



ISBN : 978-979-16109-5-7

Prosiding

SEMINAR NASIONAL MIKOLOGI dan PEMBENTUKAN PERHIMPUNAN MIKOLOGI INDONESIA

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu mosaik;
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Editor :

Dr. Nuniek Ina Ratnaningtyas, M.S.

Drs. Aris Mumpuni, M.Phil.

Drs. Uki Dwiputranto, M.Sc.

Dra. Nuraeni Ekowati, M.S.

Juni Safitri, S.Si., M.Si.

Dra. Gratiana E W, M.rep.Sc.,Ph.D.

Dr. Agus Nuryanto, S.Si., M.Si.

Ratna Stia Dewi, S.Si., M.P.

Drs. Untung Susilo, M.S

*"Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya
Hayati Fungi"*

Purwokerto, 15 – 16 Mei 2012

FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDERMAN

Jl. Dr. Suparno No. 63 Grendeng

Purwokerto 53122

Telp. (0281) 631700

Fax. (0281) 631700





	Halaman
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Makalah “Key Note Speakers” dan Pembicara Sesi Pleno :	
Dr. Ir. Yul H. Bahar	1
Prof. Dr. Ir. S.M. Widyastuti, M.Sc.....	10
Dr.Ir.Lisdar I Sudirman	19
Iman Hidayat Ph.D.	28
Dr. I Nyoman P. Aryantha.....	36
Ir. H. Triyono Untung Priyadi	52
Makalah Sesi Paralel :	
Tema 1 Ekologi Fungi	61
Tema 2 Mikologi Pangan	142
Tema 3 Mikologi Kesehatan	248
Tema 4 Mikologi Pertanian	487
Makalah Poster	655

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Makalah Sesi Paralel Tema IV : Mikologi Pertanian

No.	Judul dan Author	Halaman
1.	“Karakteristik Phytophthora palmivora patogen busuk buah dan kanker batang tanaman kakao di Indonesia” (Abu Umayah)	443
2.	“Uji Pertumbuhan Isolat Jamur Kuping (<i>Auricularia spp</i>) pada media Agar dan Serelia” (Aris Mumpuni dan Purnomowati)	452
3.	“Pengendalian Penyakit Antraknosa pada Bibit Skubung (<i>Maccaranga gigantea Muell.Agr.</i>) di Persemaian Balai Penelitian Teknologi Serat Tanaman Hutan Kuok-Riau” (Avry Pribadi, Illa Anggraeni dan Nina Mindawati)	463
4.	“Keefektifan Asam Humat Dan Bakteri Aktivator Pada Kompos Untuk Pengendalian Rebah Kecambah Oleh <i>Schlerotium rolfsii Sacc.</i> Pada Kacang Tanah” (Bonny P.W. Soekarno, Surono dan Arni Rahmania)	472
5.	“Pemanfaatan Mikroorganisme Antagonis Untuk Mengendalikan Penyakit Penting Pada Tanaman Karet” (Cici Indriani Dalimunthe, Zaida Fairuzah Dan Aidi-Daslin)	482
6.	“Pemanfaatan Bakteri Endofit Untuk Meningkatkan Ketahanan Tanaman Lada (<i>Piper nigrum L.</i>) Terhadap Busuk Pangkal Batang (BPB) Serangan <i>Phytophthora capsici Leon</i> Penyebab Penyakit” (Dian Safitri, Bonny BPW Soekarno, Achmad dan Surono)	489
7.	“Identifikasi Molekuler sebagai Metode Tepat untuk Karakterisasi Spesies <i>Trichoderma</i> ” (Elika Joenierti)	500
8.	“Deteksi Jamur pada Kacang-kacangan di Beberapa Pasar Tradisional Purwokerto dan sekitarnya” (Endang Sri Purwati)	509
9.	“Vascular Streak Dieback, Ancaman Pengembangan Kakao di Indonesia” (Herry Wirianata)	518
10.	“Pengaruh Ukuran Substrat terhadap Perkembangan Penyakit Busuk Pangkal Batang pada Kelapa sawit” (Herry Wirianata, Elisabeth Nanik K. dan Hana Christine Sinthya)	525



**PEMANFAATAN BAKTERI ENDOFIT
UNTUK MENINGKATKAN KETAHANAN TANAMAN LADA (*Piper
nigrum* L.) TERHADAP SERANGAN *Phytophthora capsici* Leon
 PENYEBAB PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG (BPB)**

Dian Safitri¹, Bonny BPW Soekarno¹, Achmad², Surono³

¹Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutinan, Institut Pertanian Bogor

³Keliti Biologi dan Kesehatan Tanah, Balai Penelitian Tanah, Badan Litbang Pertanian

ABSTRACT

Phytophthora capsici as causal agent of Basal stem rot (BSR) disease of black pepper (*Piper nigrum*) is main pathogen of this plant. This research was carried out to investigate some endophytic bacteria to control *P. capsici*. The methods were included (1) exploration and identification of endophytic bacteria, (2) antagonism testing of endophytic bacteria to *P. capsici* by in vitro and in vivo. The results showed that 134 endophytic bacteria had been isolated from the leaves and roots of black pepper and 3 isolates had been selected based on the highest antibiosis in antagonism test by in vitro, they are DJ4, AN21, and DJ8. The incubation period of endophytic bacteria treatment was longer than control treatment, 12-15 days after inoculation (dai) and 10 dai, respectively. The application of endophytic bacteria was able to suppress BSR disease from 51.95% to 95.63% in black pepper seedlings and the disease severity in ranged of 1,28%-29,35%. The highest microbial diversity index value reached 0.65 isolates were AN21 and fungicide that is able to lower organic matter content and have the lowest diversity index 0.31. Molecular characterization based on the sequence partial of 16S rRNA, 3 isolates of endophytic bacteria (DJ4, AN21, and DJ8) were identified as *Agrococcus jeunensis*, *Delfitia tsuruhanenensis*, and *Bacillus licheniformis*, respectively. These bacteria were not phytopathogen.

