

Isolasi dan Seleksi Bakteri Antagonis untuk Pengendalian Penyakit Busuk Batang Panili (*Vanilla planifolia* Andrews) Secara *In Vitro*

I MADE ARIMBAWA¹

GUSTI NGURAH ALIT SUSANTA WIRYA^{1*)}

I MADE SUDANA¹

I MADE WINANTARA²

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali 80231

²Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Badung

*)Email: alitsusanta@yahoo.com

ABSTRACT

Isolation and Selection of Antagonistic Bacteria to Control Stem Rot Disease on Vanilla Plant (*Vanilla planifolia* Andrews) by *In Vitro* Test.

Isolation, selection, and identification of effective microbes are important steps to obtain biological agents. The purpose of this research was to get potential bacteria as controlling agents for stem rot of vanilla. The research was conducted at Plant Disease Laboratory, Faculty of Agriculture, Udayana University, Denpasar, from December 2017 to February 2018. The research comprised of isolation and identification the pathogen of stem rot of vanilla, pathogenicity test, isolation and identification of antagonistic bacteria, *in vitro* test of antagonistic bacteria ability to controled the pathogen of stem rot of vanilla, and hypersensitive response of antagonistic bacteria on tobacco plant. The result showed that the pathogen of stem rot on vanilla plants was identified as *Fusarium oxysporum*. There of 21 isolates of bacteria that has been isolated from field, there were 7 isolates could suppress of *F. oxysporum* growth are isolates P001, P002, P003, P004, P005, BM02, and BM03. *In vitro* test of antagonistic bacterial with *F. oxysporum* showed that isolate P002 could suppress pathogen growth with the highest percentage (98,36%), P005 (98,34%), P001 (92,78%), P003 (82,02%), P004 (80,34%), BM02 (71,80%), and BM03 (66,70%). Hypersensitive respons test showed that isolates P001, P002, P003, P004, P005, BM02, and BM03 weren't pathogenic for plants.

Keywords: *stem rot of vanilla*, *F. oxysporum*, *biological control*, *antagonistic bacteria*

1. Pendahuluan

Busuk batang panili (BBP) merupakan salah satu kendala utama dalam usahatani panili di Indonesia sampai saat ini (Kosmiatin *et al.*, 2000; Zaubin *et al.*,

2010). Penyakit BBP dapat menyerang seluruh bagian tanaman pada semua fase pertumbuhan tanaman, tetapi serangan utama biasanya pada batang (Tombe dan Liew, 2010). Penyakit ini menyebabkan kerugian yang sangat besar akibat matinya tanaman (50% - 100%), memperpendek umur produksi dari 10 kali panen menjadi dua kali, mutu buah sangat rendah, bahkan tidak dapat berproduksi sama sekali (Hadisutrisno, 2004).

Menurut Suniti (2015) berbagai usaha pengendalian penyakit BBP yang telah dilakukan sampai saat ini seperti penggunaan pupuk buatan, rotasi tanaman, pemberoan tanah, perlakuan fungisida, dan zat pengatur tumbuh ternyata belum sepenuhnya dapat mengatasi permasalahan tersebut. Pemanfaatan mikroba antagonis untuk mengendalikan patogen tumbuhan adalah salah satu alternatif untuk mengurangi dampak negatif penggunaan pestisida kimia sintetis terhadap lingkungan, tanaman budidaya maupun konsumen. Pengendalian ini dikenal sebagai pengendalian hayati atau *biological control* yang sekarang banyak diterapkan.

Beberapa mikroba antagonis dari golongan bakteri telah dilaporkan mampu mengendalikan penyakit tanaman antara lain: bakteri *Pseudomonas flourecens* dan *Bacillus* sp. (Saputra *et al.*, 2015). Soesanto (2000) melaporkan bahwa bakteri *P. flourecens* merupakan salah satu bakteri antagonis berpotensi untuk mengendalikan penyakit patogen tular tanah. Penggunaan bakteri antagonis juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui beberapa mekanisme sehingga memberikan perlindungan terhadap tanaman dari serangan fitopatogen. Kemampuan bakteri inilah yang perlu dimanfaatkan untuk mencegah serta mengurangi kerusakan akibat patogen tumbuhan. (Keel and Defago 1997).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi bakteri antagonis asal jaringan berbagai jenis tanaman yang memiliki kemampuan menekan pertumbuhan patogen penyebab busuk batang panili, sehingga nantinya dapat dijadikan alternatif pengendalian yang bersifat ramah lingkungan.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama tiga bulan mulai dari bulan Desember 2017 sampai bulan Februari 2018. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Konsentrasi Perlindungan Tanaman, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *deck glass*, *cover glass*, cawan petri (*petridish*), mikroskop, pinset, tisu, kantong plastik, kertas label, gunting, alat tulis, penggaris, alat semprot (*sprayer*), kamera, masker, *erlenmeyer*, gelas ukur, micro pipet, *mortar* dan *pestle*, jarum oze, *autoclave*, sendok, *rotary shaker*, jarum suntik, dan *laminar air flow cabinet*. Bahan yang digunakan adalah media *Potato Dextrose Agar/ PDA*, *nutrient agar* (NA), dan *nutrient broth* (NB), King B, alkohol

