**Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Rizosfer Tanaman Pisang**

**(*Musa paradisiaca*) Antagonis *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae* secara *In Vitro*.**

Rezki

Isolation and characterization of rizosfer bacteria from banana (*Musa paradisiaca*)

antagonistic to *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae*  *In Vitro*

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Makassar

Jl. Muhajirin lorong 3

Email: [rezki.1610@gmail.com](mailto:rezki.1610@gmail.com)

Penelitian ini bertujuan untuk mencari isolat bakteri dari rizosfer tanaman pisang yang berpotensi menghasilkan metabolit sekunder seperti senyawa antifungi yang memiliki daya penghambatan yang tinggi terhadap pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae* secara  *in vitro*. Sampel penelitian berasal Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengisolasi *Fusarium oxysporum* f. sp *musaceae* dari rizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) yang sakit dan mengisolasi bakteri antagonis dari rizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) yang sehat kemudian isolat bakteri yang diperoleh selanjutnya *diskrining* untuk memperoleh isolat yang memilki aktivitas penghambatan terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae*. isolat bakteri yang memiliki nilai penghambatan tertinggi dilakukan karakterisasi pada masing-masing isolat yang terpilih dengan beberapa metode yaitu reaksi gram, pembentukan endospora, miselium udara, pertumbuhan anaerobik, koloni kuning pada yeast ekstrak agar, fluorescens pigmen, koloni kuning pada yeast extrak agar, produksi urea, dan pengujian hidrogen sianida. Hasil pengujian didapatkan ada 23 isolat bakteri namun hanya ada 5 isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp *Musaceae.* Persentase penghambatan isolat bakteri strain PTE-P6b yaitu 77.09a, isolat bakteri PTE- P53 yaitu 73.70ab  tetapi berbeda nyata dengan ,isolat PTE- P3c, isolat PTE-P4a dan PTE- p4g dengan nilai persentase zona hambat sebesar 64.21cd; 63.41cd ; 65.54bc.Serta hasil identifikasi kelima isolat bakteri terdiri atas tiga kelompok yaitu *Bacillus, Clostrdium dan Xanthomonas.*

**Kata kunci :** rizosfer, pisang, *Fusarium oxysporum,* bakteri uji, metabolit sekunder.

This research aims to find bacterial isolates from rizosfer plants of banana that could potentially produce secondary metabolites such as compound antifungi which has a high inhibitory power against the growth of *Fusarium oxysporum* f. Sp *musaceae* in in vitro. Enrekang Regency comes research sample, South Sulawesi. The research was done by Fusarium oxysporum isolates f. sprizosfer plants of banana musaceae (*Musa paradisiaca*) sick and isolating antagonistic bacteria from rizosfer plants of banana (*Musa paradisiaca*) healthy then isolates of bacteria obtained further *diskrining* to obtain isolates which have inhibitory activity of *Fusarium oxysporum* f. Sp *musaceae*. isolates of bacteria that have the highest inhibition values conducted on the respective characterization of isolates selected with several methods, namely, the establishment of endospora gram reaction, anaerobic growth of air, mycelium, yellow colonies on yeast extract agar, colonies, yellow pigment fluorescens on yeast extrak in order, production and testing of urea, hydrogen cyanide. The test results obtained there are 23 isolates of bacteria but there are only 5 isolates of bacteria which are antagonists against *Fusarium oxysporum* f. Sp *musaceae*. The percentage inhibition of bacterial strains isolates PTE-P6b i.e. 77.09 a, bacterial isolates, PTE-ab 73.70 i.e. P53 but differ markedly, isolate, isolates P3c-PTE PTE-P4a and PTE-p4g drag zone percentage value of 64.21 cd; 63.41 cd; 65.54 bc. As well as the results of the identification of the five isolates of bacteria composed of three groups, the *Bacillus,* *Xanthomonas* and *Clostrdium.*

Key words: rizosfer, Fusarium oxysporum, banana, bacteria test, secondary metabolites.

**PENDAHULUAN**

Pisang merupakan salah satu buah yang digemari oleh sebagian besar penduduk dunia. Budidaya tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) di Sulawesi Selatan pada umumnya mengalami kendala. Akibat dari serangan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae* maka produksi pisang di Sulawesi selatan dari tahun ke tahun mengalami penurunan.

Fusarium merupakan cendawan yang menyebabkan penyakit layu fusarium pada pisang. Cendawan ini masuk kedalam tanaman melalui akar yang luka dan menembus jaringan epidermis, jaringan endodermis, dan masuk sampai ke pembuluh xylem. Pengendalian yang pengendalian hayati yaitu pemanfaatan bakteri dalam menekan layu Fusarium salah satu bakteri antagonis yang berasal dari rizosfer tanaman pisang.

Bakteri antagonis merupakan kelompok bakteri banyak yang mempunyai peranan sebagai agen pengendali hayati yang memiliki potensial dalam menekan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh layu Fusarium. Bakteri antagonis tersebut dapat menekan cendawan dengan cara menghasilkan metabolit sekunder dan kompetisi nutrisi (Susanna 2000). Menurut, Arwiyanto (1997) Pada tanaman sehat di dalam tanah atau di sekitar perakaran tanaman pisang terdapat mikroba yang berperan sebagai antagonis diantaranya terdapat populasi antagonis *Bacillus* sp. dan pseudomonas fluorescent yang melimpah. *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang tahan panas karena dapat membentuk endospora.

**METODE PENELITIAN**

1. **Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif dengan pengujian laboratorium

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

**B. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan yaitu Erlenmeyer (250 ml, 500 ml, dan 1000 ml),gelas kimia (250 ml,100 ml, 500 ml, dan 1000 ml), gelas ukur (10 ml, 25 ml, dan 500 ml), botol pengencer, cawan petri, object glass dan deck glass, tabung reaksi, rak tabung, corong, ose, bunsen, pipet tetes, pinset, batang pengaduk, mortar dan pistillum, tabung evendorf (10 ml), tip, mikropipet (10 µL, 50 µL, 100 µL dan 1000 µL), Laminar Air Flow (LAF), hot plate and stirrer, inkubator, oven, autoclave, mikroskop, vortex, centrifuge, shaker, lemari pendingin, neraca analitik, dan peralatan umum yang digunakan di laboratorium mikrobiologi

Bahan yang digunakan yaitu medium NA (Nutrient Agar), medium YDC (Yeast Ekstrak Agar), medium Hugh and Leifson, medium PDA (potato Dextrose Agar), medium King’s B, medium Dye’s, plastic sampel, sampel tanah, aquades steril, label, kapas, spoit (1 cc dan 10 cc), alkohol 70%, Nystatin, cloramphenicol, kapas, kertas saring, cotton buds, aluminium foil, plastic wrab, papper disc (Ø 6 mm).

**C. Pengambilan sampel penelitian**

Sampel penelitian diambil di desa Kou kecamatan Curio Kabupaten Enrekang. Sampel bakteri antagonis diambil dari bagian rizosfer tanaman pisang yang sehat dan Fusarium oxysporum f.sp musaceae dari rizosfer tanaman pisang yang sakit. Pengambilan sampel di ambil pada lokasi perkebunan pisang dengan menggunakaan spatula steril sampel dimasukkan dalam plastik selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium.

**D. Isolasi *Fusarium oxysporum* f. sp *musaceae***

Isolat cendawan penyebab penyakit dilakukan dengan cara mengambil tanah di daerah perakaran (rizosfer) tanaman yang terserang oleh cendawan Fusarium oxysporum f.sp musaceae. Kemudian di encerkan dengan pengenceran 10-5. Masing-masing pengenceran diambil 0.1 ml dan diinokulasikan dengan metode sebar (pour plate) pada mediumPotato Dextrose Agar (PDA) dan di inkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Isolat yang tumbuhdi inokulasi kembali pada mediumyang sama sampai diperoleh isolat murni.

**E. Isolasi Bakteri Antagonis**

Tahap isolasi di awali dengan sampel tanah sebanyak 1 gr 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 (*Nutrien Agar*) lalu ditambahkan larutan nystatin yang telah di encerkan sebelumnya, kemudian menuang medium NA (*Nutrien 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 (Nutrien Agar) yang sebelumnya telah disuplementasi dengan Nystatin untuk mencegah pertumbuhan fungi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C sampai isolat tumbuh.

