, penggaris, *plasticwrapping*, tisu, *aluminium foil*, karet gelang, korek api, kapas, dan alat tulis.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Penggoresan Kembali Bakteri Simbion Lalat Buah Koleksi Laboratorium Bioteknologi FP Unila

Bakteri simbion lalat buah koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian FP Unila diisolasi kembali untuk digoreskan kedalam media *Yeast Peptone Agar* (YPA).

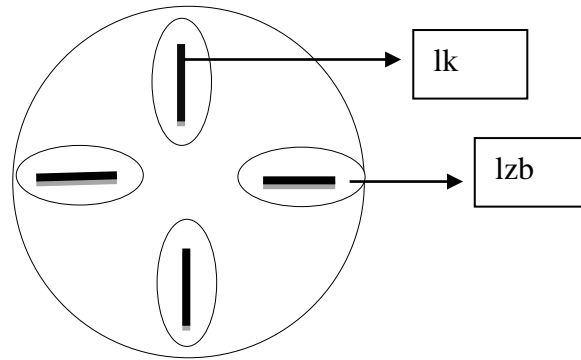
3.3.2 Pemurnian dan Peremajaan

Pemurnian dilakukan dengan mengambil setiap koloni dengan bentuk dan warna yang berbeda untuk kemudian digoreskan kedalam tabung reaksi berisi media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Isolat tersebut diremajakan pada media yang sama. Sebelum dilakukan pengujian, isolat harus berusia 24 jam pada media PPGA.

3.3.3 Karakterisasi Bakteri

3.3.3.1 Uji Antagonis Bakteri Simbion

Pengujian ini dilakukan menggunakan ± 20 mL media PPGA dengan suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ yang telah ditambahkan $100\text{ }\mu\text{L}$ suspensi bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* kerapatan $\pm 10^7$ CFU/mL yang kemudian dituangkan ke dalam cawan petri (Gambar 2). Setelah media padat, bakteri antagonis digoreskan pada cawan petri. Pengamatan terhadap pertumbuhan zona bening dilakukan setiap hari selama 7 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.



Gambar 2. Skema uji kemampuan antagonisme bakteri. Luas koloni (lk), luas zona bening (lzb).

3.3.3.2 Uji Gram

Uji gram dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri termasuk dalam gram positif atau gram negatif. Isolat yang digunakan dalam uji berumur 24 jam. Satu ose bakteri isolat diambil, diletakkan di atas kaca preparat, dan ditetesi KOH 3% sebanyak 1 tetes. Campuran itu dihomogenkan menggunakan jarum ose yang disentuh pada suspensi bakteri dan diangkat perlahan sampai kurang lebih setinggi 1 cm. Jika terlihat lendir yang berbentuk seperti benang tidak terputus maka bakteri tersebut termasuk kelompok gram negatif, jika sebaliknya maka bakteri tersebut termasuk kelompok gram positif (Powers, 1995).

3.3.3.3 Uji Hipersensitif

Uji dilakukan dengan memasukkan 1 mL air steril ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. Satu ose isolat bakteri diambil lalu dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi tersebut diambil sebanyak 300 μ L dan diinokulasikan (disuntikkan) di antara kedua epidermis daun tembakau menggunakan jarum suntik. Pengamatan dilakukan pada 24-48 jam setelah inokulasi. Apabila setelah diinkubasi muncul gejala nekrotik pada area inokulasi maka reaksi tersebut menunjukkan reaksi positif. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang ditemukan berpotensi menjadi patogen tanaman atau tidak (Saraswati, 2021).

3.3.3.4 Uji *Soft rot*

Pengujian *soft rot* dilakukan menggunakan umbi kentang. Pada uji ini, umbi kentang dipotong setebal kurang lebih 1 cm kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit. Setelah itu, irisan umbi diletakkan di atas tisu lembap di dalam cawan. Kemudian, 1 ose bakteri yang berumur 24 jam diambil dari media PPGA kemudian digoreskan pada bagian tengah permukaan umbi.