Keywords : Black pepper, endophytic bacteria, *P. capsici*

PENDAHULUAN

Penyakit Busuk Pangkal Batang (BPB) yang disebabkan oleh cendawan *P. capsici* merupakan penyakit paling penting pada tanaman lada (*Pipper nigrum*). Penyakit tersebut sudah menyebar di berbagai daerah penanaman lada di Indonesia. Kerugian hasil yang ditimbulkan oleh adanya penyakit BPB pada tanaman lada dapat mencapai 40% setiap tahun. Penyakit ini juga menjadi kendala utama di negara-negara penghasil lada seperti India, Malaysia dan Brasil. *P. capsici* dapat menyerang hampir semua bagian tanaman lada, namun yang paling berbahaya adalah serangan pada akar dan pangkal batang (Manohara dan kasim 1996).

Sampai saat ini belum ada cara efektif untuk mengendalikan penyakit BPB. Salah satu penyebabnya adalah sifat patogen yang mampu bertahan hidup di dalam tanah sebagai saprob dan dapat mematikan tanaman lada dengan cepat



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

(Manohara 2007). Penggunaan varietas tahan atau fungisida sebagai cara pengendalian yang banyak digunakan ternyata memiliki banyak kelemahan. Sifat tanaman lada sebagai tanaman tahunan dan adanya variasi virulensi pada populasi *P. capsici* yang menyerang lada, menyebabkan perakitan varietas lada berproduksi tinggi dan tahan BPB memerlukan waktu yang lama (Wahyuno *et al.* 2010) sedangkan penggunaan fungisida akan menambah pencemaran lingkungan. Untuk itu perlu dicari teknik pengendalian penyakit yang efektif, kompatibel, dan berkelanjutan.

Indonesia memiliki keanekaragaman mikroba yang sangat tinggi dan banyak diantaranya berpotensi sebagai agens pengendali hidup (Supriadi 2006), salah satunya adalah kelompok bakteri endofit. Beberapa bakteri endofit meliputi *Psedomonas aeruginosa*, *P. putida*, dan *Bacillus megaterium* mampu menekan perkembangan penyakit BPB pada tanaman lada di India secara *in vitro* (Aravind *et al.* 2008). Bakteri endofit sangat sinergistik dengan inang, sebagian dari endofit mampu membuat kembali nutrisi dari tanaman dengan cara menghasilkan senyawa khusus, seperti metabolisme sekunder, untuk melindungi inangnya dari serangan cendawan dan hama (Taechowisan *et al.* 2005). Namun demikian, potensi bakteri endofit dalam menekan patogen ditingkat *in vitro* tidak selalu sama kemampuannya ditingkat *in vivo* (Fravel 1988).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi dan mengidentifikasi bakteri endofit dari beberapa varietas tanaman lada yang mampu menekan perkembangan penyakit BPB serta menguji daya penekanan bakteri endofit terhadap penyakit BPB secara *in vitro* dan *in vivo* pada bibit tanaman lada. Hasil penelitian ini diharapkan dapat diapresiasi di lapang, untuk menekan keparahan penyakit BPB pada tanaman lada.

BAHAN DAN METODE

Eksplorasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit diisolasi dari daun dan akar tanaman lada pada tiga jenis varietas yaitu varietas Natar, Petaling, dan Jambi yang berasal dari Lampung Utara. Isolasi dilakukan menggunakan metode pengenceran berseri dengan dua media tumbuh yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Nutrient Agar* (NA) (Kim *et al.* 1997).

Uji Antagonisme Secara *In Vitro*

Penyediaan Isolat Patogen (*P. capsici*). Isolat cendawan *P. capsici* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi laboratorium Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor. Isolat cendawan ditumbuhkan pada media *vegetable* 8 (V8) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari sebelum diperlakukan untuk pengujian terhadap bakteri endofit yang telah diseleksi (Manohara 2007).

Seleksi Bakteri Endofit. Isolat bakteri yang diperoleh dari hasil eksplorasi di lapang, diseleksi potensi antagonismenya terhadap cendawan *P. capsici* dengan metode biakan ganda pada media PDA (Cook dan Backer 1974). Isolat bakteri endofit digores pada media PDA di dalam cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam, dilanjutkan dengan inokulasi cendawan *P. capsici* disisi kanan dan kiri goresan bakteri. Potensi antagonisme ditunjukkan dengan terbentuknya zona penghambatan diantara koloni *P. capsici* dan koloni bakteri. Data yang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Uji Bakteri Endofit Terhadap *P. capsici* pada Bibit Lada Secara *In Vivo*

Persiapan Isolat Bakteri Endofit dan Media Tanam. Bakteri endofit terpilih dibiakkan pada media cair *Luria Berthani* (LB) kemudian diinkubasi bergoyang dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang selama 72 jam (Schaad dan chun 2001), yang telah dimodifikasi. Bibit lada ditanam menggunakan media tanah yang telah ditambahkan kompos dengan perbandingan 2 : 1. Bibit lada yang digunakan adalah varietas Natar yang berumur 2 bulan.