**E. 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 bakteri yang 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 *musaceae*

**F. Tahapan Karakterisasi Isolat Bakteri yang Terpilih**

Bakteri yang telah diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan Fusarium oxysporum f.sp musaceae dilakukan karakterisasi morfologi. Penentuan karakteristik morfologi didasarkan pada bentuk dan warna koloni. Pengamatan morfologi dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada berbagai macam medium seperti: Nutrien Agar (NA), Potato Dextrose Agar (PDA), Yeast Ekstrak Agar (YDC), King,S B dan pengamatan pada mikroskop.

**G. Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia**

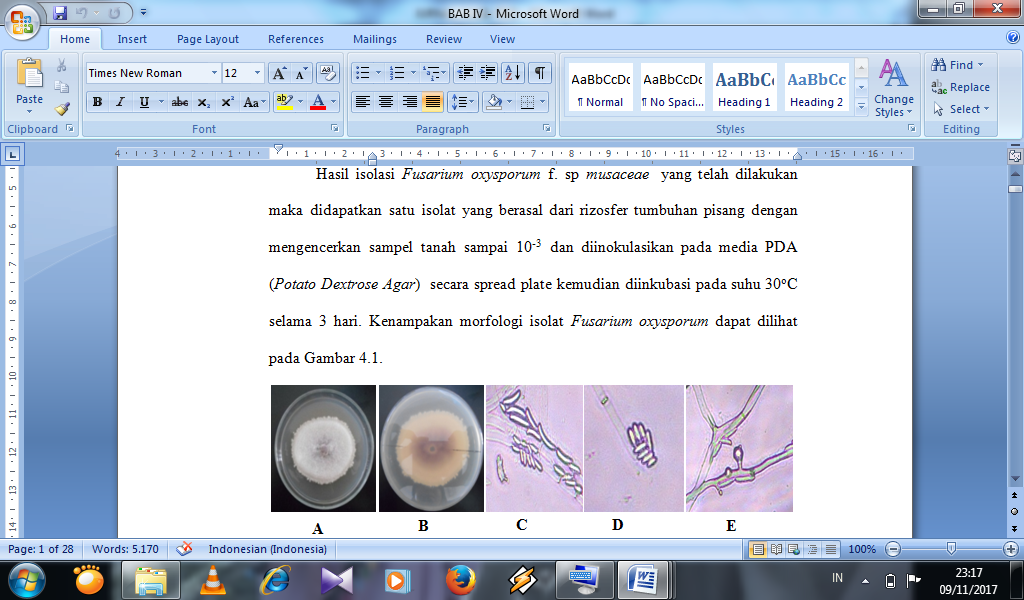
Isolat yang memiliki nilai penghambatan tertinggi dilakukan karakterisasi pada masing-masing isolat yang terpilih. Karakterisasi tersebut meliputi karakterisasi morfologi seperti reaksi gram, pembentukan endospora, miselium udara, pertumbuhan anaerobik, koloni kuning pada Yeast Ekstrak Agar, fluorescens pigmen, koloni kuning pada Yeast Ekstrak Agar, produksi urea, pengujian hidrogen sianida dan pengujian antobiotik sehingga di peroleh isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap cendawan Fusarium oxysporum f.sp Musaceae.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**A. HASIL**

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

Hasil isolasi Fusarium oxysporum f. sp musaceae yang telah dilakukan maka didapatkan satu isolat yang berasal dari rizosfer tumbuhan pisang dengan mengencerkan sampel tanah sampai 10-3 dan diinokulasikan pada media PDA (Potato Dextrose Agar) secara spread plate kemudian diinkubasi pada suhu 30oC selama 3 hari. Kenampakan morfologi isolat Fusarium oxysporum dapat dilihat pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1**: (A) Kenampakan permukaan atas Fusarium oxysporum; (B) Kenampakan permukaan bawah Fusarium oxysporum; (C) Makrokonidia; (D) Mikrokonidia ; (E) Klamidospora

Berdasarkan hasil isolasi Fusarium oxysporum f.sp musaceae maka kenampakan permukaan atas memiliki miselium yang berwarna putih dan semakin ke dalam berwarna keungu-unguan dan kanampakan permukaan bawah dengan warna miselium bagian dalam berwarna ungu dan berwarna putih miselim yang dipinggir, makrokonidia terdapat 4-6 sekat, mikrokonidia terdapat 2-4 dan terdapat klamidospora.

**2. Isolasi Bakteri Asal Rizosfer**

Sebanyak 23 isolat bakteri asal rizosfer tanaman pisang yang diperoleh dari 2 lokasi perkebunan di Desa Kou, Kecamatan Curio, Kabupaten Enrekang. Tetapi hanya ada 5 isolat yang memiliki daya nilai penghambatan tertinggi kemudian dilakukan karakterisasi pada masing-masing isolat yang terpilih. Isolat yang terpilih menunjukkan ciri dari kelompok Basillus, Clostridium dan Xanthomonas. Struktur koloni bakteri yang diperoleh menunjukkan morfologi dan pertumbuhan yang berbeda diantaranya pada isolat PTE-P6b dengan koloni berwarna putih susu dan permukaan koloni licin serta berlendir, PTE-p4a3 dengan koloni berwarna putih tulang melekat erat pada medium, PTE-P2a berwarna kuning dengan permukaan licin, PTE-P4g berwarna kuning dengan permukaan licin , PTE10 dengan koloni yang berwarna putih susu dan berlendir, PTE-P3Ca dengan koloni berwarna putih susu serta melekat pada medium, PTE-P3D1 dengan koloni berwarna putih perak dan licin, PTE-P35 dengan koloni berwarna orange, PTE-P4A 1 dengan koloni berwarna putih tulang, PTE-Pga dengan koloni berwarna putih kekuningan, PTE6 koloni yang berwarna putih tulang dan berkerak, PTE5 dengan koloni yang berwarna orange, PTE-P4A3 dengan koloni berwarna putih susu, PTE-PCA dengan koloni berwarna kuning, PTE-P1A dengan koloni berwarna putih susu dan dengan berlendir.

Lokasi yang ke 2 di dapatkan isolat dengan jumlah 10 isolat dengan morfologi yang berbeda PTE1 dengan koloni yang berwarna putih susu dan berlendir, PTE2 dengan koloni yang berwarna putih tulang dan berkerak, PTE3 dengan koloni yang berwarna kuning dan berlendir, PTE4 dengan koloni yang berwarna putih kecoklat-coklatan, PTE4 dengan koloni yang berwarna putih keruh keruh, PTE-P2D1 berwarna putih susu dengan permukaan licin serta melekat pada medium , isolat PTE-P53 berwarna merah dengan permukaan koloni licin, PTE7 dengan koloni yang berwarna putih susu dan berlendir, PTE8 dengan koloni berwarna putih susu dengan permukaan licin serta melekat pada medium, PTE9 dengan koloni yang berwarna kecoklatan dan berkerak dan PTE-P4a dengan koloni berwarna putih susu dengan permukaan licin serta melekat pada medium.