90%, alkohol 70%, larutan KOH 10%, akuades, Natrium Hipoklorit 2%, Tween 20, tanaman panili yang mengalami gejala BBP, dan tanaman tembakau.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan penelitian meliputi isolasi dan identifikasi jamur patogen, uji patogenitas, isolasi dan seleksi bakteri antagonis, uji *in vitro* kemampuan penghambatan bakteri antagonis terhadap jamur patogen, dan uji hipersensitif.

2.3.1 Isolasi dan Identifikasi Jamur Patogen

Isolasi patogen dari jaringan tanaman mengikuti metode (Koyyappurath *et al.*, 2015) dengan sedikit modifikasi. Jamur patogen diisolasi dari batang tanaman panili yang menunjukkan gejala terinfeksi. Bagian batang yang terinfeksi dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dipotong melintang di antara bagian yang sehat dengan yang sakit dengan ukuran sekitar 1x1 cm. Setiap potongan dicelupkan pada alkohol 70% kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Sebanyak 3-4 potongan batang diletakkan pada media PDA dalam cawan petri. Potongan batang diinkubasi dalam media PDA pada suhu ruang selama 4-5 hari. Setelah tumbuh jamur patogen, dimurnikan dengan mengambil ujung hifa dari jamur patogen kemudian dipindahkan pada media PDA baru.

2.3.2 Uji Patogenitas

Jamur patogen yang telah diisolasi dari tanaman panili yang mengalami busuk batang diinokulasikan pada stek tanaman panili yang berumur 1 bulan. Uji patogenitas dapat dilakukan dengan cara menyuntikkan dan menyiramkan patogen hasil isolasi pada stek tanaman panili sehat, kemudian diamati gejala yang timbul.

2.3.3 Isolasi dan Seleksi Bakteri Antagonis

Isolasi dan seleksi bakteri antagonis dilakukan untuk memperoleh kandidat bakteri antagonis yang memiliki kemampuan penghambatan terhadap patogen penyebab BBP. Isolasi ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu: isolasi bakteri antagonis, uji gram, pengamatan morfologi koloni, dan uji fluorescens.

2.3.3.1 Isolasi bakteri antagonis

Isolasi bakteri antagonis dilakukan dengan mengikuti metode Munif (2011) dengan sedikit modifikasi. Sampel bakteri antagonis diisolasi dari berbagai tanaman. Bagian tanaman dicuci bersih lalu dikering anginkan di atas kertas tisu steril. Sebanyak 1 gram sampel disterilisasi permukaannya dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, NaOCl 2% yang ditambah 0.05% Tween 20 selama 1 menit dan dibilas dengan akuades steril 3 kali. Sampel kemudian dikeringkan dengan kertas tisu steril dan diinokulasikan pada media NA 20% dan diinkubasi selama 24 jam. Sampel kemudian digerus menggunakan *mortar* dan *pestle* steril sampai halus

dengan penambahan air 1:10. Selanjutnya dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-6} . Suspensi pada tingkat pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ditumbuhkan pada media NA 20% lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

Pembiakan kandidat mikroba antagonis dilakukan dengan meneteskan suspensi sebanyak 0,5 ml pada media biakan yang sesuai untuk pertumbuhannya. Suspensi yang telah diteteskan pada cawan petri kemudian diratakan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Media yang telah ditumbuhi oleh kandidat mikroba antagonis kemudian disemprotkan dengan spora mikroba patogen yang telah diencerkan pada air steril. Kandidat mikroba antagonis yang menghasilkan zona hambatan dipilih untuk dimurnikan. Koloni mikroba antagonis dari golongan bakteri kemudian diidentifikasi morfologinya.

2.3.3.2 Uji Gram

Isolat bakteri antagonis diambil 1 ose dan digoreskan pada gelas objek steril setelah itu diteteskan larutan KOH 10% di atas isolat dan dilakukan penggoresan menggunakan oze (Abegaz, 2007). Isolat yang termasuk Gram negatif ditunjukkan dengan terbentuknya lendir ketika isolat bakteri diangkat menggunakan jarum oze.

