**Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asal Rizosfer Tanaman Cabai (*Capsicum* sp) dalam Menghambat Pertumbuhan Fungi Patogen (*Fusarium oxysporum* f.sp *capsici*) Secara *In Vitro***

***Isolation and Characterization Of A Bacterial Origin Rhizosfer Of Plant Chili (Capsicum Sp) In Inhibiting The Fungal Pathogen (Fusarium Oxysporum f.sp Capsici) In Vitro***

**Evi Nurhaena**

Prodi Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Universitas Negeri Makassar

Jl. Masjid Raya Perum Villa Discovery B.15

**Email:** [evhinurhaena94@gmail.com](mailto:evhinurhaena94@gmail.com)

**ABSTRAK**

Bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen merupakan bakteri yang mampu menghasilkan senyawa antibiotik dan mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asal rizosfer pada tanaman cabai (*Capsicum* sp) serta mengetahui isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai penghasil antifungi. Sebanyak 20 isolat bakteri asal rizosfer berhasil diperoleh dari Desa Kayu Loe Barat, Kecamatan Turatea, Kabupaten Jeneponto dengan morfologi permukaan koloni berwarna kuning hingga kuning tua dan kuning keruh, setiap isolat memiliki stuktur yang melekat erat pada permukaan medium. 20 isolat bakteri selanjutnya dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici* dan diperoleh 4 isolat yaitu isolat CJ-C1d, isolat CJ-C2c, isolat CJ-C4b, dan isolat CJ-C5a yang memiliki daya penghambat terhadap *Fusarium oxysporum f.sp capsici.* Isolat bakteri yang berhasil didapatkan dilakukan pengujian karakterisasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia. Hasil untuk pengamatan secara morfologi menunjukkan isolat CJ-C1d, isolat CJ-C2c, CJ-C4b, dan CJ-C5a mampu hidup pada berbagai jenis medium yang digunakan. Pada pengujian secara biokimia yaitu pada pertumbuhan koloni kuning pada medium YDC semua isolat mampu tumbuh tapi pertumbuhan yang sedang hanya satu isolat yang mampu tumbuh dengan baik yaitu isolat CJ-C2c, pada pengujian urea hanya terdapat dua isolat yang mampu tumbuh dengan baik yaitu pada isolat CJ-C4b dan isolat CJ-C5a yang menandakan bahwa kedua isolat ini mampu menghasilkan urea yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada media yaitu dari warna kuning menjadi kemerahan. Sedangkan pengujian secara fisiologi dilakukan empat pengujian yaitu pengecatan gram yang hasil pengujiannya hanya terdapat dua isolate yang bersifat positif yaitu isolate CJ-C1d dan isolat CJ-C2c, pengujian pertumbuhan anaerob isolat CJ-C1d, isolat CJ-C2c, dan isolat CJ-C5a bersifat positif, pengujian endospora hanya terdapat dua isolat yang positif yaitu isolat CJ-C2c dan isolat CJ-C4b, dan pengujian pigmen fluorescent terdapat dua isolate yang positif yaitu isolate CJ-C1d, dan isolat CJ-C2c.

Kata kunci : Bakteri antagonis, *Fusarium oxysporum f.sp capsici* ,Rhizosfer, dan *Capsicum* sp

***ABSTRACT***

Bacteria that is able to inhibit the growth of pathogenic fungi is bacteria that are capable of producing antibiotic compounds and are able to produce secondary metabolite compounds. This research aims to isolate the origin of the rizosfer bacteria on plant chilies (*Capsicum* sp.) as well as knowing the isolates of bacteria that have the potential as a producer of antifungi. As many as 20 isolates of bacterial origin rizosfer successfully obtained from Wood Village West, district Turatea Loe, Jeneponto Regency with the morphology of the surface of the colony is yellow to dark yellow and yellow cloudy, each has an inherent structure to isolate closely on the surface of the medium. 20 isolates of bacteria subsequently carried out further testing to find out which isolates capable of inhibiting the growth of Fusarium oxysporum f. sp capsici and obtained 4 isolates namely isolates C1d-CJ, CJ-C2c, isolates isolates CJ-C4b, and isolates CJ-C5a has the power a barrier against Fusarium oxysporum f. sp capsici. Isolates of bacteria that successfully acquired testing done in the characterization of the morphology, Physiology and biochemistry. Results for observations in the morphology of isolates showed CJ-C1d, isolates CJ-CJ-C2c, C4b, and CJ-C5a was able to live on a different type of medium used. On testing the biochemical basis yellow colonies on growth in medium YDC all isolates were able to grow but growth is being only one isolate that is able to grow properly isolates CJ-C2c, on testing of urea, there are only two isolates that are able to grow well in isolates CJ-C4b and isolates CJ-C5a indicating that both isolates is able to produce urea that is marked with the color change in the media from the yellow color becomes reddish. While testing in Physiology are conducted four tests gram staining that results is done there are only two isolate that is positive isolate CJ-C1d and isolates CJ-C2c, testing the growth of anaerobic isolates CJ-C1d, isolates CJ-C2c, and isolates CJ-C5a has a positive test endospora, there are only two positive isolates CJ-C2c isolates and isolates CJ-C4b, and fluorescent pigment testing there are two positive isolate CJ-C1d isolates, and CJ-C2c.

Key words*:* Antagonis of Bacteria, *Fusarium oxysporum* f.sp capsici, Rhizosfer and *Capsicum* sp

**PENDAHULUAN**

Tanaman cabai (*Capsicum sp*) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang sangat banyak diminati oleh masyarakat khususnya di Indonesia. Berdasarkan data yang diperoleh dari BPS Pada tahun 2014 sebanyak 60 pohon tanaman cabai di Sulawesi Selatan terserang penyakit layu Fusarium yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici.*

*Fusarium oxysporum* f.sp *capsici* merupakan salah satu jenis cendawan yang merugikan karena dapat menyerang tanaman mulai dari epidermis sampai pada lapisan terdalam tanaman yaitu xylem. *Fusarium oxysporum* f. sp *capsici* menginfeksi xylem tersebut sehingga tanaman menjadi layu yang disebabkan oleh terganggunya proses peredaran air, dimana air yang akan

masuk kedalam xylem akan terhambat karena terjadi penyumbatan pada berkas pembuluh.