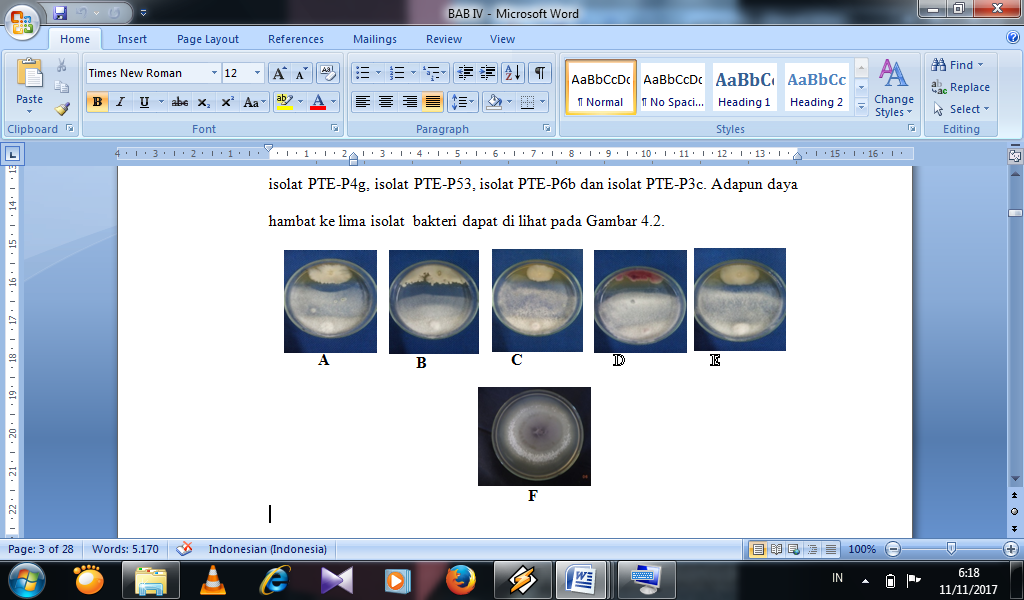
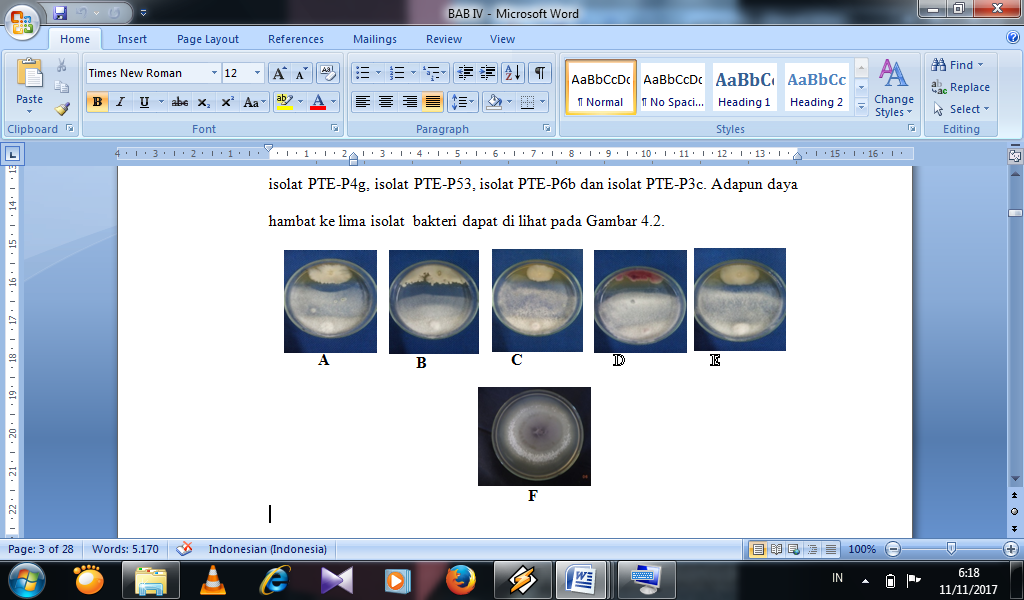
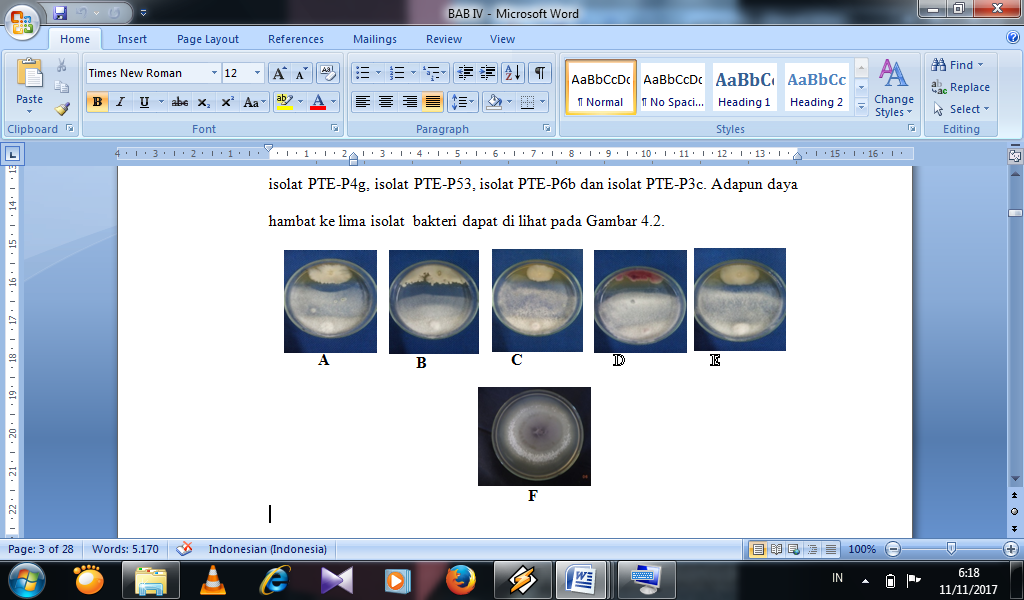
**Tabel 4.1.** Jumlah Isolat bakteri yang diisolasi dari rizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca*)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No | Sampel | Kode isolat | Gambar |
| 1 | B1 | PTE-P1A | E:\New folder\20170823_122959.jpg |
| 2 | B2 | PTE-P3c | E:\New folder\20170823_123045.jpg |
| 3 | B3 | PTE 4 | E:\New folder\20170823_123126.jpg |
| 4 | B4 | PTE 5 | E:\New folder\20170823_123025.jpg |
| 5 | B5 | PTE-P2e | E:\New folder\20170823_123208.jpg |
| 6 | B6 | P2D1 | E:\New folder\20170823_123224.jpg |
| 7 | B7 | PTE-P6b | E:\New folder\20170823_123249.jpg |
| 8 | B8 | PTE-P4a | E:\New folder\20170823_123436.jpg |
| 9 | B9 | PTE-P53 | E:\New folder\20170823_123457.jpg |
| 10 | B10 | PTE-P2c | E:\New folder\20170823_123520.jpg |
| 11 | B11 | PTE5 | E:\New folder\20170823_123524.jpg |
| 12 | B12 | PTE3 | E:\New folder\20170823_123551.jpg |
| 13 | B13 | PTE-P4a2 | E:\New folder\20170823_123617.jpg |
| 14 | B17 | PTE-PA3 | E:\New folder\20170823_123700.jpg |
| 15 | B15 | PTE-PGA | E:\New folder\20170823_123700.jpg |
| 16 | B16 | PTE 6 | E:\New folder\20170823_123738.jpg |
| 17 | B17 | PTE-PA3 | E:\New folder\20170823_123725.jpg |
| 18 | B18 | PTE-Pad1 | E:\New folder\20170823_123822.jpg |
| 19 | B19 | PTE-P4a1 | E:\New folder\20170823_123838.jpg |
| 20 | B20 | PTE-P531 | E:\New folder\20170823_123853.jpg |
| 21 | B21 | PTE-P3c | E:\New folder\20170823_123905.jpg |
| 22 | B22 | PTE-P53 |  |
| 23 | B23 | PTE-P4G |  |

**Keterangan** : (A) Sampel 1; (B) Sampel 2; PTE menunjukkan kode isolat yang merupakan singkatan dari Pisang Tanduk Enrekang

**3. Uji antagonis isolat bakteri dengan *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae***

Sebanyak 23 isolat bakteri yang dilakukan pengujian antagonis terhadap Fusarium oxysporum f.sp musaceae. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghambat Fusarium oxysporum. Dari 23 isolat bakteri yang telah diuji antagonis maka diperoleh 5 isolat yang memiliki nilai daya hambat tertinggi terhadap Fusarium oxysporum yaitu isolat PTE-P4a, isolat PTE-P4g, isolat PTE-P53, isolat PTE-P6b dan isolat PTE-P3c. Adapun daya hambat ke lima isolat bakteri dapat di lihat pada Gambar 4.2.