2.3.3.3 Pengamatan morfologi koloni

Masing-masing isolat bakteri dimurnikan dan diremajakan pada media NA untuk mendapatkan isolat tunggal. Isolat bakteri yang tumbuh pada media NA dibedakan berdasarkan karakter morfologi koloni tunggal meliputi; elevasi dan warna koloni (Hadioetomo, 1993).

2.3.3.4 Uji motilitas

Motilitas bakteri diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Sampel bakteri berumur 24 - 48 jam dioleskan pada *deck glass* kemudian ditetesi dengan akuades steril dan ditutup dengan *cover glass* serta diamati di bawah mikroskop. Pergerakan bakteri akan terlihat arah dan kecepatannya yang berbeda dengan partikel air (Mustaqim *et al.*, 2014).

2.3.3.5 Uji flourescens

Uji flourescens dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri pada media King B. Setelah isolat tumbuh 4-5 hari kemudian disinari dibawah sinar UV untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghasilkan pigmen warna kuning sampai hijau bahkan kadang-kadang biru. Pigmen warna kuning kehijauan merupakan salah satu kriteria yang dipakai oleh para ahli untuk memilih bakteri yang bermanfaat, khususnya bakteri *Pseudomonas* yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktivitas patogen (Susanna, 2000).

2.3.4 Uji In Vitro Kemampuan Penghambatan Bakteri Antagonis Terhadap Jamur Patogen

Pengujian dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur patogen bersamaan dengan bakteri anatagonis pada media NA. Bakteri anatagonis ditumbuhkan pada ¼ bagian tengah cawan petri, kemudian jamur patogen ditumbuhkan pada bagian tengah cawan petri. Hasil pengukuran kemudian dihitung untuk mengetahui persentase penghambatan dengan menggunakan rumus:

$$\dots\dots\dots (1)$$

| | |
|-------------------------------------|---|
| | Keterangan: |
| $P = \frac{L0-L1}{L0} \times 100\%$ | P = persentase penghambatan |
| | L0 = Luas koloni jamur patogen pada perlakuan kontrol (cm) |
| | L1 = Luas koloni jamur patogen pada perlakuan bakteri antagonis (cm). |

2.3.5 Uji Hipersensitif

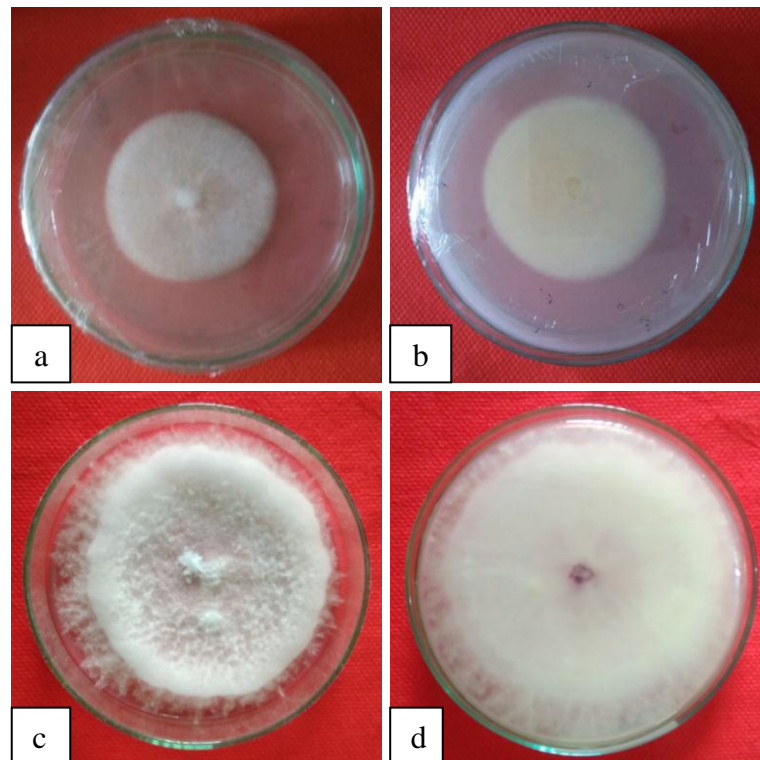
Uji hipersensitif mengikuti Klement and Goodman (1967) dengan menumbuhkan bakteri di dalam cawan petri yang berisi media NA 100%. Setelah 24 jam isolat tunggal bakteri antagonis diperbanyak dengan menggunakan media cair NB dan digoyang selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm. Suspensi bakteri anatagonis tersebut kemudian diambil menggunakan jarum suntik untuk diinjeksikan pada bagian bawah daun tanaman tembakau dan diinkubasi selama 48 jam. Bakteri yang berpotensi sebagai patogen menunjukkan gejala nekrotik (positif) pada daun tembakau, sedangkan bakteri yang bukan patogen tidak menimbulkan gejala nekrotik. Bakteri yang tidak menunjukkan gejala nekrotik mengindikasikan tidak bersifat patogen terhadap tanaman.