Perlakuan dan Pengamatan. Perlakuan yang digunakan pada pengujian ini meliputi: aplikasi bakteri endofit secara tunggal, kombinasi antar isolat, aplikasi fungisida, dan kontrol tanpa aplikasi bakteri dan fungisida dengan 4 ulangan dan 5 sub unit bibit tanaman lada pada setiap ulangan. Inokulasi bakteri endofit dilakukan dengan cara menginjeksikan 10 ml suspensi bakteri (kerapatan 10^8 CFU/ml) ke bagian perakaran bibit tanaman lada (Husda 2011), sedangkan aplikasi fungisida berbahan aktif propineb 70% dilakukan dengan metode penyiraman pada perakaran sesuai dosis anjuran. Sepuluh hari setelah aplikasi bakteri endofit atau 5 hari sebelum aplikasi fungisida, diinokulasikan biakan *P. capsici* berumur 7 hari dalam bentuk suspensi dengan kepadatan populasi 10^4 dengan cara injeksi pada bagian perakaran tanaman lada. (Manohara 1988) yang dimodifikasi.

Tabel 1 Rumus penghitungan nilai kejadian penyakit, penekanan penyakit, keparahan penyakit, dan perkembangan penyakit

Pengitungan	Rumus	Keterangan
Kejadian penyakit	$KjP = \frac{a}{a+b} \times 100\%$	KjP : kejadian penyakit (%) a : jumlah tanaman yang bergejala bercak b : jumlah tanaman sehat
Penekanan penyakit	$PnP = \frac{a-b}{a} \times 100\%$	PnP : penekanan penyakit (%) a : keparahan penyakit pada kontrol b : keparahan penyakit pada perlakuan
Keparahan penyakit (Townsend & Hueberger) dalam Unterstenhofer 1963)	$KpP = \frac{\sum_{i=1}^4 (n_i \times v_i)}{z \times N} \times 100\%$	KpP : keparahan penyakit Ni : jumlah tanaman yang terinfeksi pada setiap kategori v_i : nilai numerik masing-masing kategori serangan Z : nilai numerik kategori serangan tertinggi N : jumlah tanaman yang diamati AUDPC: Area Under Disease Progress Curve y_{i+1} : data pengamatan ke- $i+1$ y_i : data pengamatan ke- i t_{i+1} : waktu pengamatan ke- $i+1$ t_i : waktu pengamatan ke- i
Perkembangan penyakit van der Plank (1963) dalam Cooke et al. (2006)	$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) + (t_{i+1} - t_i)$	A : Keefektifan pengendalian oleh agens biokontrol I B : Keefektifan pengendalian oleh agens biokontrol II $E_{(exp)}$: Keefektifan pengendalian dugaan oleh campuran agens biokontrol. $E_{(obs)}$: Keefektifan pengendalian oleh campuran berdasarkan hasil pengamatan menghasilkan.
Synergy Factor Abbott's (Guetsky et al. 2002)	$E_{(exp)} = a+b-ab/100$ $SF(\text{synergy Factor}) = E_{(obs)}/E_{(exp)}$	

Sinergisme antar isolat bakteri yang diuji dihitung, dengan menggunakan rumus Abbott's (Guetsky et al. 2002), bedasarkan rumus Abbott's (Guetsky et al.

2002). Berdasarkan rumus tersebut apabila nilai faktor sinergi kurang dari 1, maka jenis hubungan antar isolat bakteri bersifat antagonis.

Pengamatan yang dilakukan meliputi masa inkubasi, kejadian penyakit, penekanan penyakit, keparahan penyakit, dan perkembangan penyakit. Penghitungan kejadian penyakit, penekanan penyakit, keparahan penyakit, dan perkembangan penyakit (Tabel 1). Keparahan penyakit diamati 1 minggu setelah inokulasi isolat *P. capsici* dengan melihat gejala bercak daun pada masing-masing perlakuan kemudian diprediksi nilai skorinya berdasarkan kriteria Holliday & Mowat (1963) yang dimodifikasi (Tabel 2).

Tabel 2 Nilai skoring gejala bercak daun *Phytophthora capsici* pada daun lada

Hak cipta milik IPB	Skala	Skoring
	0	Tanaman sehat, daun tampak berwarna hijau segar
	1	$\leq 5\% \times 15\%$ dari luas daun
	2	$15\% \times 30\%$ dari luas daun
	3	$30\% \times 50\%$ dari luas daun
	4	> 50% dari luas daun

Sumber: Holliday & Mowat (1963).