Salah satu pengendalian yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan pengendalian hayati dengan pemanfaatan bakteri dalam menekan pertumbuhan cendawan salah satunya yaitu bakteri antagonis asal Rhizosfer tumbuhan cabai.

**METODE PENELITIAN**

1. **Waktu dan Lokasi penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2016 sampai Oktober 2017 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Makassar.

1. **Tahap Pelaksanaan**
2. **Isolasi *Fusarium oxysporum* f. sp *capsici* dari Rhizosfer Tanaman Cabai**

Isolat cendawan penyebab penyakit dilakukan dengan cara mengambil tanah di daerah perakaran (rizosfer) tanaman yang terserang oleh cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici*. kemudian di encerkan dengan pengenceran 105. Masing-masing pengenceran diambil 0.1 ml dan diinokulasikan dengan metode sebar (*pour plate*) pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan di inkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Isolat yang tumbuh di inokulasi kembali pada medium yang sama sampai diperoleh isolat murni.

1. **IsolasiBakteri Antagonis Dari Rhizosfer tanaman Cabai (*Capsicum* sp)**
2. **Tahap pertama**

Tahap isolasi di awali dengan sampel tanah sebanyak 1 g di gerus dengan menggunakan mortar dan pistillum kemudian menambahkan air steril sebannyak 1 ml setelah itu mensuspensikan sebanyak 1 ml ke dalam botol vial yang berisi 9 ml aquades steril, sampai 5 kali pengenceran lalu homogenkan dengan di vorteks, Kemudian mengencerkan medium NA (*Nutrient Agar*) lalu ditambahkan larutan nystatin yang telah di encerkan sebelumnya, kemudian menuang medium NA (*Nutrient Agar*) + Nystatin ke dalam masing-masing cawan petri. Sampel yang telah di encerkan selanjutnya dibuat pengenceran bertingkat sampai 10-5.Masing-masing pengenceran diambil 0.1 ml dan diinokulasikan dengan metode sebar (*pour plate*) pada medium NA(*Nutrient Agar*) yang sebelumnya telah disuplementasi dengan Nystatin untuk mencegah pertumbuhan fungi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C sampai isolat tumbuh.

1. **Tahap kedua**

Koloni hasil isolasi yang menunjukkan adanya bakteri selanjutnya dilakukan purifikasi pada medium NA (*Nutrient Agar)* dengan menggunakan metode *quadrantstreak*. Kemudian cawan diinkubasi pada suhu 30°C selama 14 hari. Isolat yang tumbuh diinokulasi kembali pada medium yang sama sampai diperoleh isolat murni. Isolat murni selanjutnya dipindahkan ke agar miring untuk digunakan sebagai

kultur stok pada penelitian selanjutnya.

1. **Uji Antagonis Bakteri Sebagai Penghasil Antifungi**

Pengujian secara in vitro di lakukan dengan uji antagonis pada jamur *Fusarium oxysporum.* Uji ini dilakukan dengan membuat kultur agar isolat bakteriyang telah dimurnikan selanjutnya agar dilubangi dengan *corkborer*  dengan diameter 8 mm. Agar blok yang terbentuk selanjutnya ditempatkan pada medium yang telah diinokulasikan *Fusarium oxysporum*. Langkah selanjutnya, semua cawan diinkubasikan pada suhu 25°C selama 7 hari kemudian diamati terbentuknya daerah hambatan atau zona bening yang merupakan daerah jernih pada medium yang tidak ditumbuhi *Fusarium oxysporum f.sp Capsici.*

Persentase hambatan isolat bakteri terhadap cendawan *Fusarium oxysporum f.sp* di ukur dengan menggunakan rumus:

x 100%

Keterangan :

P = Persentase hambatan

r1 = Diameter koloni *Fusarium oxysporumf.sp capsici* (cm)

r2 = Diameter isolat bakteri pada *duel culture* (cm)

1. **Tahapan Identifikasi Mikroba Potensial**

Identifikasi mikroba dilakukan dengan beberapa cara yaitu :