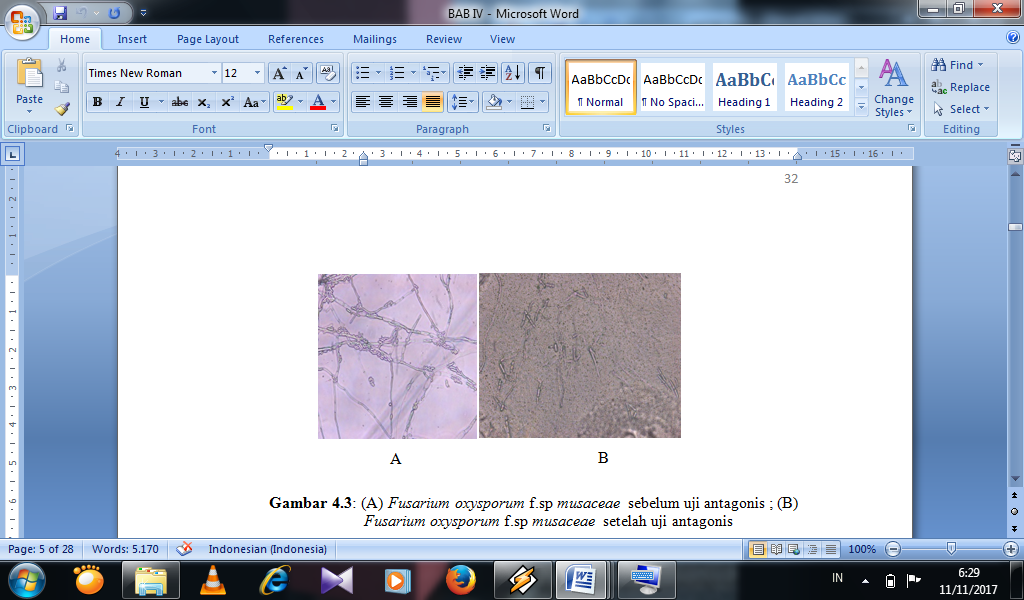
**Gambar 4.2**: Hasil uji antagonis isolat bakteri terhadap fungi uji *Fusarium oxysporum*f. sp *musaceae* A) PTE-P3c; B) PTE-P6b; C) PTE-P4a; D) PTE-P53; E) PTE-P4g dan (F) Control

Gambar 4.2 menunjukkan gambar luas zona hambatan dari isolat PTE-P4g, isolat PTE-P6b, isolat PTE-P3c, isolat PTE-P53, isolat PTE-P4a terhadap Fusarium oxysporum f.sp musaceae. Adapun persentase zona hambat hasil uji antagonis masing-masing isolat bakteri berdasarkan uji statistik dapat dilihat pada Tabel 4.1.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Nilai |
| Kontrol | 00a |
| B1p4g | 65.54bc |
| B2P4a | 63.41cd |
| B3P3c | 64.21cd |
| B4p53 | 73.70ab |
| B5P6b | 77.09a |

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

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa semua perlakuan berbeda nyata dengan kontrol. Adapun nillai persentase zona hambat terbesar adalah pada isolat PTE-P6b yaitu 77.09a tidak berbeda nyata dengan isolat bakteri PTE- P53 yaitu 73.70ab tetapi berbeda nyata dengan ,isolat PTE- P3c, isolat PTE-P4a dan PTE- p4g dengan nilai persentase zona hambat sebesar 64.21cd; 63.41cd ; 65.54bc. Berdasarkan uji statistik tidak ada perbedaan nyata pada semua perlakuan kecuali pada kontrol. Berikut adalah gambar perbandingan antara Fusarium oxysporum f.sp musaceae sebelum uji antagonis dan Fusarium oxysporum f.sp musaceae setelah uji antagonis



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

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa pada gambar A morfologi mikroskopis Fusarium oxysporum f.sp musaceae sebelum di uji antagonis, gambar B menunjukkan morfologi mikroskopis *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae* setelah uji antagonis dan terlihat miselium pada *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae* patah-patah.

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

Isolat bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan Fusarium oxysporum f.sp musaceae selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi yang di tumbuhkan pada medium pertumbuhan yaitu medium NA (Nutrient Agar). Parameter pengamatan yang dilakukan meliputi karakterisasi warna koloni, bentuk koloni, elevasi, permukaan koloni dan permukaan dalam koloni. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri yang menghasilkan senyawa anti fungi dapat dilihat pada Tabel 4.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Karakter | Kode Isolat | | | | |
| PTE-P4g | PTE-P6b | PTE-P3c | PTE-P53 | PTE-P4a |
| 1 | Warna koloni | Kuning | Putih susu | Putih tulang | Merah | Kuning |
| 2 | Bentuk koloni | *Circular* | *Circular* | *Circular* | *Irregular* | *Irregular* |
| 3 | Elevasi | *Convex* | *Flat* | *Flat* | *Convex* | *Convex* |
| 4 | Tepi koloni | *Entire* | *Entire* | *Undulate* | *Undulate* | *Undulate* |
| 5 | Permukaan koloni | Licin dan berlendir | Licin | Licin dan berkerak | Licin dan berlendir | Licin dan berlendir |
| 6 | Permukaan dalam koloni | *smooth* | *smooth* | *Smooth* | *smooth* | *smooth* |

Isolat bakteri asal rizosfer yang dapat menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp *musaceae* terdapat 5 isolat bakteri yaitu Isolat bakteri PTE-P4g, PTE-P5b, PTE-P6b, PTE-P4a, dan PTE-P3c dengan karateristik morfologi koloni secara makroskopis pada media umum tampak semua koloni bakteri memiliki warna koloni berupa kuning, putih susu, putih tulang dan merah, bentuk

koloni yaitu *circular* dan *Irregular,* sebagian besarelevasinya *Convex* dan *Flat*, tepi koloninya *Undulate* dan *Entire* serta permukaan koloni berupa licin, berlendir dan berkerak dan permukaan dalam koloni yaitu *smooth.*

**5. Karakterisasi biokimia dan fisiologi isolat bakteri**

Isolat yang terpilih memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antifungi terdiri atas lima isolat kemudian dikarakterisasi berdasarkan karakteristik biokimia dan fisiologi untuk mengetahui respon pertumbuhan isolat bakteri terhadap pengaruh faktor lingkungan maka dilakukan beberapa pengujian meliputi karakterisasi morfologi seperti reaksi Gram, pembentukan endospora, misellium udara, pertumbuhan anaerobik, koloni kuning pada Yeast Ekstrak Agar (YDC), fluorescens pigmen, koloni kuning pada Yeast Ekstrak Agar (YDC)/ Nutrient Agar (NA), produksi urea, pengujian Asam Sianida (HCN) dan pengujian antobiotik. Data karakterisasi berdasarkan karakteristik biokimia dan fisiologi isolat

bakteri penghasil senyawa antifungi dapat dilihat pada Tabel 4.4

**Tabel 4.4:** Karakteristik pengujian fisiologi 5 isolat terpilih

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Uji fisiologi | Kode Isolat | | | | |
| PTE-P4g | PTE-P6b | PTE-P3c | PTE-P53 | PTE-P4a |
|  | Pengecatan Gram | - | ++ | + | ++ | - |
|  | Pengujian Pertumbuhan Anaerobik | - | - | ++ | - | - |
|  | Pengujian pembentukan endospora | - | + | + | + | - |
|  | Pigmen Fluoresent | - | - | - | - | - |

Keterangan:

++ : Pertumbuhan isolat bakteri baik

+ : Pertumbuhan isolat bakteri sedang

* : Isolat tidak tumbuh/negatif

**Tabel 4.5 :**Uji karakteristik biokimia 5 isolat terpilih

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Uji Biokimia | Kode Isolat | | | | |
| PTE-P4g | PTE-P6b | PTE-P3c | PTE-P53 | PTE-P4a |
| f | Pengujian Koloni Kuning pada Media YDC | ++ | - | - | - | ++ |
| g | Pengujian Pembentukan Urea | ++ | - | - | - | ++ |
| h | Pengujian Pertumbuhan pd Suhu 330 C pd YDC | ++ | - | - | - | ++ |
| i | Pengujian HCN | - | - | - | - | - |

Keterangn:

++ : Pertumbuhan isolat sumber karbon

+ : Pertumbuhan isolat sumber karbon

* : Isolat tidak tumbuh/tidak mampu menghidrolisis

**B. Pembahasan**

**1. Isolasi dan identifikasi Fusarium oxysporum f.sp musaceae**

Berdasarkan hasil isolasi Fusarium oxysporum pada tumbuhan pisang yang sakit dengan morfologi permukaan atas

memiliki miselium yang berwarna putih dan semakin tua berwarna keungu-unguan, sedangkan permukaan bawah langsung berwarna ungu sampai ungu tua. Menurut, Agustining (2012), morfologi Fusarium oxysporum miseliumnya bersekat-sekat dan mula-mula berwarna putih tetapi lambat laun berwarna krem atau kuning pucat, dan dalam keadaan tertentu berwarna merah mudah agak ungu bila ditumbuhkan pada medium PDA.

