POTENSI AKTINOBAKTERIA FILOSFER INDIGENOS SEBAGAI AGENS BIOKONTROL PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI (*Pantoea ananatis*) DAN RESPON FISIOLOGIS PERTAHANAN TANAMAN BAWANG MERAH

TESIS

Oleh:

MHD. FIQRY ISKANDAR
NIM. 2420281001

Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Magister Pertanian

PROGRAM MAGISTER PROTEKSI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Dengan ini dinyatakan bahwa Tesis berjudul " Potensi Aktinobakteria Filosfer Indigenos sebagai Agens Biokontrol Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Pantoea ananatis*) dan Respon Fisiologis Pertahanan Tanaman Bawang Merah" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir Tesis ini.

Padang, Agustus 2025

Mhd. Fiqry Iskandar
NIM. 2420281001

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tesis	: Potensi Aktinobakteria Filosfer Indigenos sebagai Agens Biokontrol Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Pantoea ananatis*) dan Respon Fisiologis Pertahanan Tanaman Bawang Merah
Nama Mahasiswa	: Mhd. Fiqry Iskandar
Nomor Buku Pokok	: 2420281001
Program Studi	: S2 Proteksi Tanaman

Tesis ini telah diuji pada Sidang Panitia Ujian Akhir Magister Pertanian pada program Pascasarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, pada tanggal 05 Agustus 2025.

Menyetujui

1. Komisi Pembimbing

Dr. Yulmira Yanti, S.Si., MP
NIP. 197806232006042002
Ketua

Dr. Ir. Ujang Khairul, M. P
NIP. 196707271992031003
Anggota

Mengetahui

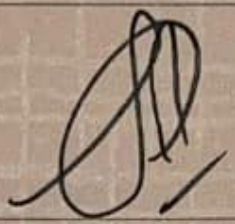
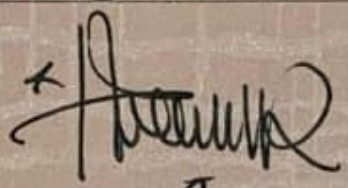
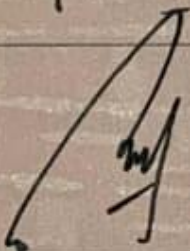
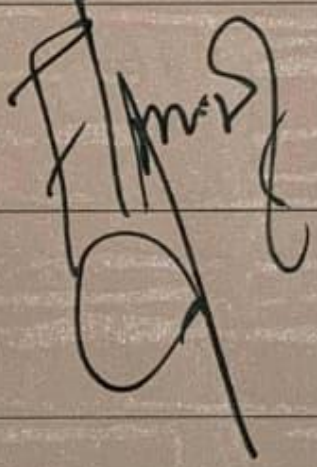
3. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Andalas

Prof. Dr. Ir. Indra Dwipa, M. S
NIP. 196502201989031003

2. Ketua Program Studi Magister Proteksi Tanaman

Dr. My Syahrawati, S. P., M. Si
NIP. 197205302005012003

Tesis ini telah diuji dan dipertahankan pada Sidang Panitia Ujian Akhir Magister Pertanian, pada program Pascasarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, pada tanggal 05 Agustus 2025.

No.	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1.	**Prof. Dr. Ir. Darnetty, M. Sc**		**Ketua**
2.	**Dr. Haliatur Rahma, S. Si., M. P**		**Sekretaris**
3.	**Dr. Zurai Resti, S. P., M. P**		**Anggota**
4.	**Dr. Yulmira Yanti, S. Si, M. P**		**Anggota**
5.	**Dr. Ir. Ujang Khairul, M. P**		**Anggota**

PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIK

Saya mahasiswa Universitas Andalas yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Mhd. Fiqry Iskandar
NIM	: 2420281001
Program Studi	: Magister Proteksi Tanaman
Fakultas	: Pertanian
Jenis Tugas Akhis	: Tesis

Demi pembangunan ilmu pengetahuan dan teknologi, menyetujui untuk memberikan Tesis ini kepada Universitas Andalas atas publikasi Tesis ini dengan judul ”Potensi Aktinobakteria Filosfer Indigenos sebagai Agens Biokontrol Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Pantoea ananatis*) dan Respon Fisiologis Pertahanan Tanaman Bawang Merah”. Universitas Andalas berhak untuk menyimpan, mengelola, merawat, dan mempublikasikan Tesis ini selama tetap mencantumkan nama penulis dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya untuk kepentingan yang telah ditentukan.