3.3.3.5 Uji Hipovirulen

Pada uji ini menggunakan mentimun sebagai tanaman indikator. Benih mentimun direndam di dalam air hangat ($\pm 45\text{ }^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, setelah itu direndam dalam alkohol selama 10 detik, direndam dalam air klorok 0,3% selama 10 detik, dan dicuci 3 kali menggunakan akuades. Benih dikecambahkan di atas kertas merang lembap dalam nampan. Nampan ditutup menggunakan wrap selama 2 hari. Setelah 2 hari, empat benih dipindahkan ke dalam cawan petri berisi media *water agar* untuk diinkubasi dalam suhu kamar selama 1 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 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan tekanan 1 atm.

Dalam pengujian ini, isolat bakteri yang diuji berumur 24 jam. Suspensi dibuat dengan memasukkan 1 mL air steril ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL, lalu sebanyak 1 ose isolat bakteri diambil dan dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi tersebut diambil sebanyak 300 μL , diteteskan di tengah-tengah hipokotil bibit mentimun berumur 3 hari. Setiap isolat diulang sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari terhadap gejala nekrotik yang muncul. Pengamatan gejala bertujuan untuk menentukan Indeks Keparahan Penyakit (*Disease Severity Index/DSI*). Isolat dikatakan hipovirulen jika nilai $\text{DSI} < 2$. Rumus *Disease Severity Index* (DSI) yang digunakan adalah:

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

Keterangan :

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).

3.3.3.6 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

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 selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Isolat bakteri pada media PPGA berumur 24 jam diambil menggunakan jarum preparat kemudian dimasukkan ke dalam media O/F sampai dasar tabung, diulang 2 kali. Salah satu tabung ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 mL. Pengamatan dilakukan selama 7 - 14 hari. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna media O. 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).

3.3.3.7 Uji Kemampuan Bakteri 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 dengan suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Media dituang ke dalam cawan petri. Setelah media siap, bakteri diinokulasikan dengan cara menggoreskan 1 ose bakteri pada cawan yang telah berisi media. Pengamatan dilakukan selama 7 hari dengan menghitung rerata luas zona bening (Gambar 3). 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 : (Karpagam and Nagalakshmi, 2014):

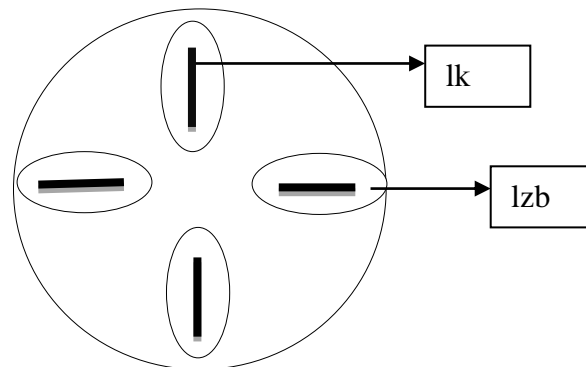
$$\text{Indeks Pelarut Fosfat} = \frac{l_k + l_{zb}}{l_k}$$

Keterangan :

l_k = Luas koloni bakteri,

l_{zb} = Luas zona bening.

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



Gambar 3. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri. Luas koloni (lk), luas zona bening (lzb).

3.3.3.8 Uji Casein

Uji *casein* dilakukan menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA). Cara membuatnya adalah dengan mencampur 10 g bubuk Skim Milk dengan 100 mL akuades. Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose, lalu isolat bakteri digoreskan pada media *Skim Milk Agar* (SM Agar), diinkubasi pada suhu 28 °C selama 24-48 jam. Reaksi positif ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling koloni (Saraswati, 2021).