1. **Karakteristik morfologi**

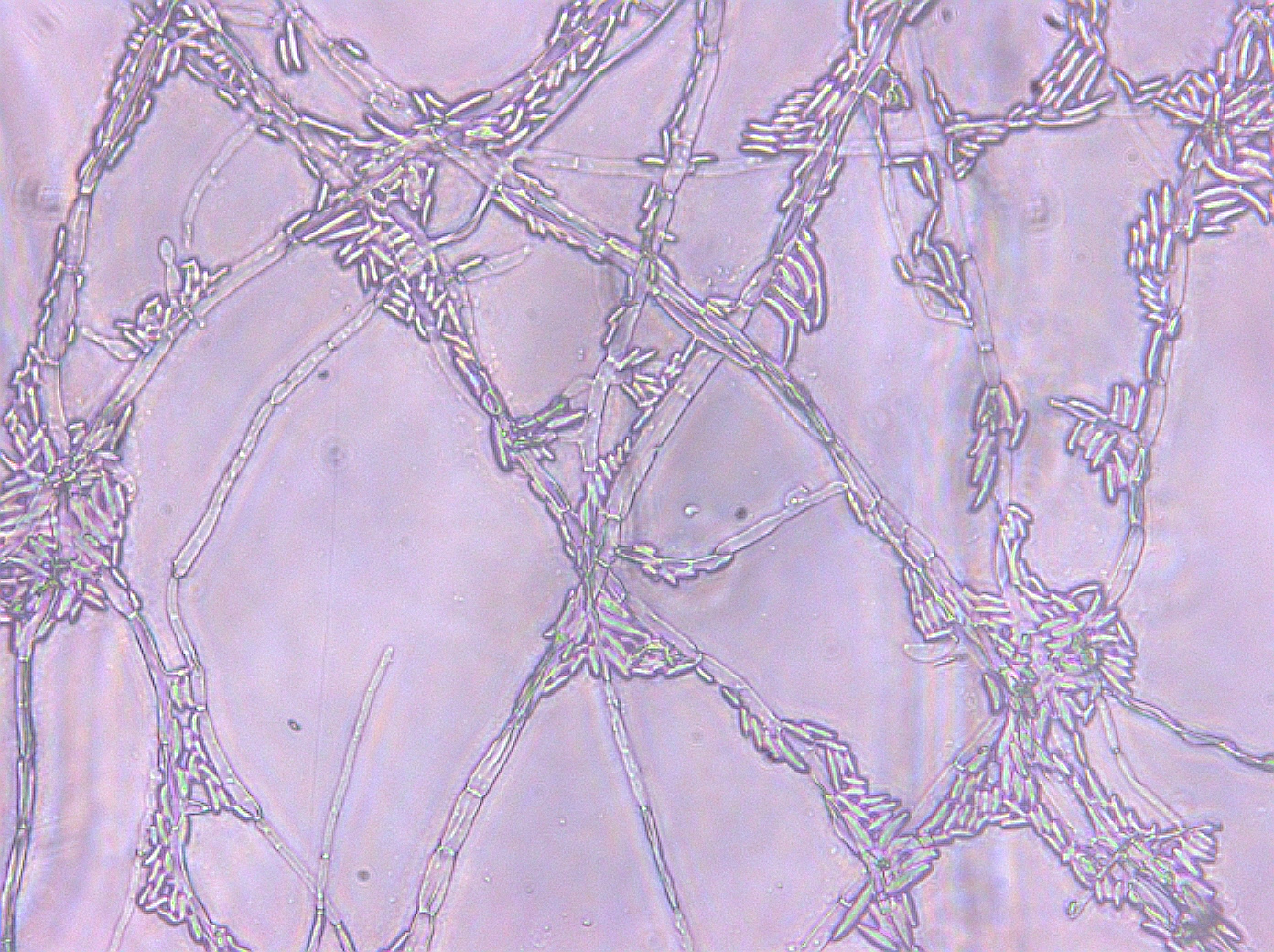
Penentuan karakteristik morfologi didasarkan pada bentuk dan warna koloni pada beberapa media biakan yaitu Nutrien Agar (NA), media YDC, dan media King’s B dan pengamatan pada mikroskop.

1. **Karakteristik secara biokimia dan fisiologi**
2. **Reaksi gram**
3. **Pertumbuhan anaerobic**
4. **Pertumbuhan koloni kuning pada media YDC**
5. **Pengujian pigment fluorescent**
6. **Pembentukan urea**
7. **Tumbuh pada Suhu 33oC dan Media YDC**
8. **Pengujian HCN**