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit

Identifikasi Bakteri Endofit. Isolat bakteri endofit terpilih diidentifikasi secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA. Ekstraksi DNA bakteri dilakukan menggunakan kit Genead™. Amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal 27F (5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'). Campuran PCR dipersiapkan dalam volume 5 µl yang mengandung 1 µl ekstrak DNA, 1 µl primer 27F 10 pmol, 1 µl primer 1492R 10 pmol, 12.5 µl mix (KAPA Taq ready mix), dan 9.5 µl dH₂O. Amplifikasi DNA dilakukan pada mesin PCR dengan suhu denaturasi awal 95 °C selama 1 menit, (suhu denaturasi 95 °C selama 1 menit, penempelan primer 55 °C selama 1 menit, ekstensi 72 °C selama 1 menit 30 detik) sebanyak 30 siklus, dan suhu ekstensi akhir 72 °C selama 5 menit. Produk PCR divisualisasi dengan elektroforesis pada gel agarose 1% (mengandung EtBr dalam TAE 1%) pada tegangan 75 V selama 40 menit. Produk PCR tersebut kemudian disequensing di laboratorium 1st Base Singapura menggunakan mesin DNA sekuerensi otomatis Applied Biosystem Prism 3100 dan kemudian dicari padanan sekuen 16S rRNA yang homolog pada DNA database GenBank dengan menggunakan program Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) dari National Centre for Biotechnological Information (NCBI).

Karakterisasi Bakteri Endofit. Isolat bakteri terpilih dilakukan karakterisasi meliputi morfologi koloni, uji gram menggunakan KOH 3%, penambat nitrogen, pelarut fosfat, dan reaksi hipersensitif pada tanaman tembakau.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang



Eksplorasi dan Seleksi Bakteri Endofit secara *In Vitro*

Hasil eksplorasi bakteri endofit dari akar dan daun pada tanaman lada dari varietas Natar, Petaling, Jambi diperoleh 134 isolat bakteri endofit, 29 isolat berasal dari varietas Petaling, 38 isolat berasal dari varietas Jambi, dan 67 isolat berasal dari varietas Natar. Setelah bakteri dilakukan uji antagonisme antara isolat bakteri uji terhadap *P. capsici* secara *in vitro* diperoleh 7 isolat memiliki daya hambat terhadap *P. capsici* di atas 30% (Tabel 3).

Tabel 3 Persentase daya hambat 3 isolat bakteri endofit terhadap *P. capsici*

Kode isolat	Keterangan asal isolate	Rerata daya hambat (%)
Kontrol	Isolat <i>P. capsici</i> tanpa bakteri endofit	0,00d
DJ4	Daun, varietas Jambi isolat ke- 4	67,09a
DN3	Daun, varietas Natar isolat k-3	36,67c
DN6	Daun, varietas Natar isolat ke-6	38,00c
DJ8	Daun, varietas Jambi isolat ke-8	52,36ab
DN4	Daun, varietas Natar isolat ke-8	45,33bc
AN21	Akar, varietas Natar isolat ke-21	70,88a
AP7	Akar, varietas Petaling isolat ke- 7	35,00c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan uji selang Duncan pada taraf signifikansi 5%

Tiga bakteri endofit yang memiliki persentase daya hambat tertinggi yaitu DJ4, AN21, dan DJ8 dipilih sebagai isolat yang akan digunakan dalam percobaan. Ketiga bakteri endofit ini mampu menghambat pertumbuhan koloni *P. capsici*, berturut-turut (67,09%;70,88%;52,36). Penghambatan tersebut ditandai adanya zona bening diantara koloni bakteri uji dengan koloni *P. capsici*. Penekanan pertumbuhan konidia *P. capsici* yang disebabkan oleh senyawa anticendawan yang dihasilkan oleh bakteri uji. Berdasarkan percobaan Chet, (1987) dilaporkan adanya Aktivitas senyawa antipatogen yang dihasilkan oleh bakteri. Sedangkan percobaan yang di lakukan oleh Paul *et al*, 2005 cendawan patogen dihancurkan secara enzimatik oleh β -1,3 glucanas, β -1,4 glucanases, dan lipase yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas flourescen*. Hasil penelitian Kamil (2007), menunjukkan bahwa *Bacillus licheniformis* menghasilkan enzim kitinase yang dapat mendegradasi dinding sel *P. capsici* dan *Phytiun* spp. Selain daripada itu bakteri berperan sebagai kompetitor terhadap cendawan patogen melalui

kompetisi makanan, parasitisme dan ISR (*Induce Systemic Resistant*) (Chair, 1998).

Uji bakteri Endofit Terhadap *P. capsici* pada Bibit Lada Secara *In Vivo*

Pada penelitian yang dilakukan, masa inkubasi *P. capsici* pada bibit lada yang diberi perlakuan bakteri uji secara tunggal, kombinasi antar bakteri uji, dan perlakuan fungisida (kontrol positif), menunjukkan rerata masa inkubasi yang lebih panjang (12 -14 hari) dibandingkan dengan kontrol negatif (10 hari). Dengan demikian, perlakuan penambahan isolat bakteri endofit secara tunggal (DJ4, AN21 dan DJ8), maupun kombinasi (DJ4+DJ8 dan AN21+DJ8) mampu memperpanjang masainkubasi *P. capsici*. Sedangkan penambahan isolat secara kombinasi (DJ4+AN21 dan DJ4+AN21+DJ8), tidak memberi pengaruh yang nyata terhadap masa inkubasi *P. capsici* dibanding dengan kontrol positif.