3.3.3.9 Uji Floresensi pada Media King's B

Pengujian dilakukan dengan menggunakan media King's B. Cara membuat media adalah dengan mencampurkan 20 g *protease peptone*, 1,5 g K_2HPO_4 , 1,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 15 mL *glycerol*, 15 g agar, dan 1000 mL akuades. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dalam suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Setelah media King's B disiapkan lalu isolat bakteri pada media PPGA yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose menggunakan jarum ose lalu digoreskan secara zig-zag pada media King's B dan inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28 °C. Pengamatan dilakukan di bawah Sinar Ultraviolet (UV). Bakteri dinyatakan positif apabila bakteri berpendar (Saraswati, 2021).

3.3.3.10 Uji Kemampuan Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik

Media yang digunakan pada uji ini adalah media Ayer's. Cara membuat media Ayer's adalah dengan mencampurkan 1 g $NH_4H_2PO_4$, 0,2 g KCl, 0,2 g

MgSO₄·7H₂O, 2% Bromothymol Blue (BTB) dan 1000 mL akuades. Bahan organik *Myo-inositol*, *M-tartrate*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *inulin*, *L-tartrate*, *D-tartrate*, *mannitol*, *glycerol*, *starch*, *S-ketogluconate*, *lactose*, *L-ascorbic acid*, *ascorbic acid*, dan *citrate* dimasukkan ke dalam botol kaca (volume 100 mL) berisi media Ayer's. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. 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, diinokulasi pada media Ayer's dengan cara jarum preparat ditusukkan sampai dasar tabung, diinkubasi pada suhu 28 °C selama 21 hari. Pengamatan dilakukan pada 2, 4, 7, 14 dan 21 hari terhadap perubahan warna media. Jika terjadi perubahan warna media dari warna asal, artinya bakteri mampu menggunakan bahan organik tersebut (Suharjo, 2013).

3.3.3.11 Uji Lechitinase

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media berbahan dasar YPA dan *egg yolk*. Bahan yang digunakan untuk membuat media YPA antara lain yaitu 10 g pepton, 5 g yeast, 20 g agar, dan 1000 mL, akuades. Pengujian ini dilakukan dengan memasukkan 0,5 mL *egg yolk* ke dalam cawan petri setelah itu ditambahkan 10 mL media YPA kemudian dihomogenkan sampai merata dan ditunggu sampai media menjadi dingin. Setelah itu diambil sebanyak satu ose isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam, lalu digoreskan pada media lechitinase. Kemudian bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C dan diamati selama 1 - 7 hari. Jika pada area goresan terdapat zona putih buram yang menyebar maka isolat tersebut menunjukkan lechitinase positif. Uji lechitinase bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menggunakan lechitin (Desnidasari, 2015).

3.3.3.12 Uji Arginine Dihydrolase (Moeller media)

Pengujian dilakukan menggunakan media moeller 21 g dan 1000 mL akuades, kemudian dihomogenkan. Setelah itu media dipanaskan menggunakan microwave dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu disterilkan menggunakan autoklaf. Pengujian dilakukan dengan mengambil bakteri yang berumur 24 jam

menggunakan jarum ent kemudian ditusukkan pada media moeller hingga ke dasar tabung kemudian ditambahkan minyak parafin steril. Setelah itu media moeller diinkubasi pada suhu 28 °C dan dilakukan pengamatan selama 7-14 hari. Apabila terjadi perubahan warna pada media dari merah kecoklatan menjadi warna ungu maka rekasi tersebut menunjukkan reaksi positif. Uji arginine dihydrolase dilakukan untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin (Suharjo, 2013).

3.3.4.13 Uji Kemampuan Tumbuh pada Beberapa Suhu

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media YP (*Yeast Pepton*) dengan bahan 10 g pepton, 5 g yeast, dan 1000 mL akuades. Selanjutnya diambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam kemudian disuspensikan ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 ml yang telah berisi air steril. Setelah itu suspensi diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media YP. Lalu bakteri diinkubasi didalam *waterbath* selama 3-7 hari yang dilakukan secara bergantian pada suhu 39 °C dan suhu 40 °C. Apabila terjadi perubahan warna media dari warna kuning menjadi putih keruh maka reaksi tersebut menandakan reaksi positif. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dapat tumbuh pada suhu 39 °C dan suhu 40 °C (Oktaviana, 2018).