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

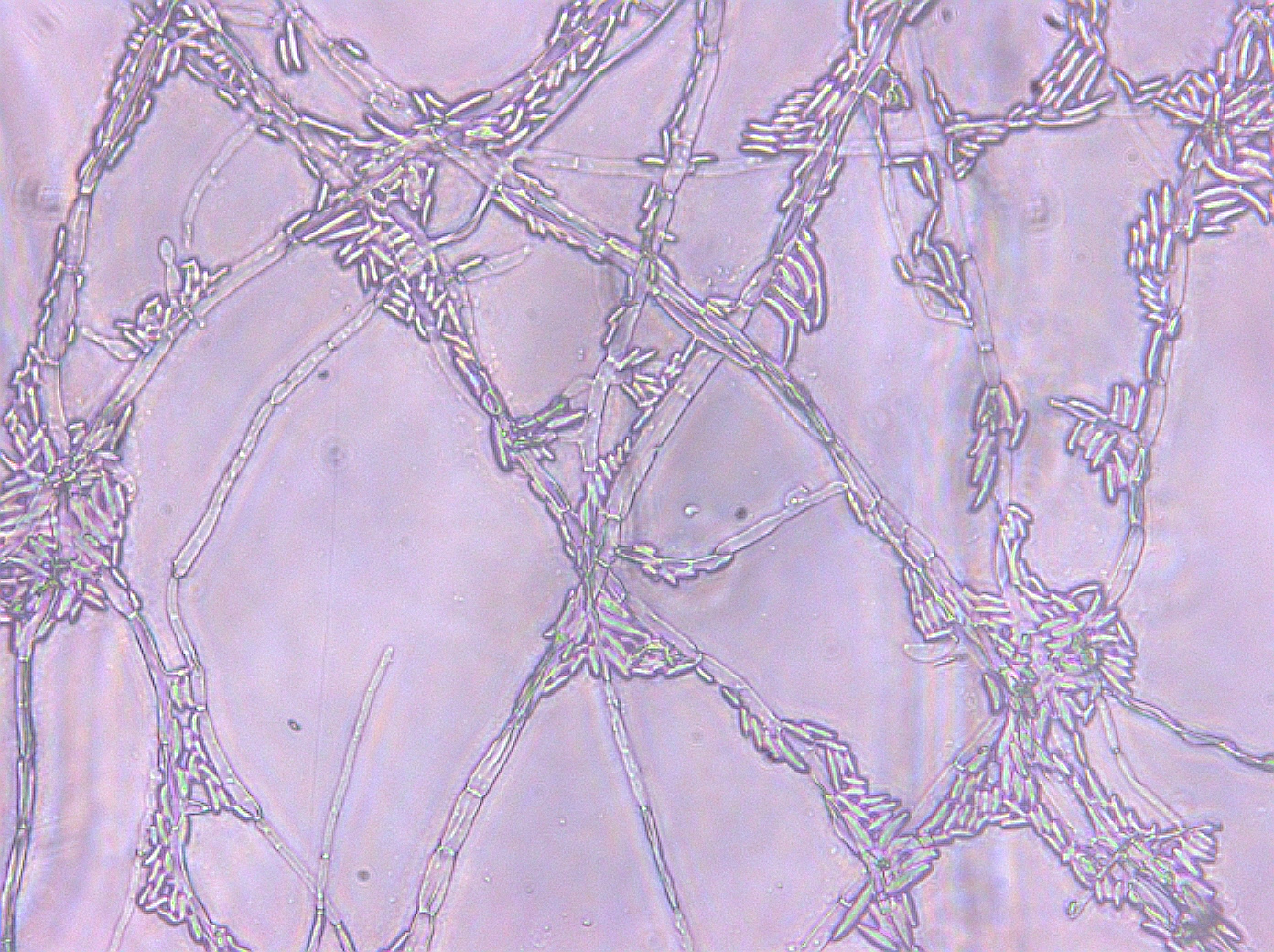
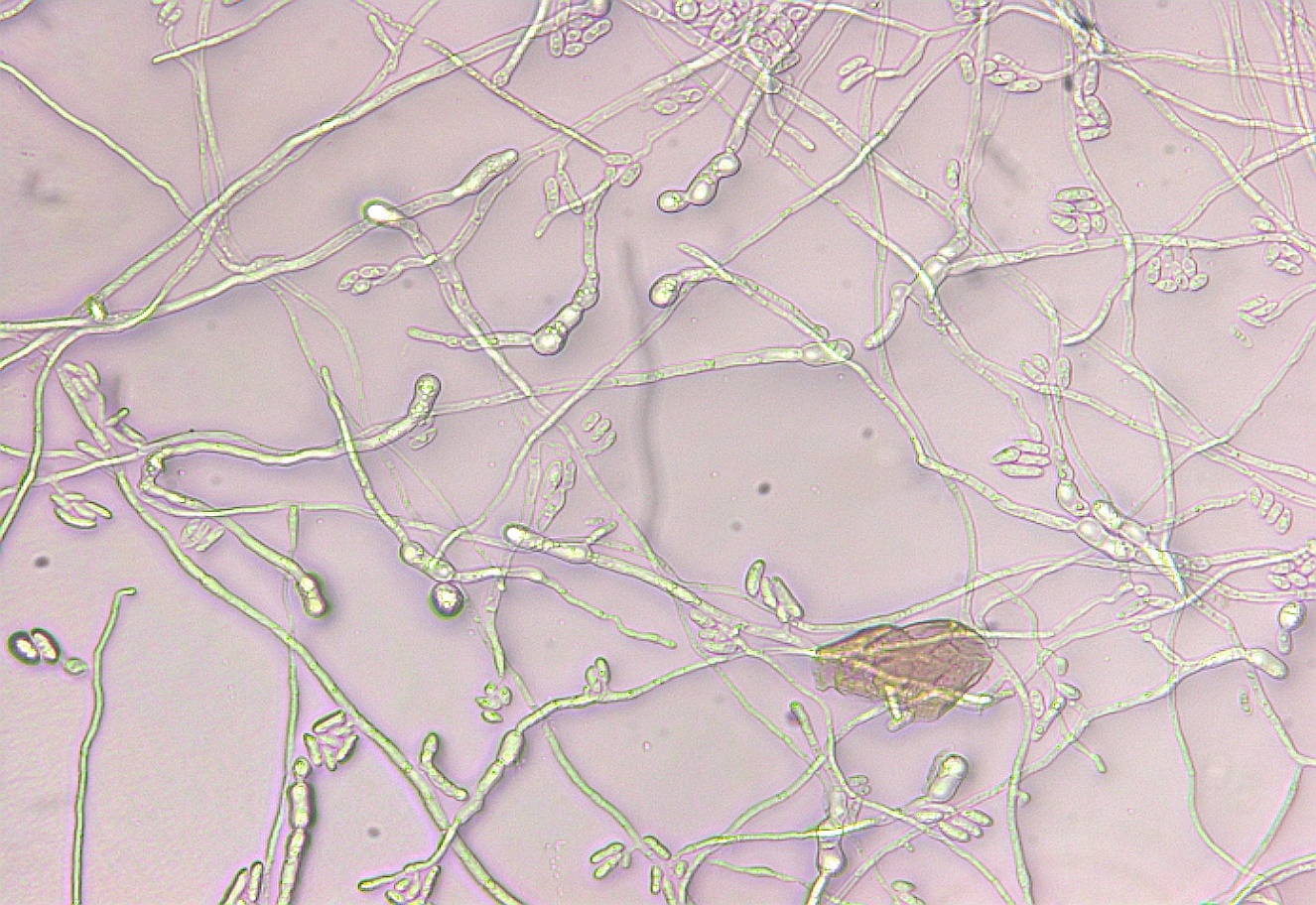
**HASIL**

* + - 1. **Isolasi *Fusarium oxysporum* Asal Rizosfer Tumbuhan Cabai**

Hasil isolasi *Fusarium oxysporum f. sp capsici* yang telah dilakukan maka didapatkan satu isolat yang berasal dari rizosfer tumbuhan cabai, yang didapatkan dari sampel yang telah dilakukan pengenceran dan ditumbuhkan dalam medium PDA (Potato Dextrose Agar). Adapun kenampakan secara morfologi isolat *Fusarium f. sp capsici* dapat dilihat pada gambar 4.1 dibawah ini.



**A B C**



**D E**

**Gambar 4.1. (**A) Miselium permukaan atas , (B) Miselium permukaan bawah,(C)Makrokonidia; (D)Mikrokonidia; (E)Klamidospora

1. **Isolasi Bakteri Asal Rhizosfer Tanaman Cabai**

Sebanyak 20 isolat bakteriberhasil diisolasi dari rhizosfer tanaman cabai (*Capsicum* sp). Kenampakan morfologi isolat bakteri ditunjukkan pada tabel 4.1 dibawah ini.

Tabel 4.1 Isolat bakteri yang di isolasi dari rhizosfer tanaman cabai (*Capsicum* sp).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **No.** | **Sampel** | **Kode isolat** | **Sampel** |
| **1.** | C1 | CJ-C1a |  |
| **2.** | C2 | CJ-C1b |  |
| **3.** | C3 | CJ-C1d |  |
| **4.** | C4 | CJ-C1c |  |
| **5.** | C5 | CJ-C2a |  |
| **6.** | C6 | CJ-C2b |  |
| **7.** | C7 | CJ-C2c |  |
| **8.** | C8 | CJ-C2d |  |
| **9.** | C9 | CJ-C3a |  |
| **10.** | C10 | CJ-C3b |  |
| **11.** | C11 | CJ-C3c |  |
| **12.** | C12 | CJ-C3d |  |
| **13.** | C13 | CJ-C4a |  |
| **14.** | C14 | CJ-C4b |  |
| **15.** | C15 | CJ-C4c |  |
| **16.** | C16 | CJ-C4d |  |
| **17.** | C17 | CJ-C5a |  |
| **18.** | C18 | CJ-C5b |  |
| **19.** | C19 | CJ-C5c |  |
| **20.** | C20 | CJ-C5d |  |

Keterangan : isolat C1-C11 berasal dari lokasi 1, sedangkan C12-C20 dari lokasi 2; adapun CJ merupakan singkatan dari Cabai Jeneponto.