Pada pengujian secara *in vivo*, penambahan isolat bakteri uji secara tunggal maupun secara kombinasi, mampu menekan kejadian penyakit BPB pada tanaman lada dibandingkan dengan kontrol negatif maupun kontrol positif. Bahkan perlakuan isolat bakteri DJ4 (A) secara tunggal, mampu menekan kejadian penyakit BPB secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. tingkat kejadian penyakit penambahan isolat bakteri uji secara tunggal, lebih rendah secara nyata (1,28%-7,69%) dibandingkan dengan perlakuan bakteri secara kombinasi (7,69%-14,10%). Meskipun perlakuan bakteri secara kombinasi menunjukkan tingkat kejadian penyakit yang lebih tinggi, dibandingkan dengan perlakuan bakteri uji secara tunggal, namun, tingkat kejadian penyakit tersebut masih lebih rendah dibandingkan kontrol negatif (36,11%). Dengan demikian, semakin panjang masa inkubasi penyakit pada tanaman lada maka semakin tahan tanaman tersebut terhadap BPB pada tanaman lada dan sebaliknya.

Tabel 4 Pengaruh aplikasi bakteri endofit terhadap masa inkubasi, kejadian penyakit, keparahan penyakit, penekanan penyakit, dan perkembangan penyakit BPB.

Perlakuan	Rerata masa inkubasi pada hari ke-	Kejadian penyakit (%) pada minggu ke-7	Keparahan penyakit (%) pada minggu ke-7	Penekanan keparahan penyakit (%) pada minggu ke-7	Rerata AUDPC
K(-)	10,00b	36,11a	29,35a		547,96
A	15,00a	1,28b	1,28b	95,63	49,28
B	14,33a	7,69ab	7,69ab	73,79	251,20
C	14,00a	7,69ab	7,69ab	73,79	296,07
AB	10,66b	14,10ab	13,70ab	55,16	430,26
AC	14,00a	14,10ab	7,69ab	73,79	296,07
BC	14,00a	14,10ab	5,69ab	80,64	157,26
ABC	12,00ab	7,69ab	14,10ab	51,95	497,98
K (+)	14,00a	14,10ab	14,10ab	51,95	542,85

Keterangan : A; B; C; AB; AC; BC; dan ABC berturut-turut adalah perlakuan bakteri endofit isolat DJ4; AN21; DJ8; DJ4 dan AN21; DJ4 dan DJ8, AN21 dan DJ8; DJ4, AN21, dan DJ8. K (-) adalah kontrol tanpa perlakuan bakteri endofit dan fungisida. K (+) adalah perlakuan fungisida. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan uji selang Duncan pada taraf signifikansi 5% dan data telah ditransformasi menggunakan arc sin+0,5 untuk kejadian penyakit, keparahan penyakit.

Perlakuan penambahan isolat DJ4 secara tunggal pada substrat tumbuh tanaman lada, mampu menekan tingkat keparahan penyakit BPB secara signifikan sebesar 95.63% sehingga, tingkat keparahan penyakit BPB mencapai 1.28%. Meskipun pada perlakuan isolat bakteri uji DJ4 tingkat keparahan penyakit BPB paling rendah, tetapi tidak berbeda nyata dengan kontrol positif dan perlakuan bakteri uji lainnya yaitu AN21 dan DJ8 baik secara tunggal maupun secara kombinasi. Secara umum, penambahan bakteri secara tunggal mampu menekan tingkat keparahan penyakit (73.79%-95.63%), dibandingkan dengan perlakuan bakteri secara kombinasi (55.16% - 80.63%) pada (tabel 4). Hasil penelitian Habazar dan Rivai (2004), menunjukkan bahwa mekanisme ketahanan pasif (*preformed resistance*) dapat dibentuk karena adanya induksi dari Strain bakteri endofit yang diseleksi. Kloeppe dan Ryu (2006), melaporkan bahwa strain bakteri endofit dapat menjadi *elicitor* induksi ketahanan sistemik pada tanaman, dengan mendorong penekanan kejadian penyakit tanaman.

Hasil perhitungan menggunakan rumus Abbott's menunjukkan bahwa isolat bakteri DJ4, memiliki sifat antagonis, dimana ketika isolat bakteri DJ4 dikombinasikan dengan isolat bakteri uji lainnya yaitu AN21 dan DJ8, akan menunjukkan jenis hubungan yang bersifat antagonis. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut isolat bakteri DJ4 akan lebih baik jika diaplikasikan secara tunggal. Hasil penelitian Arwiyanto & Hartana (1999), menyimpulkan bahwa, kombinasi antara bakteri antagonis *P. fluorescens* Pf20 dengan *B. subtilis* Ba118 mampu memperparah munculnya penyakit layu pada tembakau. Sedangkan, pada perlakuan kombinasi antara *P. fluorescens* (pf33) dengan *P. fluorescens* (Pf15) bersifat antagonis yang menunjukkan indeks penyakit yang tinggi. Sedangkan, pada perlakuan kombinasi isolat bakteri AN21+DJ8, memiliki jenis hubungan yang aditif (tabel 5).

Tabel 5. Keefektifan pengendalian (Index Penekanan), nilai SF (Synergy Factor) dan jenis hubungan antar agens biokontrol berdasarkan nilai indeks penekanan.