Padang, Agustus 2025

Mhd. Fiqry Iskandar
2420281001

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

"Karena sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan."
(Q.S. Al-Insyirah Ayat: 5-6)

Alhamdulillahi Rabbil 'Alamiin puji syukur atas kehadirat Allah Subhanahu Wa Taala atas karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan hingga meraih gelar Magister Pertanian ini, semoga Allah senantiasa memudahkan dan meridhai setiap jalan yang akan ditempuh. Shalawat disampaikan kepada Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wasallam yang telah membawa ke zaman yang penuh ilmu pengetahuan dan kemajuan teknologi.

Tesis ini telah diselesaikan berkat doa dari kedua orangtua dan dukungan orang-orang terkasih. Hasil perjuangan ini, saya persembahkan sebuah karya kecil dengan segenap ketulusan. Ucapan terima kasih kepada kedua orangtua tercinta Ibunda Harianti Ningrum, terima kasih atas semua didikan, pengorbanan, arahan, dan dukungan dari ibu, hingga saya dapat bertahan di tahap ini. Teruntuk ayahanda Wahyudi Iskandar, terima kasih atas setiap dukungan, arahan, didikan kedisiplinan, dan kemandirian yang selalu bapak berikan, semoga bapak selalu diberikan kesehatan dan bisa melihat saya menjadi anak yang sukses dan dapat membanggakan keluarga. Teruntuk abang, kakak, dan adik tersayang, Muhammad Rizky Irwansyah, S. Kom, Dewi Sri Huwaidah, S. IP, Alya Nazwa Iskandar, dan Alyssa Azka Iskandar, terima kasih atas dukungan, perjuangan, dan doanya. Ungkapan terima kasih setulusnya kepada keluarga tercinta ibu, ayah, nenek, dan kakek, karena doa dan dukungan baik secara materi maupun moral hingga saya bisa sampai pada tahap ini. Ucapan terima kasih ini mungkin tak cukup untuk membalas setiap jasa dan cinta kasih semuanya terhadap saya.

Rasa hormat dan terima kasih saya ucapkan kepada ibu Dr.Yulmira Yanti, S. Si., M. P dan bapak Dr. Ir. Ujang Khairul, M. P atas ilmu, bimbingan, motivasi, nasihat, dan semangat yang diberikan. Jasa dan segala bantuan ibu dan bapak akan menjadi kenangan yang tidak bisa dilupakan sampai kapanpun. Terima kasih juga saya ucapkan kepada dosen penguji, Prof. Dr. Ir. Darnetty, M. Sc, Dr. Haliatur Rahma, S. Si., M. P, dan Dr. Zurai Resti, S. P., M. P yang telah memberikan saran dan banyak masukan sehingga Tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih kepada Salwa Izzati yang membersamai saya dari pendidikan S1 hingga S2, terima kasih atas segala dukungan, bantuan, pengertian, dan doa yang diberikan kepada saya, sehingga Tesis ini dapat diselesaikan. Semangat menjalani penelitian, semoga dimudahkan untuk segala langkah baik mu, tapi jangan sambil nangis yaaa, saya harap kamu dapat menemani proses perjalanan saya selamanya.

Terima kasih saya ucapkan kepada teman-teman Laboratorium Mikrobiologi yang telah membantu dalam proses penelitian, dan menemani sewaktu penelitian, semoga Allah membalas seluruh kebaikan teman-teman. Terima kasih kepada teman-teman kontrakan ibu Ar (James, Iqbal, Nanda, dan Defri) yang telah berbagi tempat bernaung, berbagi pengalaman, berbagi pemikiran, susah dan senang kita lalui bersama-sama, semoga kita semua sukses di jalan masing-masing. Ucapan terima kasih untuk teman-teman Proteksi Tanaman Angkatan 2020 yang telah mewarnai dan memberi pengalaman yang luar biasa selama masa kuliah, semoga kita sukses dan mencapai cita-cita yang diinginkan.

BIODATA

Penulis dilahirkan di Kota Medan pada hari Senin, 09 September 2002. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Wahyudi Iskandar dan Ibu Harianti Ningrum. Riwayat pendidikan penulis yang ditempuh yaitu pendidikan Sekolah Dasar di SD Swasta Bakti 1 Medan (2008-2014); Pendidikan Menengah Pertama di SMP Negeri 24 Medan (2014-2017); dan Pendidikan Menengah Atas di SMA Islam Al-Ulum Terpadu Medan (2017-2020). Penulis melanjutkan pendidikan Sarjana (S1) di Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang (2020-2024), dan penulis melanjutkan pendidikan Magister (S2) di Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang (2024-2025).