**3. Uji Antagonis Isolat Bakteri hasil isolasi dari rhizosfer dengan *Fusarium oxysporum* f. *sp capsici***

Dari 20 isolat bakteri yang telah diuji antagonis maka diperoleh 4 isolat yang memiliki nilai daya hambat tertinggi terhadap *Fusarium oxysporum f.sp capsici* yaitu isolate CJ-C1d, isolat CJ-C2c, isolat CJ-C4b, dan isolat CJ-C5a. Adapun daya hambatan ke empat isolat bakteri tersebut dapat di lihat pada Gambar 4.2 di bawah ini.



A B



C D

Gambar 4.2: Isolat antagonis *Fusarium oxysporum f.sp capsici*  (A)Isolat CJ-C1d; (C) isolat CJ-C2c; (D) isolat CJ-C4b; (E) isolat CJ-C5a.

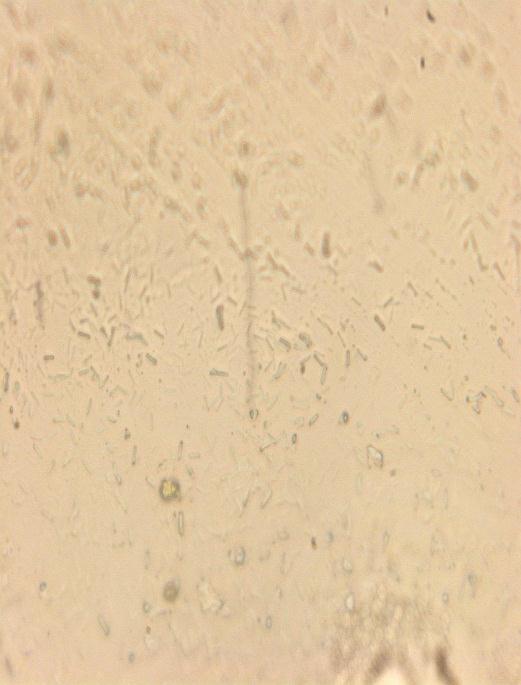
Adapun persentase zona hambat hasil uji antagonis masing-masing isolat berdasarkan uji statistik dapat dilihat pada tabel 4.3 di bawah ini.

Tabel 4.1 Persentase zona hambatan isolat dengan *Fusarium oxysporum f.sp capsici*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Perlakuan | Zona hambat bakteri asal rhizosfer (%) |
|  | Control | 00a |
|  | CJ-C1d | 70.7 bc |
|  | CJ-C2c | 71.2b |
|  | CJ-C4b | 68.0bc |
|  | CJ-C5a | 67.3bc |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji Duncan α = 0,05

Berdasarkan uji statistik tidak ada perbedaan nyata pada semua perlakuan kecuali kontrol. Berikut adalah gambar perbandingan antara *Fusarium oxysporum f.sp capsisi* sebelum uji antagonis dan *Fusarium oxysporum f.sp capsici* setelah uji antagonis



B

A

Gambar 4.3: (A) *Fusarium oxysporum f.sp capsici* sebelum uji antagonis ; (B) *Fusarium oxysporum f.sp capsici* setelah uji antagonis.

**4.Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Penghasil Senyawa Antifungi**

Parameter pengamatan yang dilakukan meliputi karakterisasi warna koloni, bentuk koloni dan permukaan koloni. Hasil pengamatan ciri morfologi koloni bakteri yang menghasilkan senyawa anti fungi dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Karakter | Kode Isolat | | | |
| CJ-C1d | CJ-C2c | CJ-C4b | CJ-C5a |
| 1 | Warna koloni | Kuning keruh | Kuning tua | Kuning | Kuning keruh |
| 2 | Bentuk koloni | *Circular* | *Circular* | *Circular* | *Irregular* |
| 3 | Elevasi | *flat* | *Convex* | *flat* | *Convex* |
| 4 | Tepi koloni | *Entire* | *Entire* | *Entire* | *Entire* |
| 5 | Permukaan koloni | Licin | Licin  dan berlendir | Licin | Licin dan berlendir |
| 6 | Permukaan dalam koloni | *Round* | *Round* | *Round* | *Round* |

**5. Karakterisasi fisiologi dan biokimia isolat bakteri asal rhizosfer tanaman cabai**

Data karakterisasi berdasarkan karakteristik fisiologi dan biokimia isolatbakteri penghasil senyawa antifungi dapat dilihat pada tabel 4.3 dan 4.4 berikut ini.

**Tabel 4.3 Uji karakteristik fisiologi 4 isolat terpilih**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Uji fisiologi | Kode Isolat | | | |
| C1d | C2c | C4b | C5a |
| 1 | Pengecatan Gram | + | + | - | + |
| 2 | Pengujian pembentukan endospora | + | + | - | + |
| 3 | Pengujian Pertumbuhan Anaerobik | + | + | - | + |
| 4 | Pigmen Fluoresent | - | - | - | - |

Keterangn:

+ : Isolat bakteri mampu tumbuh dengan baik

* : Isolat tidak mampu tumbuh dengan baik

**Tabel 4.4 Karakteristik pengujian biokimia 4 isolat terpilih**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Uji Biokimia | Kode Isolat | | | |
| CJ-C1d | CJ-C2c | CJ-C4b | CJ-C5a |
| 1 | Pengujian Koloni Kuning pada Media YDC | - | - | + | - |
| 2 | Pengujian Pembentukan Urease | - | - | + | - |
| 3 | Penngujian Pertumbuhan pd Suhu 330 C pd YDC | - | - | + | - |
| 4 | Pengujian HCN | - | - | - | - |

Keterangn:

+ : Isolat bakteri mampu tumbuh dengan baik

* : Isolat tidak mampu tumbuh

**PEMBAHASAN**

**1. Isolasi *Fusarium oxysporum f.sp capsici***

*Fusarium oxysporum* merupakan salah satu jenis cendawan yang sangat merugikan karena dapat menyerang tanaman mulai dari masa perkecambahan sampai dewasa, cendawan ini juga mampu membuat suatu tanaman mengalami kematian yang relatif cepat, bersifat patogen dan mampu menular melalui tanah (soil borne). Menurut Nugraheni, 2010 *Fusarium oxysporum* merupakan fungi berfilamen yang memiliki 3 macam konidia yaitu mikrokonidia, makrokonidia, dan klamidospora. Mikrokonidia yaitu spora aseksual pada hifa yang ukurannya kecil berbentuk bulat telur/ lonjong, makrokonidia yaitu spora asexual pada hifa yang ukurannya besar dan bentuknya seperti bulan sabit dan bersepta, klamidospora yaitu spora asexual yang dibentuk oleh hifa yang mengalami penebalan dan berbentuk bulat. Tujuan dilakukannya isolasi fusarium ini untuk mendapatkan *Fusarium oxysporum f.sp capsici* yang berasal dari tanaman cabai yang sakit (*Capsicum sp*).

Hasil isolasi Fusarium yang di dapatkan yaitu *Fusarium oxysporum* *f.sp capsici*, jika dilihat secara makroskopis tampak pada bagian permukaan isolat berwarna putih dan bagian substrat berwarna ungu. Sementara jika di lihat secara mikroskopis dengan pembesaran 40x tampak isolat *Fusarium oxysporum f.sp capsici* memiliki makrokonidia yang berbentuk sabit dan pada umumnya memiliki sekat yaitu 4-6 sekat dan terdapat pula mikrokonidia yang bersel satu sampai dua yang bentuknya menyerupai bulat telur dan memiliki klamidospora yang bersel satu dan berbentuk bulat.

**2.Isolasi dan pemurnian isolat bakteri asal rhizosfer tanaman cabai**

Isolasi bakteri yang berasal dari rhizosfer tanaman cabai dilakukan untuk memisahkan mikroba dari berbagai macam campuran mikroba lainnya adapun isolat yang dihasilkan sebanyak 20 isolat yang berhasil di isolasi dari rizosfer tanaman cabai (*Capsicum sp*). Hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat dikelompokkan ke dalam kelompok *Clostridium* dan *Xanthomonas* hal ini dikarenakan karakteristik koloninya mirip dengan *Clostridium* yaitu penampakan permukaan isolat berlendir dan tampak licin, dan mirip dengan *Xanthomonas* karena permukaan warna koloni yang berwarna kuning dan kuning keruh dan melekat erat pada medium.

Bakteri yang tergolong dalam kelompok *Xanthomonas* yang tumbuh pada medium NA dapat menyebabkan isolat berfilamen, pinggiran tidak rata,permukaan datar dan licin, berwarna putih,gram positif, sel umumnya berbentuk rantai (*streptobacillus*), diameter sel 0,5-1µm, panjang sel 2-10 µm. Bakteri yang mampu menghasilkan antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan patogen, terutama patogen terhadap tanah dan mempunyai kemampuan mengkoloni akar pada tanaman (Soesanto, 2008). Bakteri *Clostridium* pada umumnya mampu memproduksi senyawa metabolit yang bervariasi, baik dari struktur maupun fungsinya. Senyawa metabolit yang dihasilkan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi.

1. **Uji antagonis isolat bakteri asal rhizosfer tanaman cabai dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum f.sp capsica***

Dari hasil uji antagonis 20 isolat yang berhasil di isolasi maka diperoleh empat isolat yang mampu menghambat fungi uji *Fusarium oxysporum f.sp capsici,* dimana ke empat bakteri tersebut merupakan jenis bakteri yang mampu mengeluarkan suatu senyawa metabolit yang mampu melindungi diri sendiri dari keadaan atau lingkungan yang bersifat ekstrem.

Mekanisme penghambatan yang terjadi pada isolat bakteri mampu mengeluarkan senyawa metabolit yang mampu melisiskan hifa *Fusarium oxysporum f.sp capsici* yang dapat di lihat pada ujung miselium *Fusarium oxysporum f.sp capsici* yang tampak patah-patah (Gambar 4.3) yang dilihat dibawa mikroskop pembesaran 40x.

Bakteri yang tergolong *Clostridium* mampu memacu pertumbuhan pada akar tumbuhan dan dapat menghasilkan hormon pertumbuhan sehingga tanaman mampu tumbuh dengan baik. Bakteri yang berasal dari rhizosfer yang berhasil di isolasi mampu mengeluarkan hormon pertumbuhan yang berpengaruh terhadap akar dan pertumbuhan fungi pathogen. Hal ini dikarenakan bakteri *Clostridium* mampu memproduksi senyawa metabolit yang bervariasi (Saylendra dan Dewi, 2013).

1. **Karakteristik morfologi isolat bakteri penghasil senyawa antifungi**

Pengamatan secara morfologi meliputi pengamatan koloni secara langsung yang ditumbuhkan pada berbagai jenis medium yang berbeda-beda, adapun parameter yang digunakan untuk melihat pertumbuhan isolat yaitu warna koloni, bentuk koloni, elevasi, tepi koloni, permukaan koloni, permukaan dalam koloni, serta pengamatan harmonika warna. Berdasarkan tabel 4.2 terdapat empat isolat yang mampu tumbuh pada berbagai medium yang berbeda dan terlihat perbedaan pertumbuhan yang ada pada media. Perbedaan warna yang beragam pada media berbeda disebabkan karena kemampuan dari masing-masing isolat yang mampu mencerna komponen yang terdapat pada media.

Berdasarkan hasil pengamatan secara morfologi terlihat ciri-ciri golongan bakteri *Clostridium*. Menurut Isnansetyo (2016) Isolat bakteri yang mampu memproduksi senyawa metabolit yang sangat bervariasi, baik itu dari struktur maupun fungsinya. Senyawa metabolit yang dihasilkan oleh isolat bakteri mampu menghambat pertumbuhan pada bakteri dan fungi. Dalam pengelompokan bakteri *Clostridium* pada aktivitasnya ditemukan berbagai macam mekanisme pengendalian seperti senyawa kimia dan antibiotik, dimana senyawa antibiotik merupakan salah satu hasil dari metabolisme sekunder bakteri.