*Fusarium oxysporum* membentuk konidium pada suatu badan yang disebut sporodokium yang dibentuk pada permukaan tangkai atau daun sakit pada tangkai yang telah tua. Konidiofor bercabang dan rata-rata mempunyai panjang 70μm, cabang-cabang samping biasanya bersel satu, panjang sampai 14μm, konidium terbentuk pada ujung cabang utama dan pada cabang samping. Mikrokonidium bersel satu atau dua, hialin, jorong atau agak memanjang, berukuran 5-7 x 2,5-3μm. Makrokonidium berbentuk sabit, bertangkai kecil, kebanyakan bersel 4, berukuran 22-36 x 4-5μm. Klamidospora bersel satu, jorong atau bulat, berukuran 7-13 x 7-8μm, terbentuk di tengah hifa atau pada makrokonidium dan seringkali berpasangan. Mikrokonidium banyak dijumpai di dalam jaringan tanaman yang terinfeksi, sedangkan makrokonidium umumnya banyak dijumpai di permuakaan tanaman yang mati karena infeksi Fusarium oxysporum musaceae.

Mekanisme Fusarium oxysporum dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui akar tanaman yang sakit maupun yang sehat hingga menembus pembuluh xilem. Di dalam pembuluh xilem miselium menghasilkan mikrokonidia dalam jumlah yang banyak, disini miselium bercabang-cabang dan masuk keruang-ruang intraseluler. Di dalam pembuluh xilem miselium menghasilkan tiga macam toksin yaitu: asam fusaric, asam dehydrofusaric dan lycomarasmin. Toksin-toksin tersebut akan mengubah permeabilitas membran plasma dari sel tanaman inang sehingga mengakibatkan tanaman yang terinfeksi lebih cepat kehilangan air sehingga tanaman tersebut menjadi layu dan mati.

**2. Isolasi dan pemurnian isolat bakteri asal rizosfer**

Berdasarkan hasil isolasi didapatkan isolat bakteri sebanyak 23. Setelah uji antagonis hanya ada 5 isolat bakteri yang memiliki daya hambat yang tinggi yaitu Isolat baktreri PTE-P4a, Isolat bakteri PTE-P6b, Isolat bakteri PTE-P53, Isolat bakteri PTE-P3c, Isolat bakteri PTE-P4g. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat dikelompokkan ke dalam 3 kelompok yaitu Bacillus, Clostridium dan Xanthomonas dikarenakan karakteristik koloninya mirip dengan beberapa kelompok bakteri tersebut.

Isolat bakteri strain PTE-P6b dan Isolat bakteri strain PTE-P3c setelah pengamatan karakteristik morfologi dan pengidentikasian bakteri memiliki karateristik yaitu bakteri tumbuh pada medium NA (Nutrient Agar), dengan koloni tampak berkerak, berwarna putih tulang, putih susu dan merupakan bakteri aerob. Bacillus mempunyai keunggulan di antaranya mampu membentuk endospora yang tahan panas, yang nantinya bermanfaat dalam proses formulasi, menghasilkan berbagai senyawa penghambat dan mudah dibiakkan. Hal ini sesuai dengan teori menurut (Wisconsin, 2005) Bacillus mampu menghasilkan endospora yang tahan terhadap bahan kimia dan keadaan lingkungan yang tidak cocok.

Isolat bakteri dengan kode isolat PTE-P53 setelah pengamatan morfologi dan karakterisasi bakteri ini termasuk kedalam kelompok bakteri Clostridium memiliki karateristik yaitu bakteri tumbuh pada medium NA (Nutrient Agar), koloni berwarna merah dan putih susu, bakteri gram positif, dan termasuk kedalam bakteri anaerob. Clostridium pada medium Nutrint Agar (NA) tumbuh menyebar dan berfilamen, pinggiran tidak rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih, gram positif, sel umumnya berbentuk rantai, diameter sel 0,5-1µm, panjang sel 2-10 µm. Menurut Holt dkk. (1994), jenis Clostridium berbentuk batang, bergerak dengan peritrichous flagella, bersifat anaerob dengan rentang suhu pertumbuhan 10 – 430C (Komala, 2012).

Bakteri tersebut juga menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan patogen, terutama patogen tular tanah dan mempunyai kemampuan mengkoloni akar tanaman (Soesanto, 2008). Bacillus subtilis dan clostridium memproduksi senyawa metabolit yang bervariasi, baik dari struktur maupun fungsinya. Senyawa metabolit yang dihasilkan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi.

Isolat bakteri dengan kode isolat PTE-P4a dan isolat bakteri PTE-P4g setelah pengamatan morfologi dan karakterisasi bakteri ini termasuk kedalam kelompok bakteri Xanthomonas memiliki koloni yang berwarna kuning, bakteri gram negatif, bulat, cembung, dapat menghasilkan urea, dan pertumbuhan lambat. Karakter mikroskopik, sel berbentuk batang, 0,4-1,0 x 1,2-3 μm dan bergerak dengan satu flagel polar (Agrios, 2005). Xaa bersifat Gram negatif, aerob obligat, oksidasi negatif, katalase positif, metabolisme oksidatif dari glukosa dan menghasilkan pati dan menghasilkan pigmen xanthomonadin. Xanthomonadin yang dihasilkan bakteri ini tidak dapat larut di dalam air tetapi dapat larut di dalam petroleum eter, methanol, dan benzene (Schwartz and Otto, 2000). Bakteri kelompok Xanthomonas mempunyai sifat oksidase negatif dan bersifat patogen pada tanaman (Schaad et al ., 2001). Sebagian besar bakteri kelompok Xanthomonas mempunyai sifat katalase positif (Liu et al ., 2006). Semua spesies dari kelompok Xanthomonas merupakan patogen tanaman dan ditemukan hanya berasosiasi dengan tanaman dan bahan organik (Agrios, 2005)

**3. Uji antagonis isolat bakteri dalam menghambat pertumbuhan Fusarium oxysporum f.sp musaceae**

Sebanyak 23 isolat bakteri yang berhasil diisolasi selanjutnya diuji kemampuan dalam menghambat pertumbuhan Fusarium oxysporum f.sp musaceae. Dari hasil uji antagonis 23 isolat maka di peroleh lima isolat yang aktif menghambat cendawan uji Fusarium oxysporum f.sp musaceae. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona penghambatan.

Persentase zona penghambatan isolat yang aktif menghambat fungi uji yaitu isolat PTE-P4g yaitu 65.54bc, isolat PTE-P4a yaitu 63.41cd, isolat PTE–P3c yaitu 64.21cd, isolat PTE- p53 yaitu 73.70ab dan isolat PTE- P6b yaitu 77.09a (Gambar 4.1). Diduga variasi persentase zona hambatan yang terbentuk dikarenakan adanya perbedaan daya antagonisme dan senyawa metabolit yang dikeluarkan dari masing-masing isolat bakteri dalam penghambatan pertumbuhan fungi patogen. Adapun mekanisme penghambatannya yaitu pada saat terjadi penghambatan diduga isolat bakteri mengeluarkan senyawa metabolit yang mampu melisiskan hifa Fusarium oxysporum f.sp musaceae yang dapat di lihat pada ujung miselium Fusarium oxysporum f.sp musaceae yang tampak terpotong-potong (Gambar 4.3) yang dilihat dibawa mikroskop pembesaran 40x.