3.3.3.14 Identifikasi Molekuler

Isolat bakteri terpilih diidentifikasi secara molekuler. Identifikasi molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis, visualisasi hasil PCR, sekuensing DNA, dan analisis hasil (Suharjo, 2013).

3.3.3.14.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan dengan memisahkan biakan bakteri dengan media *broth culture bacteria* ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL, ditambah 567 µL TE dan dihomogenkan. Sebanyak 30 mL SDS 10% + 3 µL proteinase K dimasukkan ke dalam tabung dan dihomogenkan. Suspensi kemudian diinkubasi di *dry incubator* pada suhu 37 °C selama 1 jam. Sebanyak 100 µL NaCl dimasukkan ke

dalam suspensi kemudian dihomogenkan secara manual, ditambahkan 80 μL CTAB 2%. Suspensi diinkubasi kembali di dalam *water bath* pada suhu 65 °C selama 10 menit. Sebanyak 720 μL CI (*Chloroform Isoamyl alcohol*; 24:25) ditambahkan dan dihomogenkan. Suspensi disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang baru. PCI (*Phenol Chloroform Isoamyl Alcohol*; 24: 25: 1) dengan volume yang sama dengan supernatan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* baru tersebut kemudian dihomogenkan, setelah itu disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Setelah selesai, supernatan dipindahkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL baru dan ditambahkan isopropanol 60% dari volume supernatan dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi di dalam *freezer* (suhu -40 °C) selama 20 menit. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan alkohol 70% dingin sebanyak 400 μL dan disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Alkohol dibuang dan pelet yang didapatkan diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah pelet kering, tube berisi pelet ditambahkan 20 μL TE. Untuk memastikan dapat atau tidaknya DNA maka dilakukan elektroforesis lalu divisualisasikan menggunakan Digi-Doc-Imaging System.

3.3.3.14.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan mesin PCR dengan cara memasukkan *Master Mix (Red Mix)* sebanyak 12,5 μL ke dalam tabung *ependorf* 100 μL , lalu ditambahkan primer 16S rDNA sebanyak 1 μL , larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 μL dan akuades steril 9,5 μL . larutan yang sudah dibuat selanjutnya diamplifikasi menggunakan mesin PCR, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahapan inisiasi merupakan tahapan yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit dalam 1 kali siklus, dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 1 menit, selanjutnya yaitu annealing pada suhu 58 °C selama 1 menit, dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit serta tahap terakhir yaitu elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit dalam 1 siklus.

3.3.3.14.3 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*. Setiap sumur diisi 3 μL hasil PCR. 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 (Oktaviana, 2018).