Perlakuan	Index penekanan (%) ¹⁾	E _(exp) ²⁾	SF	JH ³⁾
K (-)	1.28			
DJ4	95.63	98.855		
AN21	73.79	93.13		
DJ8	73.79	88.247		
DJ4AN21	55.16	88.247	0.60	A
DJ4DJ8	73.79	94.926	0.88	A
AN21DJ8	80.64	90.698	1	Aditif
DJ4DJ8AN21	51.95	58.725	0.88	A
(+)	51.95	14.1		

Keterangan : ¹⁾ Relatif dibandingkan dengan kontrol.

²⁾ Keefektifan pengendalian dugaan oleh campuran agens biokontrol.

³⁾ JH = Jenis Hubungan; A = antagonis dan S = sinergis.

Aktivitas Peroksidase Pada Bibit tanaman Lada.

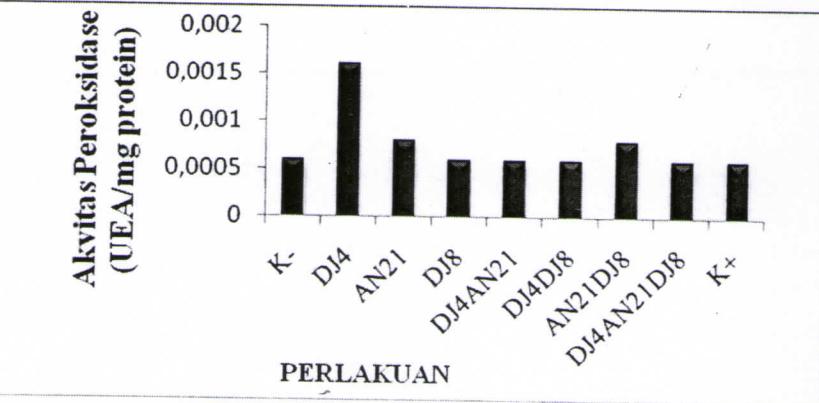
Hasil pengujian peroksidase, menunjukkan bahwa penambahan isolat bakteri secara tunggal DJ4 dan AN21, serta kombinasi (AN21+DJ8) akan meningkatkan kadar peroksidase pada tanaman lada. Kadar peroksidase yang paling tinggi tercapai pada DJ4 secara tunggal (0,0016 unit per gram sampel daun), dibandingkan dengan bakteri AN21 secara tunggal (0.0008 unit per gram

sampel daun), dan kombinasi AN21+DJ8 (0,0008 unit per gram sampel daun), serta kontrol negatif dan positif (0,0006 unit per gram sampel daun). Peningkatan kadar peroksidase menyatakan ketahan tanaman semakin tinggi tingkat peroksidase maka semakin tahan tanaman tersebut. Sedangkan pengamatan pada rumah kaca, secara tunggal menunjukkan penekanan penyakit BPB yang paling tinggi terjadi pada perlakuan isolat bakteri DJ4, dibandingkan dengan perlakuan isolat AN21 secara tunggal (73,79%), dan kombinasi isolat AN21+DJ8 (80.64%). penelitian Soekarno *et al.* (2009), Penambahan isolat bakteri *Pseudomonas* sp SR2C3R1 dan asam fulvat mampu meningkatkan kadar peroksidase pada tanaman mentimun yaitu sebesar 8.735×10^{-3} dan 1.764×10^{-3} unit per gram sampel. Sehingga menekan perkembangan penyakit rebah kecambah yaitu sebesar 100%.



Hak Cipta

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)



Gambar 1. Aktivitas enzim pertahanan pada bibit tanaman lada setelah perlakuan bakteri endofit isolat DJ4; AN21; DJ8; DJ4 dan AN21; DJ4 dan DJ8, AN21 dan DJ8; DJ4, AN21, dan DJ8. K (-) adalah kontrol tanpa perlakuan bakteri endofit dan fungisida. K (+) adalah perlakuan fungisida.

Analisis Keragaman Mikroba dan Kimia Tanah Sebelum dan Sesudah Aplikasi Bakteri Endofit pada Bibit Lada.

Hasil analisa menunjukkan penambahan isolat bakteri uji DJ4, AN21, dan DJ8 secara tunggal, maupun secara kombinasi antara bakteri tersebut akan meningkatkan indeks keragaman mikroba tanah (0,55-0,51), dibandingkan dengan kontrol negatif (0,46) dan kontrol positif (0,31). Pada perlakuan kontrol positif yaitu pemberian fungisida nilai indeks keragaman mikroba lebih rendah dikarenakan adanya senyawa aktif dari penambahan fungisida yang dapat membunuh sebagian dari jenis mikroba. Sieverding (2001), melaporkan bahwa penggunaan fungisida sistemik benomyl mampu mematikan agens biokontrol *Trichoderma*, *Penicilium*, *Aspergillus*. Wooton *et al.*, (1993). Serta fungisida sebagian dari pestisida dan fungisida berinteraksi dengan mikroorganisme dalam tanah dan rizosfer.