1. **Karakteristik pengujian fisiologi dan biokimia**
2. **Pengecatan gram**

Pengujian gram menunjukan gram negatif warna merah dan gram positif menunjukkan warna ungu. Akan tetapi pada metode ini yang diamati yaitu terbentuk ataupun terdapatnya lendir pada isolat bakteri yang diujikan dengan menggunakan larutan KOH 3%.

Bakteri gram positif pada umumnya mampu mempertahankan zat warna pada kristal violet yang diberikan, bakteri ini juga bersifat aerob fakultatif yaitu dapat menggunakan oksigen serta dapat juga menghasilkan energi secara anaerobic, memiliki lapisan peptidoglikan yang sangat tebal. Bakteri gram positif ini umumnya tersusun oleh asam teichoat serta polimer-polimer gliserol yang merupakan salah satu unsur yang terdapat dalam bakteri gram positif. Komponen tersebutlah yang mampu membuat bakteri gram positif ini menjaga permeabilitas eksternal serta menjaga bakteri agar mampu bertahan pada kondisi yang ekstrem sekalipun (Yustinah, 2016).

1. **Pewarnaan Endospora**

Berdasarkan hasil pengamatan pada pewarnaan endospora terdapat tiga isolat bakteri yang memiliki endospora yang berarti bahwa ketiga isolat ini mampu bertahan dalam keadaan yang ekstrem sekalipun. . Menurut Sahputra et al, 2016 fungsi endospora pada isolate bakteri ini yaitu untuk melindungi bakteri dari suhu yang tinggi, dan suhu optimum untuk pertumbuhannya yaitu pada suhu 370C.

Bakteri yang mampu menghasilkan spora mampu mengikat kuat senyawa pewarna yang diberikan, dan ketika pemberian safranin sel yang terdapat pada spora tidak mampu berikatan dengan baik dengan reagen yang lainnya (Muharni dan Hary,2011). Hal inilah yang menyebabkan sehingga spora yang terdapat pada bakteri akan berwarna hijau. Pada umumnya bakteri yang tidak memiliki spora cenderung tidak tahan terhadap pengecatan karena hanya memiliki sel vegetatif, dimana sel vegetatif ini akan mampu berikatan dengan pewarnaan yang digunakan akan tetapi mudah juga dilunturkan pada saat pencucian karena tidak mampu berikatan kuat dengan reagen malachite green.

1. **Pertumbuhan anaerob**

Kebutuhan oksigen yang dibutuhkan setiap bakteri berbeda-beda karena ada beberapa kelompok bakteri yang tidak memerlukan oksigen karena pada beberapa bakteri oksigen dapat bersifat racun bagi pertumbuhannya.

Mikroorganisme terbagi dalam beberapa kelompok yang berdasarkan pada kebutuhan organisme, salah satu contohnya yaitu mikroorganisme aerob yang memerlukan oksigen dan mikroorganisme anaerob yang tidak memerlukan O2 yang kemudian akan membentuk H2O2 yang bersifat toksik dan mampu menyebabkan kematian. Mikroorganisme anaerob tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H2O2 menjadi air dan oksigen. Anerob fakultatif dapat menggunakan oksigen tetapi dapat juga menghasilkan energi secara anaerobik. (Chandra, 2011).

**d. Pigmen flourocenst**

Pengujian ini menggunakan Medium King’s B yang merupakan medium sedikit mengandung ion Fe sehingga bakteri yang temasuk ke dalam kelompok bakteri yang mengandung fluoresen mampu membentuk pigmen yang berwarna kuning kehijauan yang mampu berdifusi dengan medium King’s B yang terlihat jelas ketika dilakukan pengamatan dibawah sinar ultraviolet dengan panjang gelombang (365 nm).

Pigmen fluoresen merupakan suatu zat yang hanya dapat nampak pada medium selektif yaitu King’s B yang merupakan medium sedikit mengandung ion Fe sehingga bakteri yang terdapat pada medium ini akan membentuk siderofor yang fungsinya mampu mengikat ion Fe. Siderofor dapat dideteksi dengan adanya pigmen warna kuning kehijauan yang berdifusi kedalam medium king’s b, sehingga pigmen yang berdifusi kedalam medium menjadi lebih jelas terlihat ketika diamati dibawah sinar ultraviolet (Arwiyanto et al, 2007).

**e. Koloni Kuning pada YDC Suhu 33 ºC**

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media yang bersifat semi selektif yaitu *Yeast Dextrose Carbonat* (YDC) yang merupakan salah satu jenis media untuk pertumbuhan bakteri tertentu. Isolat bakteri digoreskan pada media YDC menunjukkan reaksi positif yaitu koloni akan tampak muncul diatas permukaan medium dan akan berwarna kuning yang melekat pada medium.

Menurut Simatupang, 2008 media YDC merupakan media semi selektif untuk pertumbuhan bakteri *Xanthomonas* sp, dimana jenis bakteri ini memiliki suhu optimum dan derajat keasaman untuk pertumbuhannya. Ciri khas dari bakteri *Xanthomonas* sp yaitu koloni yang berlendir dan mampu menghasilkan pigmen yang berawarna kuning ketika dilakukan pengujian diatas medium YDC dimana pigmen yang dihasilkan merupakan pigmen xanthomonadin.

**f. Produksi Urease**

Pada pengujian ini menggunakan medium urea broth yang merupakan salah satu jenis medium yang bersifat differensial yaitu mampu membedakan bakteri penghasil ekoenzim atau enzim urease yang berfungsi untuk menghidrolisis urea menjadi ammonia dan karbondioksida.

Penggunaan urea pada pengujian ini berfungsi untuk melihat apakah isolat bakteri mampu menghasilkan enzim urease. Urease adalah enzim yang memecah nitrogen dan ikatan karbon dalam senyawa amida seperti urea dan membentuk produk akhir ammonia. Pada umumnya bakteri yang mampu menghasilkan urea tergolong dalam bakteri enteric yang mampu mendegradasi urea walaupun dalam waktu yang lama (Fatoni et al, 2012).