3. Hasil dan Pembahasan

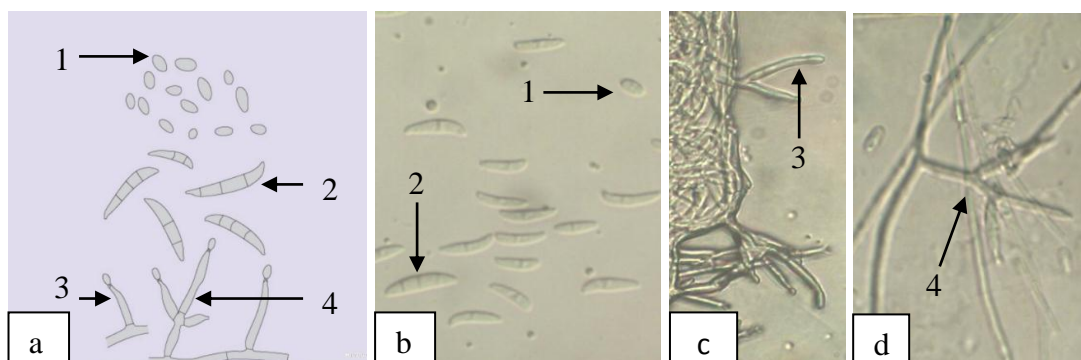
3.1 Isolasi dan Identifikasi Jamur Patogen

Batang tanaman panili yang bergejala busuk batang diisolasi dan diamati perkembangannya secara makroskopis dan mikroskopis. Pada Gambar 1, hasil identifikasi secara makroskopis pembiakan jamur pada media PDA, koloni jamur yang berwarna putih mulai tumbuh pada hari ketiga setelah inokulasi, selanjutnya pada hari kelima koloni berubah warna menjadi ungu. Pada hari ketujuh cawan petri yang berisi media PDA sudah terisi penuh oleh koloni jamur, hal ini sesuai dengan pernyataan Agrios (1997). Identifikasi menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali, menunjukkan karakter morfologi yang paling banyak ditemui dari jamur yang diisolasi dari tanaman panili bergejala busuk batang adalah dua jenis konidia, yaitu makrokonidia dan mikrokonidia (Gambar 2). Hasil pengamatan makrokonidia berbentuk bulan sabit, memiliki ujung sempit, memiliki 3-4 septa dan berwarna transparan, sedangkan mikrokonidia jamur patogen ini berbentuk bulat kecil, bersel

tunggal, memiliki 1-2 septa dan berwarna transparan, hal ini sesuai dengan laporan Semangun (1996).



Gambar 1. Koloni jamur patogen penyebab penyakit busuk batang tanaman panili pada media PDA. (a) Tampak atas pada hari ketiga. (b) Tampak bawah pada hari ketiga. (c) Tampak atas pada hari ketujuh. (d) Tampak bawah pada hari ketujuh.



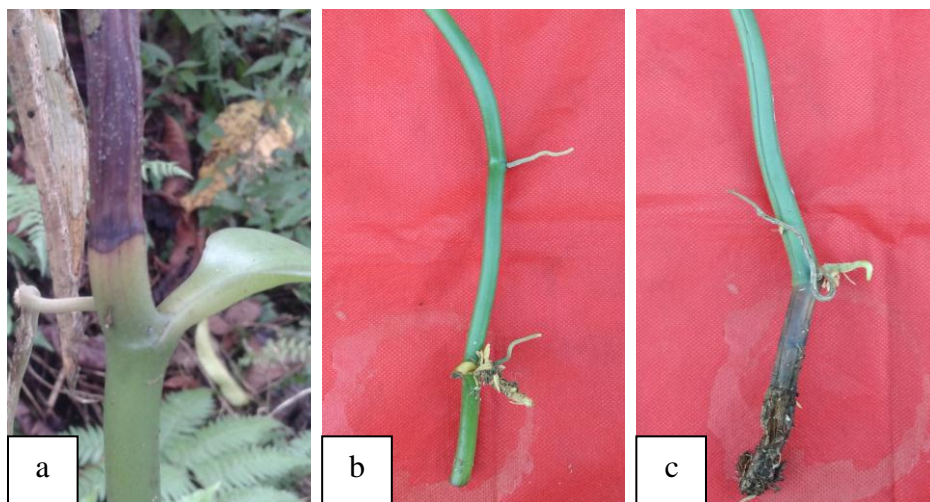
Gambar 2. Struktur *F. oxysporum* hasil pengamatan secara mikroskopis. (a) Struktur *F. oxysporum* menurut buku Identification of Pathogenic Fungi (2013). (b, c, d) Struktur jamur hasil isolasi dari tanaman panili yang mengalami gejala busuk batang. 1; Mikrokonidia, 2; Makrokonidia, 3; Konidiofor, 4; Fialid.