Agens hayati pada aktivitasnya ditemukan berbagai macam mekanisme pengendalian seperti senyawa kimia antibiotik dan enzim bakteriolitik (Sood et al., 2007). Senyawa antibiotik merupakan hasil dari metabolisme sekunder bakteri. Menurut Supriadi (2006) bakteri asal rizosfer dapat memproduksi senyawa metabolit yang bervariasi, baik dari struktur maupun fungsinya seperti basitrasin, basilin, basilomisin B, difisidin, oksidifisidin, lesitinase, dan subtilisin. Senyawa metabolit yang dihasilkan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi (Sulistianingsih, 2008).

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

Isolat bakteri asal rizosfer yang dapat menghambat pertumbuhan Fusarium oxysporum f.spmusaceae terdapat 5 isolat bakteri yaitu PTE-P4g dengan karateristik morfologi memiliki warna koloni kuning; bentuk koloni circular; elevasi convex; tepi koloni entire; permukaan koloni licin dan berlendir, permukaan dalam koloni yaitu smooth. Bakteri dengan kode isolat PTE-P6b dengan morfologi memiliki warna koloni putih susu; bentuk koloni circular; elevasi convex; permukaan koloni licin dan berlendir; permukaan dalam koloni smooth, Bakteri dengan kode isolate PTE-P3c memiliki morfologi dengan warna koloni putih susu; bentuk koloninya circular; elevasinya flat; tepi koloni undulate; permukaan koloni licin dan berkerak; permukaan dalam koloni smooth, Bakteri dengan kode isolate PTE-P53 memiliki morfologi dengan warna koloni merah; bentuk koloni irregular; elevasinya convex; tepi koloni undulate; permukaan koloni licin dan berlendir; permukaan dalam koloni smooth dan Bakteri dengan kode isolat PTE-P4a memiliki karateristik yaitu warna koloni kuning; bentuk koloni irregular elevasi convex;tepi koloni undulate; permukaan koloni licin dan berlendir serta permukaan koloni bagian dalam yaitu smooth.

Menurut Dwijoseputro, (2003) pengamatan mikroskopis karateristik morfologi koloni berupa circulair, filamenthous, irregulaer, rhizoid dan spindle, permukaaan koloni berupa flat, raised, convex, dan umbonate. Tepi koloni berupa entire, lobate, undulate, serrate, felamenthous dan curled dan warna koloni bakteri berupa keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

**4. Karakterisasi Pengujian Biokimia dan Fisiologi**

**a) Pengecatan Gram**

Berdasarkan hasil pengamatan pada pegujian pengecatan gram isolat bakteri yang diujikan ada 5 isolat. Pengujian ini bertujuan untuk menentukan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan gram negtif. Pengujian gram menunjukan gram negatif warna merah dan gram positif menunjukkan warna ungu. Setelah penambahan KOH 3% isolat PTE-P4g koloni tidak berlendir ini menandakan bahwa bakteri tersebut gram negatif, isolat PTE-P6b koloni lebih berlendir ini menandakan bahwa bakteri tersebut gram positif, isolat PTE-P3c koloni berlendir ini menandakan bahwa bakteri tersebut gram positif, isolat PTE-P53 koloni lebih berlendir isolat ini menandakan bahwa bakteri tersebut gram positif dan isolat PTE-P4a koloni tidak berlendir. Sifat gram negatif warna merah pada sel bakteri menurut strohl et al.(2001) disebabkan oleh 2 faktor yaitu lapisan peptidoglikan yang tipis (satu sampai dua lapis) dan kadar lipid yang tinggi (20%). Lapisan peptidoglikan yang tipis menyebabkan permeabilitas membran sel lebih besar sehingga kristal yodium yang berfungsi sebagai penguat warna menjadi mudah terlepas. Sedangkan kadar lipid yang tinggi akan mudah larut selama pencucian denagn alkohol dan menyebabkan pori- pori membran sel membesar.

Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang sangat tebal yaitu kurang lebih 20-80 nm, bila di bandingkan dengan bakteri gram negatif dengan tebal peptidoglikan sekitar 2-7 nm. Bakteri gram positif pada umumnya tersusun oleh sebagian besar teichoid acid, polimer-polimer gliserol dan ribitol, serta lipoteichoic acid. lipoteichoic acid dan lipoteichoic acid merupakan unsur khusus pada bakteri gram positif. Komponen tersebut merupakan suatu polimer larut air yang berisi residu gliserol yang berhubungan dengan melalui ikatan fosfodister dan membawa satu atau lebi asam amino. Komponen tersebut berfungsi untuk menjaga transfor ion, integritas selubung sel, dan menjaga permeabilitas eksternal, sehingga bakteri garam positif mampu bertahan hidup dalam kondisi yang kurang sesuai dengan lingkungan hidupnya (Brooks et al., 2005).

**b) Pewarnaan Endospora**

Berdasarkan hasil pengamatan pengujian pewarnaan endospora hanya ada 3 isolat bakteri yang memiliki endospora yaitu isolat bakteri PTE-P53, isolat bakteri PTE-P3c dan isolat bakteri PTE-P63. Hasil dari pewarnaan endospora pada isolat ketiga isolat bakteri menunjukkan bahwa bakteri tersebut menunjukkan hasil positif dengan adanya warna hijau setelah dilakukan pewarnaan endospora. Endospora pada bakteri ini berfungsi untuk melindungi bakteri dari suhu tinggi.

Pada pewarnaan endospora, reagen yang digunakan adalah malachite green dan safranin untuk pewarnaan spora. Hasil dari pewarnaan endospora pada bakteri setelah dilihat dengan menggunakan mikroskop menunjukkan warna hijau yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki endospora. Endospora merupakan struktur yang tahan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim seperti kering, pemanasan dan keadaan asam. Endospora berbentuk sangat padat dan refraktil karena memiliki kandungan air yang sangat rendah. Bakteri yang memiliki endospora sangat sulit diwarnai sehingga dibutuhkan pewarnaan spesifik. Pewarna spesifik yang digunakan adalah malachite green. Bakteri penghasil spora tahan terhadap pewarnaan. bakteri yang menghasilkan spora akan mengikat kuat senyawa pewarna yaitu malachite green dan ketika dilakukan pewarnaan selanjutnya menggunakan safranin, sel spora tidak dapat berikatan dengan pewarna lain karena sudah berikatan dengan malachite green. Oleh karena itu warna bakteri spora adalah hijau.

Bakteri yang tidak memiliki spora cenderung tidak tahan terhadap pengecatan karena hanya memiliki sel vegetatif. Saat diwarnai dengan malachite, sel vegetatif akan mampu berikatan dengan pewarna tersebut tetapi dapat dilunturkan setelah dilakukan pencucian karena tidak berikatan kuat dengan pewarna malachite green. Setelah itu dilakukan pengecatan dengan menggunakan safranin dan sel vegetatif akan berikatan dengan pewarna safranin sehingga warna yang dihasilkan ketika diamati oleh mikroskop akan menunjukkan warna merah muda (Assani,1994).

**c.) Pertumbuhan Anaerobik**

Berdasarkan hasil pengujian pertumbuhan anaerob dengan menggunakan medium Hugh Leifson untuk pertumbuhan isolat PTE-P3c, isolat PTE-P6b, untuk isolat PTE-P4g, dan isolat PTE-P4a tidak mampu tumbuh karena tidak ada oksigen.Menurut Hadiwidodo, 2012 mikroorganisme aerob yang memerlukan oksigen sebagai akseptor elektron dalam proses respirasi.