Hasil analisis kimia tanah berbading lurus dengan nilai indeks keragaman mikroba. Semakin tinggi nilai analisis kimia tanah maka semakin tinggi keragaman mikroba dan meningkatkan bahan organik tanah. Hasil penelitian Hardjowigeno (2007), menunjukkan bahwa, semakin tinggi keragaman mikroba pada tanah akan mempengaruhi penambahan bahan organik tanah dan ketersediaan unsur hara. Dengan demikian, semakin tinggi populasi mikroorganisme

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB. 2. Dilarang mengumumkan dan memperbarui sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

dalam tanah, maka kehidupan biota dalam tanah tersebut semakin seimbang. Sehingga, memberi kondisi yang lebih baik untuk pertumbuhan tanaman dan akan menekan perkembangan mikroorganisme patogen. Selain itu jumlah populasi mikroorganisme tanah, akan mempengaruhi mekanisme produksi toksin, kompetisi unsur hara, dan dapat menginduksi resistensi tanaman, (Wahyuni 2002). Hasil penelitian Kasim (1981) pada tanaman lada menunjukkan bahwa kadar bahan organik yang tinggi dalam tanah akan meningkatkan populasi mikroba antagonis, sehingga perkembangan *P. capsici* dapat tertekan.

Tabel 6 Indeks keragaman mikroba dan analisis kimia tanah pada tanah kontrol dan perlakuan isolate bakteri endofit pada rumah kaca.

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)	Perlakuan	Biologi tanah		Analisis kimia				pH
		Indeks Keragaman	P tersedia (ppm)	K tersedia (ppm)	N (jeldahl) (%)	C-organik (%)	Bahan Organik	
Sebelum aplikasi	0,42	145	340	0,21	2,76	4,9	5,49	
Setelah aplikasi :								
K(-)	0,51	128	169	0,27	2,90	4,9	5,9	
A	0,62	104	623	0,23	2,43	4,2	5,5	
B	0,65	155	1654	0,33	3,43	5,9	5,4	
C	0,56	53,5	613	0,23	2,16	3,7	5,1	
AB	0,58	135	831	0,23	2,57	4,4	5,4	
AC	0,60	123	1064	0,25	2,83	4,9	5,9	
BC	0,55	128	734	0,21	2,38	4,1	5,4	
ABC	0,46	108	756	0,23	2,53	4,4	5,5	
K (+)	0,31	138	634	0,27	1,70	2,9	5,5	

Keterangan : A; B; C; AB; AC; BC; dan ABC berturut-turut adalah perlakuan bakteri endofit isolat DJ4; AN21; DJ8; DJ4 dan AN21; DJ8 dan DJ8 dan DJ4; DJ4, AN21, dan DJ8. K (-) adalah kontrol tanpa perlakuan isolat endofit dan fungisida. K (+) adalah perlakuan fungisida. P (fosfat), K (kalium), C (kalsium), N (nitrogen), pH (derajat keasaman).

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit

Hasil identifikasi secara molekuler terhadap 16S rRNA dari 3 isolat bakteri endofit terpilih menunjukkan bahwa isolat DJ4 memiliki nilai kesamaan 99% dengan sekuen gen 16S rRNA *Agrococcus jenensis* strain XJU-1, isolat AN21 memiliki nilai homolog 96% dengan sekuen gen 16S rRNA isolat *Delftia tsuruhatensis* strain DYJL11, dan isolat DJ8 memiliki kemiripan dengan *Bacillus licheniformis* dengan tingkat kemiripan 81%.

Tabel 7 Karakter morfologi dan fisiologi bakteri endofit isolat DJ4, AN21, dan DJ8

Karakter	DJ4	AN21	DJ8
Gram KOH 3 %	positif	negatif	Positif
Warna koloni	kuning terang	putih	putih
Reaksi Hipersensitif	negatif	negatif	Negatif
Uji penambat N	positif	positif	Negatif
Uji pelarut P	negatif	positif	Positif



PROSIDING SEMINAR NASIONAL MIKOLOGI

Biodeversitas dan Bioteknologi

Sumberdaya Hayati Fungi

ISBN : 978-979-16109-5-7

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

498

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, isolat bakteri endofit DJ4 dan DJ8 termasuk ke dalam kelompok Gram Positif, sedangkan isolat bakteri endofit AN21 merupakan gram negatif. Isolat bakteri DJ4 yang telah di identifikasi adalah *A. jenensis* termasuk ke dalam bangsa Actinomycetales yang merupakan kelompok bakteri penghasil senyawa antibiotik. Isolat AN21 dan DJ8 berturut-turut termasuk ke dalam bangsa Burkholderiales dan Bacillales yang banyak ditemukan sebagai bakteri endofit dan beberapa diantaranya dilaporkan sebagai agens pengendali hayati penyakit tanaman. Kim *et al.* (2007), melaporkan bahwa *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus thuringiensis* secara *in vitro* efektif menekan pertumbuhan *F. cumorum*, *Pythium* sp, *S. rolfsii*.

KESIMPULAN

Eksplorasi terhadap beberapa varietas lada di Lampung Utara diperoleh 34 isolat bakteri endofit, tiga isolat bakteri endofit (DJ4,AN21,DJ8) pada pembibitan. Penambahan isolat DJ4 otensial menekan keparahan penyakit BPB 5,63%. Berdasarkan hasil identifikasi secara molekuler sekvens 16S rRNA, isolat bakteri endofit DJ4, AN21, dan DJ8 berturut-turut adalah *Agroccoccus eunensis*, *Delftia tsuruhanenensis*, dan *Bacillus licheniformis*. Secara umum, indeks keragaman mikroba di daerah rhizosfer tanaman lada pada perlakuan menggunakan bakteri uji lebih tinggi (0,46-0,62) dibandingkan dengan perlakuan kontrol (0,51) maupun aplikasi fungisida (0,31).