Berdasarkan pencocokan ciri makroskopis dan mikroskopis jamur yang diisolasi dari tanaman panili bergejala busuk batang dengan ciri-ciri yang dilaporkan

pada beberapa referensi maka dapat dipastikan bahwa jamur yang berasosiasi adalah jamur *F. oxysporum*.

3.2 Uji Patogenitas

Uji patogenitas *Fusarium* sp. hasil isolasi dilakukan selama 6 minggu atau sampai terlihat gejala busuk batang pada tanaman yang diinokulasikan patogen. Pada minggu ke-6 busuk pada batang semakin meluas dan menyebabkan terganggunya proses fisiologis tanaman akibat dilakukan inokulasi *F. oxysporum*. Gejala-gejala yang timbul akibat inokulasi *F. oxysporum* (Gambar 3c) menunjukkan gejala yang sama dengan gejala infeksi di lapangan (Gambar 3a). Sehingga bisa dipastikan hasil isolasi adalah patogen penyebab penyakit busuk batang pada panili.



Gambar 3. Perbandingan tanaman panili sehat dengan tanaman panili terserang patogen penyebab busuk batang. (a) Tanaman bergejala penyakit busuk batang di lapangan, (b) Tanaman kontrol yang diinokulasikan air steril, (c) Tanaman bergejala busuk batang setelah diinokulasikan jamur hasil isolasi dari tanaman panili bergejala busuk batang.

3.3 Isolasi dan Seleksi Bakteri Antagonis

Hasil isolasi bakteri antagonis diperoleh 21 isolat bakteri dengan rincian yaitu: bakteri dari daun tanaman Alamanda diperoleh 4 isolat bakteri. Isolasi bakteri dari berbagai akar tanaman diperoleh 6 isolat dari Bawang Merah, 1 isolat dari tanaman Brokoli, 1 isolat dari tanaman Kol Merah, 1 isolat dari tanaman Wortel, 1 isolat dari tanaman Bit, 1 isolat dari tanaman Rakola, 1 isolat dari tanaman Kara Bengkuk, 2 isolat dari tanaman Undis, 1 isolat dari tanaman Cabai, dan 2 isolat dari tanaman Talas. Isolat bakteri yang dipilih adalah bakteri yang menunjukkan adanya zona hambat lebih besar dari 60% terhadap patogen *F. oxysporum* (Tehrani and Ramazani, 2003) (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Identifikasi Karakterisasi, Morfologi Koloni, Biokimia dan Uji Antagonis Isolat Bakteri yang Berpotensi Sebagai Agens Pengendali Penyakit Busuk Batang.