3.3.3.14.4 Sekuensing dan analisis hasilnya

Hasil PCR yang diperoleh dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk dilakukan sekuensing. Hasil sekuensing yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program MEGA 11.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Diperoleh enam isolat bakteri simbion lalat buah yang memiliki kemampuan antagonis terhadap patogen busuk buah jambu kristal (1.1(2)(1), 3.1(1), 3.1(2)(2), 4.2(1), B.1(2), C.1(1)(2)),.
2. Sebagian besar bakteri antagonis yang ditemukan bersifat gram positif, hipersensitif negatif, *soft rot* negatif, hipovirulen, fermentatif, pelarut fosfat, casein positif, lechitinase negatif, pendar fluoresens, arginine positif, mampu menggunakan beberapa bahan organik, dan mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C,.
3. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa identitas bakteri simbion lalat buah yang bersifat antagonis terhadap patogen busuk buah jambu kristal adalah *Pseudomonas aeruginosa* (isolat B.1(2)).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap kemampuan isolat terpilih dalam menekan pertumbuhan patogen secara *in planta*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, R., Aliza, D., dan Mellisa, S. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji mikrobiologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1 (2): 270-286.
- 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.
- Asia Farming. 2018. *Guava Cultivation Information Guide*.
<http://www.asiafarming.com/guava-cultivation/>. Diakses 10 Desember 2022.
- Badan Pusat Statistik. 2023. *Produksi Tanaman Buah - buahan*.
<https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NjIjMg==/produksi-tanaman-buah-buahan.html>. Diakses 29 Desember 2023.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., and, Passaglia, L.M.P. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*. 35(4): 1044 - 1051.
- Capuzzo, C., Firrao, G., Mazzon, L., Squartini, A., and Girolami, V. 2005. 'Candidatus *Erwinia dacicola*', a coevolved symbiotic bacterium of the olive fly *Bactrocera oleae* (Gmelin). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 1641 - 1647.
- Chandra, T.J. and Mani, P.S. 2011. A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. *Journal of Medical & Allied Sciences*. 1 (2) : 84-85.
- Damayanti, N.A. 2016. Potensi Pengembangan Tanaman Jambu Kristal (*Psidium guajava* L) berdasarkan Aspek Agroklimat. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Desnidarsari. 2015. Karakterisasi dan Uji Kisaran Inang Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Lunak pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L., Merr.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Eriza, S. 2015. Hama dan Penyakit Tanaman Jambu Kristal (*Psidium guajava* L.) di Agribusiness Development Station Cikarawang Bogor. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Evans, J. and Armstrong, T. 2006. Antagonistic interactions between honey bee bacterial symbionts and implications for disease. *BMC Ecology.*, 6 (4) : 1-9.
- Fadhilah, A., Susanti, S., dan Gultom, T. 2018. Karakterisasi tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L) di Desa Namoriam Pancur Batu Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya*. Universitas Negeri Medan. Tanggal, 12 Oktober 2018.
- Farahdiba, H. R. 2023. Potensi Lalat Buah yang Menyerang Jambu Kristal sebagai Pembawa Bakteri Patogen Tanaman. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hasanuddin. 2011. Uji aktivitas antibiosis pseudomonads pendarfluor terhadap *Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) Imazeki penyebab penyakit akar putih. *J. HPT Tropika*. 11(1) : 87-94.
- Ippolito, A. and Nigro, F. 2000. Impact of postharvest of biological control agents on postharvest disease of fresh fruit and vegetables. *Crop Prot.* 19: 715-723.
- Istiqomah. dan Kusumawati, D.E. 2018. Pemanfaatan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* dalam pengendalian hayati *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tomat. *Jurnal Agro*. 5 (1) : 1-12.
- Jannah, R. 2016. Pengaruh Aplikasi Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Produktivitas Tanaman Padi yang Terinfeksi Penyakit Blas sebagai Referensi Mata Kuliah Mikrobiologi. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Banda Aceh.
- Karkachi, N.E., Gharbi, S., Kihal, M., and Henni, J.E. 2010. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolated from algerian tomato by *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens* and *Trichoderma harzianum*. *Research Journal of Agronomy*. 4 (2): 31-34.
- Karpagam, 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.
- Kusumawardhany, D. 2013. Potensi Kitosan, Khamir, Aktinomiset dan Kombinasinya dalam Menghambat Busuk Antraknosa (*Colletotrichum*