DAFTAR PUSTAKA

- Aravind, R. 2008. Tracking of Endophytic Bacteria in Different Parts of Black Pepper (*Pipper nigrum* L.): root, stem, and leaves. Indian Institute of Spices Research.
- Arwiyanto T, Hartana I. 1999. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau: 2. percobaan kaca. *Jurnal Perlindungan tanaman Indonesia* 5(1):50-59.
- Chair et al. 2007. Induced disease resistance elicited by acibenzolar-S-methyl and plant growth-promoting rhizobacteria in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [Disertasi] Faculty of the Virginia Polytechnic Institute.
- Chet I. 1987. Trichoderma Application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogenic fungi. In: chet I., Innovative Approaches to Plant Diseases Control, Wiley, New York, pp. 137-160.
- Baker KF, Cook RJ. 1974. *Biological control of Plant Pathogen*. San Francisco: Freeman and Co.
- Fravel DR. 1988. Role antibiotics in the biocontrol of plant diseases. *Annu Rev Phytopathology* 26: 75-9.
- Guetsky et al. 2002. Guetsky R., D. Shtienberg, Y. Elad, E. Fischer & A. Dinoor. 2002. Improving Biological Control by Combining Biocontrol Agents Each with Several Mechanisms of Disease Suppression. *Phytopathology* 91(7):621-627.
- Habazar T, Rivai F. 2004. *Bakteri Patogenik Tumbuhan*. Andalas University Press. Padang.
- Hardjowigeno, S. 2007. Ilmu Tanah. Jakarta: Akamedika Pressindo. *Disease*. University of Missouri Press, Columbia.
- Husda. 2011. Potensi Bakteri Endofit Sebagai Agens Pengendalian Hayati Terhadap Penyakit Darah Pada Tanaman Pisang. [Disertasi]. Bogor : Sekolah Pasca Sarjana, Institute Pertanian Bogor.

- Holliday, P and W.P Mowat. 1963. Foot rot of piper nigrum L (*Phytophthora palmivora*). *Phytopathology Paper No. 5*. Commonwealth Myco. Inst., Kew, Surrey.
- Kamil 2007. Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Chitinolytic Bacteria and their Potential in Antifungal Biocontrol. *Global Journal of Molecular Sciences* 2: 57-66.
- Kasim, R. 1981. Resistance of seven pepper species to *Phytophthora*. *Pemberitaan, penelitian Tanaman Industri Indonesia*. 7:34-38.
- Kim DS, et al. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root disease of with growth with reduced tillage *Phytopathology* 87:551-558.
- Kloepper JW, Ryu C-M. 2006. Bacterial endophytes as elicitors of induced systemic resistance. In: Schulz B, Boyle C, Sieber TN. Editor. *Microbial Root Endophytic*. Springer-verlag Berlin Heidelberg. Pp.33-43.
- Magurran E. 1987. *Ecological Diversity and Its measurement*. Anne. New Jersey: University Press.
- Manohara D. 1988. Ekobiologi *Phytophthora palmivora* (BUTLER) Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang Lada (*Pipper nigrum* L.) [disertasi]. Bogor : Sekolah Pasca Sarjana, Institute Pertanian Bogor.
- Manohara D. & Kasim R. 1996. Teknik Pengendalian penyakit busuk pangkal batang tanaman lada. *Proceedings Seminar pengendalian penyakit utama tanaman industri secara terpadu*. Bogor 13-14 Maret 1996.
- Manohara D. 2007. Bercak daun phytophthora sebagai sumber inokulum Penyakit Busuk Pangkal Batang lada (*Pipper nigrum*). Vol (2): 177 – 187.
- achaad and Chun. 2001. *Plant Pathogenic Bacteria*. Third edition. APS Press: The American Phytopathological society.
- ieverding, E. 2001. Plant Protection Practices with pesticides, in *Vascular-arsbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystem*, P.165-183.
- oekarno, et al. 2009. Optimasi Kompos Bioaktif dengan Penambahan Asam Humat dan Asam Fulvat untuk Meningkatkan Ketahanan Tanaman Mentimun terhadap Serangan Phytiun spp. Penyebab Penyakit Rebah Kecambah
- upriadi.2006. *Present Status of blood disease in Indonesia*. In: Allen C, Prior P, Hayward AC editor. *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum complex*. Minnesota: APS Press. Pp. 395-404.
- Taechowisan T, Chunhua L U, Shen Y and Lumyong S 2005 Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity; *Microbiology* 151 1691–1695.
- Wahyuni R., 2002. Kajian Keefektifan Penggunaan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* untuk melindungi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) dari Serangan Bakteri Layu *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith. [Skripsi] Fakultas MIPA UNHAS Makassar.
- Wahyuno et al. 2010. Pengembangan varietas unggul lada tahan Penyakit Busuk Pangkal Batang yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici*. Litbang Pertanian, Vol 29 (3).
- Wooton, M.A., Kremer, R.J. and Keaster, A., 1993. Effects of carbofuran and the corn rhizosphere on growth of soil microorganisms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 50: 49-56.
- Diskusi :
- Moderator : Kartini Kramadibrata
- Notulis : Untung Susilo
- Pertanyaan : Bagaimana cara menguji bakteri untuk patogenitas?