| Kode Isolat | Sumber | Uji Gram | Warna Koloni | Elevasi | Motilitas | Uji Fluorescens | Uji Antagonis <i>F. oxysporum</i> (%) |
|-------------|--------------|----------|------------------|---------|-----------|-----------------|---------------------------------------|
| A001 | Alamanda | - | Kuning kehijauan | Timbul | M | TB | 24,80 |
| A002 | Alamanda | + | Kuning | Timbul | M | B | 38,12 |
| A003 | Alamanda | - | Kuning pucat | Timbul | M | B | 39,98 |
| A004 | Alamanda | + | Putih susu | Timbul | NM | B | 35,76 |
| BM01 | Bawang merah | + | Kuning | Timbul | NM | TB | 37,15 |
| BM02 | Bawang merah | + | Putih susu | Timbul | M | B | 71,80 |
| BM03 | Bawang merah | - | Oranye | Timbul | M | B | 66,70 |
| BM04 | Bawang merah | + | Krem | Timbul | M | B | 45,29 |
| BM05 | Bawang merah | + | Putih pucat | Timbul | NM | TB | 25,40 |
| BM06 | Bawang merah | + | Putih | Timbul | NM | TB | 21,20 |
| P001 | Brokoli | - | Krem | Timbul | M | B | 92,78 |
| P002 | Kol merah | - | Krem | Timbul | M | B | 98,36 |
| P003 | Wortel | - | Krem | Timbul | M | B | 82,02 |
| P004 | Bit | - | Krem | Timbul | M | B | 80,34 |
| P005 | Rakola | - | Krem | Timbul | M | B | 98,34 |
| R001 | Kara benguk | - | Putih pucat | Datar | M | B | 47,30 |
| R002 | Undis | + | Putih pucat | Datar | NM | B | 49,90 |
| R003 | Undis | - | Merah | Datar | M | TB | 42,75 |
| C001 | Cabai | + | Putih pucat | Datar | M | B | 23,17 |
| T001 | Talas | - | Oranye pucat | Cembung | M | TB | 24,02 |
| T002 | Talas | - | Oranye | Cembung | M | TB | 22,40 |

Keterangan: + (gram positif), - (gram negatif), M (motil), NM (non motil), TB (tidak berpendar), B (berpendar) pada media King B Agar.

Berdasarkan hasil uji dan uji antagonis terhadap jamur patogen *F. oxysporum*, terdapat 7 bakteri yang memiliki daya hambat lebih besar dari 60% dan berpotensi sebagai agens pengendali penyakit busuk batang pada tanaman panili. Isolat bakteri tersebut adalah BM02, BM03, P001, P002, P003, P004, dan P005.

3.4 Uji In Vitro Bakteri Antagonis Hasil Isolasi dalam Menekan Perkembangan *F. oxysporum* pada Media NA

Uji daya hambat isolat BM02, BM03, P001, P002, P003, P004, dan P005 terhadap *F. oxysporum* menunjukkan bahwa perlakuan bakteri antagonis memberikan hasil dengan persentase penghambatan terhadap *F. oxysporum* < 60% (Tabel 2).

Tabel 2. Persentase daya hambat bakteri antagonis isolat BM02, BM03, P001, P002, P003, P004, P005 terhadap *F. oxysporum* penyebab penyakit busuk batang panili di media NA pada 9 HSI.

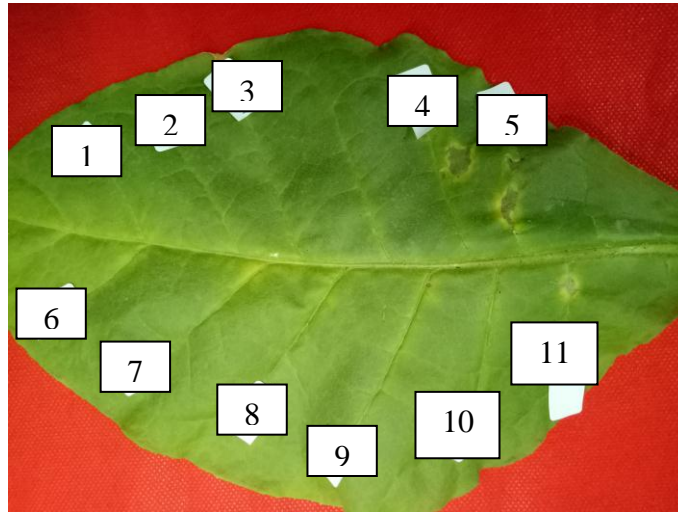
| Kode Isolat | Daya Hambat (%) | Sumber |
|-------------|-----------------|---------------------------------------|
| Kontrol | 0 g | Tanaman Panili Bergejala Busuk Batang |
| BM03 | 66,70 f | Akar Tanaman Bawang Merah |
| BM02 | 71,80 e | Akar Tanaman Bawang Merah |
| P004 | 80,34 d | Akar Tanaman Bit |
| P003 | 82,02 c | Akar Tanaman Wortel |
| P001 | 92,78 b | Akar Tanaman Brokoli |
| P005 | 98,34 a | Akar Tanaman Rakola |
| P002 | 98,36 a | Akar Tanaman Kol Merah |

Angka dengan huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan pada taraf 5%. HSI= hari setelah inokulasi