Berdasarkan hasil identifikasi pada isolat bakteri untuk isolat PTE-P3c dan PTE- P6b tidak mampu tumbuh pada medium hugh leifson, kedua isolat termasuk kedalam bakteri Bacillus. Menurut Norman (2005), bentuk sel bacillus adalah batang pendek dan lurus,berukuran antara 0,5-2,5x 1,2-10 µm, dan golongan bakteri ini termasuk gram positif dan bersifat motil karena mempunyai flagel di seluruh bagian selnya. Endospora berbentuk oval atau berbentuk silindris sangat resisten terhadap perubahan lingkungan.

Isolat PTE-P53 pertumbuhannya sangat baik di tandai dengan adanya perubahan warna pada medium yaitu berwarna kuning dengan uji positif Jika terjadi perubahan warna menjadi kuning dan keruh pada uji fermentative maka reaksinya positif. kebutuhan oksigen tidak mutlak diperlukan mikroorganisme karena ada juga kelompok yang tidak memerlukan oksigen bahkan oksigen merupakan racun bagi pertumbuhan. Menurut Komala, (2012) Mikroorganisme anaerob adalah mikroorganisme yang tidak memerlukan O2 karena oksigen akan membentuk H2O2 yang bersifat toksik dan meyebabkan kematian.

Mikroorganisme anaerob tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H2O2 menjadi air dan oksigen. Mikroorganisme fakultatif anaerob adalah mikroorganisme yang tetap tumbuh dalam lingkungan kelompok fakultatif anaerob. Mikroorganisme mikroaerofilik adalah mikroorganisme yang memerlukan oksigen dalam jumlah terbatas karena jumlah oksigen yang berlebih akan menghambat kerja enzim oksidatif dan menimbulkan kematian (Hadiwidodo,2012).

Berdasarkan hasil pengujian anaerob isolat PTE-P53 yang dapat tumbuh ini menandakan bahwa bakteri tersebut merupakan kelompok dari Clostridium. Menurut Holt dkk. (1994) clostridium merupakan bakteri berbentuk batang, anaerobik (tidak dapat tumbuh di lingkungan yang mengandung oksigen bebas), Gram-positif, dapat membentuk spora, dan dapat memproduksi racun syaraf yang kuat. Sporanya tahan panas dan dapat bertahan hidup.

**d.) Pigmen flourocenst**

Berdasarkan hasil pengamatan pada isolat bakteri PTE-P4a yang dipendarkan di bawah sinar ultraviolet (UV) yang ditumbuhkan di medium Kings’B menunjukkan karakteristik pertumbuhan koloni, yaitu koloni berbentuk bulat, halus, berwarna kuning dengan tepi sedikit bergelombang namun tidak memproduksi pigmen fluoresen, pada dan isolat bakteri PTE-P4g yang di pendarkan di bawah sinar ultra violet (UV) koloni berbentuk bulat, halus, berwarna kuning tetapi tidak menghasilkan warna hijau berpendar sehinggadigolongkan sebagai bakteri non pendar fluor Menurut Schaad (1988), Adanya pigmen fluoresen setelah bakteri ditumbuhkan pada medium Kings’B menunjukkan bahwa bakteri termasuk golongan Pseudomonas fluorescens (Masnilah, 2013).

Medium King’s B merupakan medium yang sedikit mengandung ion Fe (Sands, 2001) sehingga bakteri yang temasuk ke dalam kelompok Pseudomonas fluoresen akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Siderofor dapat dideteksi dengan adanya pigmen warna kuning kehiajuan yang berdifusi ke dalam medium King’s B. Pigmen yang berdifusi ke dalam medium menjadi lebih jelas terlihat apabila diamati di bawah lampu ultraviolet dengan gelombang panjang (365 nm). Secara individu, bakteriberbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 – 1,5-4,0 m (Asrul, 2007 )

Pigmen adalah zat yang terdapat di permukaan suatu benda sehingga bila disinari dengan cahaya putih sempurna akan memberikan sensasi warna tertentu yang mampu ditangkap mata. Proses secara fisik sangatlah berbeda dengan fluorescent, phosphorescence dan bentuk lain dari luminescence, yang mana materi tersebut dapat mengeluarkan cahaya dengan sendirinya (Sudarma, 2010).

**f. ) Produksi Urea**

Pada pengujian pembentukan urea dengan menggunakan medium Urea broth merupakan media differensial yang dapat membedakan bakteri penghasil eksoenzim yaitu enzim urease (untuk menghidrolisa urea menjadi amonia karbondioksida). Kandungan Urea broth meliputi Buffer, Urea, sedikit nutrient, indicator phenol red. Phenol red berubah jadi kuning pada lingkungan asam, berubah merah muda pada lingkungan basa. Prinsip uji urease yaitu media urea terdegradasi menjadi amoniak menyebabkan lingkungan basa, maka media menjadi merah muda . Sebagian besar bakteri golongan enteric dapat mendegrasi urea, tetapi lambat (Katzung,1999).

Hasil dari pengujian isolat PTE-P4g dan isolat PTE-P4a pada medium terjadi perubahan warna yaitu perubahan warna dari kuning menjadi merah maka terindikasi terbentuknya urea yang berarti reaksi positif. Bakteri ini dapat menghasilkan urea, Fungsi uji urease adalah mendeteksi bakteri yang dapat mendegradasi dengan cepat “urea dan mengidentifikasi beberapa mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim urease dan urea menjadi amonia, CO2. Uji positif dapat dilihat denagan adanya perubahan warna pada media dengan uji positif yaitu perubahan medium dari warna dari kuning menjadi merah (Katzung, 1999).

Bakteri patogen yaitu proteus yang menghasilkan enzim urease yang dapat melepaskan amonia. Dengan adanya indikator Fenol Red dalam suasana basa (membebaskan amonia) menyebabkan naiknya pH 6,8-8,1 sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah keunguan. Bila urea dihidrolisiskan, NH4+ terakumulasi dalam media biakkan dan menyebabkan pH media menjadi basa. Perubahan warna dari merah-jingga menjadi merah ungu merupakan petunjuk terjadinya hidrolisis urea. Uji ini digunakan untuk mengidentifikasi adanya bakteri patogen, antara lain: Xanthomonas dan Xylophilus sp, dimana bakteri ini menghasilkan enzim urea yang dapat membebaskan amonia(Schaad et al. 2001).

Xanthomonas sp. merupakan bakteri berbentuk batang, pendek, berukuran 1-2 x 0.3-0,5 μm, tidak membentuk rantai, tidak berspora, dan tidak berkapsul. Bakteri ini dapat bergerak menggunakan flagellumnya yang tunggal dan polar. Pada media NA koloni bakteri ini bundar, cembung, halus mengkilat dan berwarna kuning, bersifat aerobik, Gram-negatif, dan dapat mengoksidasi glukosa sehingga pada media Levan koloninya berlendir. Selain itu Xanthomonas sp (Liu,2006).

**g.) Pengujian HCN**

Pada hasil penelitian ini semua isolat bakteri yaitu Isolat PTE-P4g, PTE-P3c, PTE-P6b, PTE- P53 dan PTE-P4a tidak terjadi perubahan pada kertas saring hal ini menandakan bahwa semua isolat bakteri tidak dapat menghasilkan hidrogen sianida. Indikator pengamatan ini yaitu perubahan warna kertas saring yang digunakan berubahnya warna kertas saring dari kuning menjadi coklat muda atau kuning kecoklatan, coklat tua dan coklat kemerahan sebagai indikasi tingkat kemampuan bakteri dalam menghasilkan HCN. Menurut Kremer, (2001). Perubahan warna kertas saring terjadi akibat adanya reaksi antara asam pikrat/Na2CO3 dan sianida yang dihasilkan oleh bakteri menjadi bentuk natrium sianida (NaCN). NaCN terbentuk melalui penyerapan gas sianida oleh larutan NaOH atau Na2CO3 melalui reaksi antara natrium dan amonia yang pada awalnya akan terbentuk NaNH2 yang akan bereaksi dengan karbon dan akan menghasilkan natrium sianamida (Na2NCN) dan akhirnya akan terbentuk NaCN yang merupakan salah satu jenis dari sianida.

Hidrogen sianida adalah senyawa anorganik. Sianida sangat bersifat reaktif, sehingga biasanya sianida ditemui berikatan dengan senyawa lain diantaranya adalah hidrogen sianida, sodium sianida dan potasium sinida. Kelompok organisme yang dapat menghasilkan sianida meliputi bakteri, jamur, tanaman dan ganggang (Ryall,2008).