**g. Pengujian HCN**

Indikator pengamatan pada pengujian ini yaitu terjadinya perubahan warna pada kertas saring dari warna kuning menjadi coklat muda atau kuning kecoklatan, dimana kertas saring yang digunakan mengandung asam pigrat dan NA2CO3.

Hydrogen sianida atau yang sering kita sebut dengan HCN merupakan metabolit sekunder yang mampu diproduksi oleh beberapa mikroorganisme. Pada umumnya bakteri yang mampu menghasilkan HCN tergolong dalam bakteri *Pseudomonas fluoresen* ataupun *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri yang mampu menghasilkan gas. HCN merupakan faktor toksin utama yang diproduksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu menghambat pertumbuhan golongan patogen lainnya (Halimah, 2016).

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jumlah isolat yang berhasil di isolasi dari sampel rhiizosfer tanaman cabai *(Capsicum* sp*.*) yaitu 20 dengan koloni berlendir. Dan terdapat empat isolat yang dilakukan pengujian lanjutan, dengan kode isolate CJ-C1d, CJ-C2c, CJ-C4b, dan CJ-C5a.
2. Jumlah isolat yang mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen *Fusarium oxysporum* yaitu empat isolat. Dan terdapat 1 jenis Fusarium yang berhasil diisolasi dari tanaman cabai yang sakit yaitu *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici.*
3. Terdapat empat isolat yang berhasil dilakukan uji lanjut yaitu isolat CJ-C1d, CJ-C2c, CJ-C4b, dan CJ-C5a. Pada pengujian morfologi isolat CJ-C1d menunjukkan karakteristik pada warna koloni berwarna kuning keruh, bentuk koloni *circular*, elevasi *flat*, tepi koloni *entire*, permukaan koloni licin, dan permukaan dalam koloni *round* , isolate CJ-C2c warna koloni berwarna kuning tua, bentuk koloni *circular*, elevasi *convex*, tepi koloni *entire*, permukaan koloni licin dan berlendir, dan permukaan dalam koloni *round,* isolate CJ-C4b warna koloni berwarna kuning, bentuk koloni *circular*, elevasi *flat*, tepi koloni *entire*, permukaan koloni licin, dan permukaan dalam koloni *round,* isolat CJ-C5a warna koloni berwarna kuning keruh, bentuk koloni *irregular,* elevasi *convex*, tepi koloni *entire*, permukaan koloni licin dan berlendir, dan permukaan dalam koloni *round.* Secara fisiologi dan biokimia dilakukan beberapa pengujian yaitu reaksi gram, pertumbuhan anaerob, koloni kuning pada media YDC, pigmen fluorescent, pembentukan urea, dan pembentukan HCN.

**SARAN**

Adapun beberapa saran untuk penelitian yang akan datang yaitu sebagai beikut:

1. Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan pada pengujian yang lebih spesifik agar dapat diaplikasikan secara langsung pada tanaman uji yaitu cabai agar dapat dilihat kinerja isolat yang mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen *Fusarium oxysporrum*.
2. Diharapkan penelitian ini dilakukan identifikasi lebih lanjut terhadap pewarnaan rantai spora isolat terpilih agar dihasilkan ornament rantai spora.

**DAFTAR PUSTAKA**

Arwiyanto, Triwidodo. Yms Maryudani, Nining Nurul Azizah. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *Biodiversit As Vol. 8, No. 2, April 2007, Hal. 147-151*

Chandra, T. J., & Mani, S. (2011). A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. Journal Medicine Allied Science, 1(2), 84-85.

Fatoni, M.Indra, Melki, Fitri Agustriani. 2012. Karakterisasi Bakteri Penghasil Gas Metana pada Rumput Laut Jenis *Eucheuma cottonii. Maspari Journal, 2012, 4(1), 103-109*

Halimah, Dwi. 2016. Potensi Bakteri Endofit Asal Tanaman Kopi Untuk  
Pengendalian Nematoda Luka Akar Pratylenchus Coffeae  
(Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven Dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman. Thesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Isnansetyo, Alim. 2005. Bakteri Antagonis Sebagai Probiotik Untuk Pengendalian Hayati Pada Aquakultur. *Jurnal Perikanan (J. Fish. Sci.) Vii (1): 1-10 Issn:0853-6384.*

Muharni dan Hary Widjajantimns. 2011. Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis Terhadap Pertumbuhan Jamur Akar Putih (Rigidoporus lignosus) dari Rizosfir Tanaman Karet. Jurnal Penelitian Sains Volume 14 Nomor 1 (D)

Nugraheni, Endah Sulistyo. 2010. Karakterisasi Biologi Isolat-Isolat *Fusarium* Sp Pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annuum* L.) Asal Boyolali. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Sahputra, Dedy, T. Reza Ferasyi2, Ismail2, Razali2, Sulasmi2, Dan Darmawi. 2016. Isolasi Bakteri *Coccus* Gram Positif Di Dalam Susu *Ultra  
High Temperature* (Uht) 6 Dan 3 Bulan Menjelang Kedaluwarsa. *Jurnal Medika Veterinaria Vol. 10 No. 1.*

Saylendra, Andree dan Dewi Firnia. 2013. *Bacillus* Sp. Dan *Pseudomonas* Sp. Asal Endofit Akar Jagung (*Zea Mays* L.) Yang Berpotensi Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan Juni 2013 Vol. 2 No.1 Hal : 19-27*

Simatupang, Dody Suseno. 2008. *Berbagai Mikroorganisme Rizosfer Padatanaman Pepaya (Carica Papaya L.) Di Pusat Kajian Buah-Buahan Tropika (Pkbt) Ipb Desa Ciomas, Kecamatan Pasirkuda, Kabupaten Bogor, Jawa Barat*. Skripsi. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Soesanto, L.2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Rajawali Pers, Jakarta.

Yustinah1, Misri Gozan, Heri Hermansyah, Rizal Alamsyah. 2016. Pengaruh Jenis Sumber Nitrogen Pada Pembuatan Polyhydroxybutyrate Dari Glukosa Menggunakan Bakteri *Bacillus Cereus. Jurnal.umj.ac.id/index.php/semnastek*.