Isolat P002 yang diisolasi dari tanaman Kol Merah memiliki persentase daya hambat paling tinggi, yaitu sebesar 98,36%, kemudian diikuti oleh isolat P005 sebesar 98,34%, isolat P00 sebesar 92,78%, isolat P003 sebesar 82,02%, isolat P004 sebesar 80,34%, isolat BM02 sebesar 71,80, dan daya hambat terkecil yaitu isolat BM03 sebesar 66,70. Mekanisme penghambatan kemungkinan terjadi akibat senyawa antijamur yang dihasilkan, dibuktikan dengan terlihat adanya zona hambatan/zona bening diantar *F. oxysporum* dan bakteri antagonis pada uji dual kultur. Menurut Strobel dan Daisy (2003) terbentuknya zona hambat menandakan bahwa bakteri antagonis tersebut menghasilkan senyawa anti mikroba. Selain mekanisme tersebut, aktivitas anti mikroba juga meliputi perusakan dan penghambatan pembentukan dinding sel. perubahan permeabilitas sel target dan penghambatan kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan patogen (Tasnim *et al.*, 2011).

Persentase daya hambat masing-masing isolat bakteri antagonis berbeda-beda, hal ini disebabkan karena isolat bakteri antagonis yang diuji berbeda, sehingga kekuatan aktivitas penghambatan dari bakteri antagonis yang berbeda akan menghasilkan penghambatan dan aktivitas komponen metabolit yang berbeda. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Baker & Cook (1974) bahwa strain bakteri yang berbeda akan menghasilkan senyawa metabolit yang berbeda sehingga pengaruh yang ditimbulkan juga berbeda.

3.5 Uji Hipersensitif



Gambar 4. Uji hipersensitif pada daun tembakau. (P001;1), (BM02;2), (BM03;3), (P002;6), (P003;7), (P004;8), (P005;9) merupakan isolat bakteri antagonis, (10) merupakan kontrol negatif, dan (4, 5, dan 11) merupakan reaksi hipersensitif berupa gejala nekrosis akibat infeksi patogen *Fusarium oxysporum*.

Hasil uji hipersensitif menunjukkan, tidak adanya respon hipersensitif dari masing-masing isolat BM02, BM03, P001, P002, P003, P004, dan P005 serta kontrol negatif yang menggunakan air steril (Gambar 4). Namun pada kontrol positif yaitu inokulasi patogen menunjukkan gejala hipersensitif dengan timbulnya gejala nekrosis pada daun tembakau. Hal ini disebabkan oleh daya proteksi dari sel tanaman yang mematikan sebagian jaringan sel dengan tujuan menghindari perluasan infeksi patogen, namun apabila pada bagian daun yang diinjeksikan suspensi isolat tidak menunjukkan respon hipersensitif berarti isolat tidak bersifat patogen terhadap tanaman.

Reaksi hipersensitif kadang-kadang terjadi pada patogen yang sesuai dengan tanaman dan bisa juga terjadi pada patogen tanaman yang tidak sesuai (Morel and Dangl, 1997). Reaksi hipersensitif terjadi secara cepat, kematian jaringan tanaman terjadi pada tempat infeksi/gejala lokal, dan dibatasinya multiplikasi serta penyebaran patogen (Gilchrist, 1998; Heath, 2000; Shirasu and Schulze-Lefert, 2000).

4. Simpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Hasil eksplorasi bakteri antagonis diperoleh 7 isolat dari 21 isolat bakteri antagonis yang mampu menekan pertumbuhan patogen *F. oxysporum* secara *in vitro*. Isolat P002 mempunyai persentase penghambatan tertinggi yaitu sebesar 98,36%, kemudian diikuti oleh isolat P005 sebesar 98,34%, isolat P001 sebesar 92,78%, isolat

P003 sebesar 82,02%, isolat P004 sebesar 80,34%, isolat BM02 sebesar 71,80, dan isolat BM03 sebesar 66,70%.

4.2 *Saran*

Perlu dilakukan penelitian yang berkelanjutan untuk mengetahui kestabilan isolat bakteri hasil isolasi sebagai agen antagonis jamur *F. oxysporum* penyebab penyakit busuk batang panili di lapangan.