Padang, Agustus 2025

M.F.I

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah Subhanahu Wata'ala yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan Tesis dengan judul "Potensi Aktinobakteria Filosfer Indigenos sebagai Agens Biokontrol Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Pantoea ananatis*), dan Respon Fisiologis Pertahanan Tanaman Bawang Merah". Shalawat beserta salam penulis sampaikan kepada Rasulullah Muhammad Shallallahu Alaihi wa Sallam yang telah membawa manusia dari zaman kebodohan hingga ke zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan dan kemajuan teknologi.

Penulis mengucapkan terima kasih yang setulusnya kepada Ibu Dr. Yulmira Yanti., S. Si., M. P sebagai dosen pembimbing I dan Bapak Dr. Ir. Ujang Khairul, M. P sebagai dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan, nasihat, serta motivasi dalam menyelesaikan Tesis ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada orang tua, saudara, kekasih hati, serta teman-teman yang telah memberi semangat dan dukungan selama penulis menjalankan penelitian untuk menyelesaikan Tesis ini. Penulis menyadari bahwa dalam Tesis ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan Tesis ini.

Padang, Agustus 2025

M.F.I

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Bawang Merah	6
B. Penyakit Hawar Daun Bakteri oleh *Pantoea ananatis*	8
C. Aktinobakteria Filosfer Indigenos	10
D. Identifikasi Molekuler Aktinobakteria Filosfer Indigenos	14
BAB III. METODE PENELITIAN	16
A. Tempat dan Waktu Penelitian	16
B. Bahan Penelitian	16
C. Peralatan Penelitian	17
D. Rancangan Penelitian	17
E. Bagan Alir Penelitian	22
F. Prosedur Penelitian	23
G. Pengamatan Penelitian	55
H. Analisis Data Penelitian	55
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	56
A. Hasil	56
B. Pembahasan	79
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	90
A. Kesimpulan	90
B. Saran	91
DAFTAR PUSTAKA	92
LAMPIRAN	108

UNIVERSITAS ANDALAS
KEDJAJAAN UNTUK BANGSA

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis*..... 9
2. Karakteristik morfologi aktinobakteria filosfer indigenos..... 24
3. Konfirmasi Gram aktinobakteria filosfer indigenos dengan KOH 3% 24
4. Reaksi hipersensitif aktinobakteria filosfer indigenos..... 25
5. Respon patogenisitas aktinobakteria filosfer indigenos..... 26
6. Perbanyakan aktinobakteria filosfer indigenos..... 27
7. Karakteristik morfologi koloni bakteri *P. ananatis*..... 28
8. Konfirmasi Gram bakteri *P. ananatis* dengan larutan KOH 3%..... 28
9. Reaksi hipersensitif bakteri *P. ananatis*..... 29
10. Respon patogenisitas bakteri *P. ananatis*..... 30
11. Inokulasi bakteri *P. ananatis* pada tanaman bawang merah..... 32
12. Preparasi pengukuran enzim pertahanan tanaman bawang merah..... 40
13. Skema aktivitas antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos..... 43
14. Skema produksi HCN..... 45
15. Perbandingan severitas penyakit hawar daun bakteri..... 57
16. Perkembangan penyakit hawar daun bakteri 58
17. Perbandingan pertumbuhan dan produksi bawang merah..... 63
18. Aktivitas enzim POX pada tanaman bawang merah..... 65
19. Aktivitas enzim PPO pada tanaman bawang merah..... 67
20. Aktivitas enzim PAL pada tanaman bawang merah..... 69
21. Kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos..... 71
22. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biokontrol..... 73
23. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer... 74
24. Visualisasi pita DNA aktinobakteria filosfer indigenos..... 76
25. Analisis filogenetik aktinobakteria filosfer indigenos..... 79

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Jadwal pelaksanaan penelitian tahun 2024-2025..... 106
2. Deskripsi karakteristik bawang merah kultivar Bima Brebes..... 109
3. Pembuatan larutan standar *Mcfarland*..... 110
4. Komposisi medium..... 111
5. Persiapan larutan untuk isolasi DNA aktinobakteria filosfer..... 116
6. Pertumbuhan tanaman dan produksi bawang merah..... 117
7. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biokontrol dan biofertilizer..... 123
8. Sidik ragam *Analysis of Varience* (ANOVA)..... 130
9. Konfirmasi aktinobakteria filosfer indigenos..... 133

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada Tahap 1 18
2. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada Tahap 2 20
3. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada Tahap 3 21
4. Skala severitas penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis*..... 37
5. Kriteria kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos.. 48
6. Perkembangan penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis*..... 58
7. Pertumbuhan tanaman bawang merah berumur 63 hst 62
8. Kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos..... 70
9. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biokontrol..... 72
10. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer... 74
11. Indeks kekerabatan aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi..... 78