Asam sianida (HCN) merupakan gas yang sangat beracun, tidak bewarna dan terbentuk bila sianida direaksikan dengan sianida. Asam sianida dibentuk secara enzimatis dari dua senyawa precursor (pembentuk racun) yaitu linamarin dan mertil linamarin. Linamarin dan mertil linamarin akan bereaksi denganenzim linamarase dari oksigen dari lingkungan yang kemudian mengubahnya menjadi glukosa,aseton dan asam sianida.Asam sianida bersifat cair, tidak berwarna dan larut dalam air. Zat glikosida ini diberi nama linamarin yang berasal dari aseton sianidrin yang bila di hidrolisis akan terurai menjadi glukosa, aseton, dan HCN.

Hasil penelitian Kremer dan Souissi (2001), menunjukkan beberapa strain dari Pseudomonas juga dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa HCN yang dapat mempengaruhi metabolisme akar dan pertumbuhan akar dari gulma.

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

Yeast Dextrose Carbonat (YDC) merupakan media semi selektif untuk pertumbuhan bakteri Xanthomonas sp. dan menjadi uji untuk membedakan antara bakteri Xanthomonas sp. dengan Xylophilus sp.. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri berwarna kuning pada media. Isolat bakteri dengan menginokulasikan bakteri kedalam medium YDC. Hasil yang di dapatkan pada isolat PTE-P4A koloni berwarna kuning muda dan isolat PTE-P4G tampak koloni yang berwarna kuning tua, Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Schaad et al. (2001) pada medium YDC, koloni berwarna kuning muda sampai kuning tua, cembung, dan mukoida. Suhu optimum untuk pertumbuhan.

Xanthomonas antara 250C- 300C dan suhu minimum berkisar antara 5-100C. Suhu yang cocok untuk pertumbuhan awal adalah 200C pada suspensi yang agak encer. Derajat keasaman (pH) untuk menumbuhkan bakteri ini berkisar antara 6,2-6,4 atau yang berbeda tergantung strain bakteri dan medium yang dipakai (Liu,2006).

Xanthomonas adalah bakteri yang berbentuk batang dengan kedua ujung membulat, berukuran pendek, dengan panjang berkisar antara 0,7-2.0 µm dan lebar antara 0,4-0,7 µm, memiliki satu flagel, tanpa spora, Ciri khas genus Xanthomonas adalah koloninya berlendir, dan menghasilkan pigmen berwarna kuning yang merupakan pigmen xanthomonadin(Bradbury, 1984; Liu et al., 2006). Bentuk koloni pada medium biakan adalah bulat dan cembung.

**Kesimpulan**

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

1. Fusarium oxysporum yang di dapatkan yaitu Fusarium oxysporum f.sp musacea dengan morfologi permukaan atas memiliki miselium yang berwarna putih dan semakin tua berwarna keungu-unguan, sedangkan permukaan bawah langsung berwarna ungu sampai ungu tua.

2. Sebanyak 25 isolat yang berhasil di isolasi dari sampel Rizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) dengan koloni berlendir dan melekat erat pada medium

3. Isolat bakteri yang mampu menghambat Fusarium oxysporumf sp musaceae ada 5 isolat yaitu PTE- P4a dengan persentase zona hambat berdasarkan uji statistik yaitu 65.54bc, PTE-P4g yaitu 63.41cd, PTE-P3c yaitu 64.21cd, PTE-P53 yaitu 73.70abdan P6b yaitu 77.09a

4. Isolat bakteri yang mampu menghambat Fusarium oxysporum f sp musaceae memiliki ciri morfologi Isolat bakteri asal rizosfer yang dapat menghambat pertumbuhan Fusarium oxysporum f.sp musaceae terdapat 5 isolat bakteri yaitu Isolat bakteri PTE-P4g, PTE-P5b, PTE-P6b, PTE-P4a, dan PTE-P3c dengan karateristik morfologi koloni secara makroskopis pada media umum tampak semua koloni bakteri memiliki warna koloni berupa kuning, putih susu, putih tulang dan merah, bentuk koloni yaitu circular dan Irregular, sebagian besar elevasinya Convex dan Flat, tepi koloninya Undulate dan Entire serta permukaan koloni berupa licin, berlendir dan berkerak dan permukaan dalam koloni yaitu smooth.

5. Jenis bakteri yang dapat menghambat Fusarium oxysporum f.sp musaceae setelah dilakukan karakterisasi dan identifikasi terdapat 3 jenis bakteri yang ditemukan yaitu Basillus, Clostridium dan Xanthomonas

**Saran**

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

1. Isolat bakteri yang didapatkan dilakukan pengujian untuk di aplikasikan langsung ke tanaman pisang yang memiliki gejala terserang layu fusarium yang disebabkan oleh cendawan Fusarium oxysporum f.sp musaceae

2.Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan hingga tahap identifikasi molekuler untuk mengetahui kedudukan filogenik isolat bakteri istrain PTE- P4a, PTE-P4g, PTE-P3c, PTE-P53dan PTE-P6b

**DAFTAR PUSTAKA**

Agrios, GN. 1996. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Busnia, M penerjemah. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Terjemahan dari *Plant Pathology 3rd ed.*

Augustine,S.K.,Bhavsar,S.P.,and Kapadnis, B.P.,2005. Anon-Polyene Antifugal Antibiotic from *Streptomycesalbidoflavus* PU 23. J. Biosci. 30 (20): 201-211.

Asrul. 2007. Deteksi patogen penyebab penyakit hawar daun bakteri dari benih kedelai. Agroland. 14(1): 18-23.

Dwijoseputro, D. 2003. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan : Jakarta.

Holt, J. G., N.R. Krieg, P. H. A., Sneath, J. T. Staley, and S. T. William. 1994. Bergey’s Manual of Determinaiive Bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins.

Liu, D.N.O., P.C. Ronald.,and A.J. Bogdanove. 2006. Xanthomonas oryzae pathovars:model pathogens of model crop. Blackwell Publishing LTD. Pp. 303-324.

Masnilah R, AL Abadi, TH Astono, LQ Aini. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di Jember. BerkalaIlmiah Pertanian 1(1): 10-14.

Ryall B, Lee X, Zlosnik JEA, S Hoshino, HD Williams. 2008. Bacteria of Burkholderia cepacia Complex are Cyanogenic Under Biofilm and Colonial Growth Condition. Biomed Central Microbiology. 8:108.

Sood, A., Shivesh S., K. Viviek dan L. T. Ram. (2007). Antagonism of Dominant Bacteria in Tea Rhizosphere of Indian Himalayan Regions. Journal Appl. Science Environment Management. Vol. 11. Edisi 4. Hal 63-66

Schwartz, H.F. and Otto, K. J. 2000. First report of leaf blight of onion caused by Xanthomonas campestris in Colorado. Plant Disease 84. hal 922.

Schaad NW, JB Jones, W Chun. 2001. Laboratory Guide For Idetification of PlantPathogenic bacteria. Third Edition. Minnesota: The AmericanPhytopathological Society

Soerjandono NB. 2005. Teknik Pengendalian Gulma Dengan Herbisida Persistensi Rendah pada Tanaman Padi. Buletin Teknik Pertanian. 10(1).

Supriadi. 2006. Present Status of Blood disease In Indonesia. In: C. Allen, P. Prior, A.C. Hayward. Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex. American Phytopathological Society Press, Minnesota.

Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. Penerbit Raja Grafindo Persada, Jakarta. Hal. 573.

Sulistiyaningsih. 2008. Identifikasi isolat bakteri penghasil zat antibakteri dari cairan kantung tanaman kantong semar (Nepenthes ampullaria, Jack). Skripsi. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Bandung.

Sudarma MI. 2010. Seleksi dan Pemanfaatan Actinomycetes Sebagai MikrobaAntagonis yang Ramah Lingkungan Terhadap Fusarium oxysporum f.sp cubense Secara In Vitro. Fakultas Pertanian. Universitas Udayana.