Daftar Pustaka

- Abegaz, K. 2007. Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria involved in traditional fermentation of borde an Ethiopian cereal beverages. *African Journal of Biotechnology*. 6(12): 1469-1478.
- Agrios, G. N. 1997. *Ilmu Penyakit Tumbuhan* (Terjemahan Munzir Busnia). Gadjah Mada University Press. Arshad, M and W.T Frankenberger. 1993. *Microbial Production of Plant*.
- Anitha A and M Rabeeth. 2009. Control of Fusarium Wilt of Tomato by Bioformulation of Streptomyces griseus in Green House Condition. *African Journal of Basic & Applied Sciences* 1(1-2): 9-14.
- Baker KF, Cook RJ. 1974. *Biological Control of Plant Patogens*. W. H. Freeman and Company. San Fransisco. 433p.
- Campbell C.K, Johnson E.M, Warnock D.W. 2013. *Identification of Pathogenic Fungi Second Edition*. Blackwell. United Kingdom.
- Gilchrist D.G. 1998. Programmed cell death in plant defence: the purpose and promise of cellular suicide. *ANN. REV. PHYTH*. 39: 393-414.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta (ID): PT Gramedia Pustaka Utama.
- Hadisutrisno B. 2004. Taktik dan strategi perlindungan tanaman menghadapi gangguan penyakit layu Fusarium. *Simposium Nasional I*. Purwokerto, 2-3 Maret 2004.
- Heath M.C. 2000. Hypersensitive response-related death. *PLANT MOL. BIOL*. 44: 323-334.
- Keel, C. and G. Defago. 1997. *Interactions between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanisms and ecological impact*. P. 27-47. In: A.C. Gange, V.K. Brown (Eds.). *Multitrophic Interaction in terrestrial system*. Blackwell Science Oxford.
- Klement, Z., and Goodman, R. N. 1967. The role of the living bacterial cell and induction time in hypersensitive reaction of tobacco plants. *Phytopathology* 57:322-323.
- Kosmiatin, M., I. Mariska, A. Husni, Y. Rusyadi, Hobir, dan M. Tombe. 2000. Seleksi silang ketahanan tunas *in vitro* panili terhadap asam fusarat dan ekstrak *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 5(2): 77 -83.
- Koyyappuratha, S, T. Atuahivab, R. Le Guena, H. Batinacd, S. Le Squina, N. Gautherone, V. Edel Hermanne, J. Peribef, M. Jahielg, C. Steinberge, E. C. Y. Liewh, C. Alabouvettei, P. Bessej, M. Dronk, I. Sacheed, V. Lavalcd and M. Grisonia. 2015. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of vanilla. *Plant Pathology*. 65: 612-625.

- Morel J.-B., Dangl J.L. 1997. The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. *CELL DEATH DIFFER.* 4: 671-683.
- Munif A, Hipi A. 2011. Potensi bakteri endofit dan rizosfer dalam meningkatkan pertumbuhan jagung. Seminar Nasional Serealia, Bogor
- Mustaqim, Rodesia M Roza, Bernadeta Leni F. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Lais (*Kryptopterus Spp.*). *JOM FMIPA*, 1 (2): 248-257.
- Saputra, R., Triwidodo A., Arif W. Uji aktivitas antagonistik beberapa isolat *Bacillus* spp. Terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada beberapa Varietas tomat dan identifikasinya. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON.* Volume 1, Nomor 5, Agustus 2015.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shirasu K., Schulze-Lefert P. 2000. Regulation of cell death in disease resistance. *PLANT MOL. BIOL.* 44: 371-385.
- Soesanto L. 2000. *Ecological and Biological Control of Verticillium dahliae*. Ph. D. Thesis. Wageningen University, Wageningen.
- Suniti, Wayan. 2015. Potensi Bakteri Endofit dari Batang Panili Sehat sebagai Agen Pengendali Hayati *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* Penyebab Busuk Batang Panili. *AGROTROP.* 5 (1): 64-70.
- Susanna. 2000. Analisis keefektifan mikroorganisme antagonis dalam mengendalikan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* pada pisang (*Musa sapientum* L.). [Tesis]. Program Pascasarjana. Bogor: IPB.
- Strobel, G. and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products: Microbiology and Molecular Biology Reviews. *J. Microbiol.* 67: 491-502.
- Tehrani AS. and Ramazani M. 2003. Biological control of *F. oxysporum*, the causal agent of onion wilt by antagonistic bacteria. *Comm Agr Appl Biol Sci.* 68(4):543-547.
- Tasnim, S, K. Retno, dan N.P.A. Astiti. 2011. Efektifitas daya hambat bakteri *Streptomyces* sp. terhadap *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk rebah pada tanaman lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill). *J. Simbiosis*, I: 21-27.
- Tombe, M. and E.C.Y. Liew. 2010. Fungal Diseases of Vanilla. In Odoux. E. and M. Grisoni. (Ed.) *Vanilla. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles*. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, London, New York. pp.125-140.
- Zaubin, R., M. Tombe, and E.C.Y. Liew. 2010. Vanilla Production in Indonesia. In. Odoux E. and M. Grisoni (Eds.). *Vanilla. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles*. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, London, New York. pp. 283-294.