gloeosporioides (Penz.) Sacc.) Buah Jambu Kristal. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Mahendra, I.G.J., Rai, I.N. dan Wiraatmaja, I.W. 2017. Upaya meningkatkan produksi dan kualitas buah jambu biji kristal (*Psidium guajava* L. cv. Kristal) melalui pemupukan. *Jurnal AGROTROP*. 7 (1): 60-68.
- 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.
- Morton, J. 1987. Guava. Di dalam: Morton, J.F. and, Miami, F.L., (Eds.) *Fruits of Warm Climates. Creative Resources Systems*. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/guava.html>. Diakses 7 April 2015.
- Muharni, Juswardi, dan Prihandayani, I. 2013. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Protease dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan*. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Nurhayati. 2010. *Senarai Istilah-istilah Mikologi*. UNSRI Press. Palembang.
- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Mati Pucuk pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Oviana, T., Aeny, T.N., dan Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220 – 225.
- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining gram reaction of foodborne and waterborne bacteria and yeast. *Applied Environment Microbiology*. 61(10): 3756-3758.
- Pradana, A.P., Putri, D. dan Munif, A. 2015. Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman adam hawa dan potensinya sebagai agens hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11 (3): 73-78.
- Pratidina, R., Syamsun, M., dan Wijaya, N. H. 2015. Analisis pengendalian mutu jambu kristal dengan metode Six Sigma di ADC IPB-ICDF Taiwan Bogor. *Jurnal Manajemen dan Organisasi*. 1(6): 1-3.
- Ramadhani, V.C. 2022. Penggunaan Pestisida dalam Pengendalian Hama dan Penyakit pada Pertanaman Jambu Kristal (*Psidium guajava* L.) di Kabupaten Bogor. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Saputra, T.W., Muhlison, W., Ristiyana, S., Purnamasari, I., dan Wijayanto, Y. 2022. Perlindungan buah jambu kristal dari serangan lalat buah sebagai optimalisasi kualitas di Desa Tamanagung Kecamatan Cluring Kabupaten Banyuwangi. *DINAMISIA: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 6(4): 1101-1108.
- Saraswati, L. 2021. Karakterisasi dan Potensi Bakteri yang Berasosiasi dengan Arthropoda pada Pertanaman Jagung sebagai Pengendali Hayati *Dickeya zea*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sharma, .S.B., Sayyed, .R.Z., Trivedi, .M.H., and Gobi, T.A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* 2(1): 587 - 600.
- Skowronek, M., Sajnaga, E., Pleszczyńska, M., Kazimierczak, W., Lis, M., and Wiater, A. 2020. Bacteria from the midgut of common cockchafer (*Melolontha melolontha* L.) larvae exhibiting antagonistic activity against bacterial symbionts of entomopathogenic nematodes: isolation and molecular identification. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(580): 1-18.
- Suharjo, R. 2013. Studies on the Taxonomy and Identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. isolated in Japan. PhD. *Thesis*. Shizouka University., Shizouka.
- Supriyanto. 2009. Penapisan PGPF untuk pengendalian penyakit busuk lunak lidah buaya (*Aloe vera*) di Tanah Gambut. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15 (2): 71-82.
- Susanna. 2000. Analisis Introduksi Mikroorganisme Antagonis untuk Pengendalian Hayati Penyakit Layu (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) pada Pisang (*Musa sapientum* L.). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Syahfari, H. dan Mujiyanto. 2013. *Identifikasi hama lalat buah (Diptera: Tephritidae) pada berbagai macam buah-buahan*. Fakultas Pertanian Universitas 17 Agustus 1945. Samarinda.
- Tito, I. M. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik yang Terdapat pada Cangkang Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Yuliasari, M.M., Kawuri, R., dan Proborini, M.W. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada buah stroberi (*Fragaria x ananassa*). *Jurnal Metamorfosa II* (1): 23-28.

Zheng, K., Su, X., Xue, Z., Zhang, L., Chen, Y., Wu, K., Li, T., Zhang, Z., and Zhao, Z. 2022. First report *Stenotrophomonas maltophilia* causing root soft rot of sanqi (*Panax notoginseng*) in China. *Plant Disease*. 106(2): 774-775.

Zohra, R.R., Siddiqui, A., Syed, B., Saleem, M., and Shahid, H. 2021. *Stenotrophomonas maltophilia*: novel biopolymer producing plant pathogen. <https://www.researchsquare.com/article/rs-474691/v1>. Diakses 05 Desember 2023.