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

POTENSI AKTINOBAKTERIA FILOSFER INDIGENOS SEBAGAI AGENS BIOKONTROL PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI (*Pantoea ananatis*) DAN RESPON FISIOLOGIS PERTAHANAN TANAMAN BAWANG MERAH

ABSTRAK

Penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah disebabkan oleh *Pantoea ananatis* yang dapat menyebabkan kehilangan hasil berkisar 78,04-83,64%. Alternatif pengendalian penyakit hawar daun bakteri yang ramah lingkungan dan berkelanjutan yaitu dengan memanfaatkan mikroorganisme aktinobakteria filosfer indigenos. Penelitian bertujuan untuk: 1). Memperoleh isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah; 2). Mengetahui aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi *P. ananatis,* dan mengetahui kemampuannya menghasilkan senyawa biokontrol serta biofertilizer; 3). Mengetahui keragaman spesies akinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi sebagai agens biokontrol dan biofertilizer. Penelitian dilakukan secara eksperimen, yang disusun dengan Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari 3 tahap yaitu: 1). Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah, terdiri dari 22 perlakuan isolat aktinobakteria filosfer indigenos, 3 ulangan, 3 unit percobaan. 2). Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi *P. ananatis* secara *in planta,* serta karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer secara *in vitro*, terdiri dari 12 perlakuan, dan 3). Identifikasi molekuler 5 isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi sebagai agens biokontrol dan biofertilizer. Parameter yang diamati yaitu: Perkembangan penyakit hawar daun bakteri, pertumbuhan tanaman, serta produksi bawang merah, 2). Aktivitas enzim pertahanan tanaman, produksi senyawa biokontrol, dan biofertilizer, dan 3). Analisis hasil sekuensing dan filogenetik antar spesies. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu: 1). *Streptomyces bullii* strain NLLP2H, *Actinomycetes bacterium* strain NLLA3F, *Streptomyces seoulensis* strain NBSP3A, *Streptomyces xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *Kitasatospora kepongensis* strain NBSP2H mampu berperan sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri dengan indeks penekanan penyakit yaitu 77,15-87,00%, meningkatkan tinggi tanaman yaitu 41,55-45,77 cm, jumlah daun yaitu 48,66-74,55 helai, bobot segar umbi yaitu 111,24-150,55 g, dan bobot kering umbi bawang merah yaitu 109,48-147,24 g. 2). Kelima isolat tersebut mampu meningkatkan aktivitas enzim POX pada akar dengan persentase peningkatan yaitu 50,00-115,63% dan daun yaitu 36,00-80,56%, enzim PPO pada akar yaitu 16,00-216,00% dan daun yaitu 56,00-136,00%, serta enzim PAL pada akar yaitu 13,93-22,73%, dan daun yaitu 8,74-13,73%, dan mampu menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* dengan diameter zona hambat yaitu 16,00-17,50 mm, menghasilkan enzim protease dengan diameter yaitu 1,03-1,22 mm, enzim amilase yaitu 1,01-2,05 mm, dan menghasilkan hidrogen sianida (HCN). Isolat tersebut mampu memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat dengan diameter yaitu 1,14-1,38 mm, dan *Indole Acetic Acid* (IAA) dengan konsentrasi yaitu 83,46-308,51 *ppm*.

Kata kunci: Aktivitas enzim pertahanan, biofertilizer, enzim *peroxidase*, *Kitasatospora kepongensis, Streptomyces xiangtanensis.*

POTENTIAL OF INDIGENOUS PHYLLOSPHERE ACTINOBACTERIA AS BIOCONTROL AGENTS BACTERIAL LEAF BLIGHT DISEASE (*Pantoea ananatis*) AND PHYSIOLOGICAL DEFENSE RESPONSES OF SHALLOT

ABSTRACT

Bacterial leaf blight disease in shallots caused by *Pantoea ananatis* can result in yield losses ranging from 78.04 to 83.64%. Environmentally friendly and sustainable alternatives for controlling bacterial leaf blight can be achieved by utilizing indigenous phyllosphere actinobacteria. The objectives of this research were: 1) to obtain indigenous phyllosphere actinobacterial isolates with potential as biocontrol agents of bacterial leaf blight disease, plant growth promoters, and yield enhancers of shallots; 2) to determine the physiological responses of shallot plants introduced with indigenous phyllosphere actinobacteria and inoculated with *P. ananatis*, as well as their ability to produce biocontrol and biofertilizer compounds; and 3) to determine the diversity of indigenous phyllosphere actinobacterial species with potential as biocontrol and biofertilizer agents. The study was conducted experimentally using a Completely Randomized Design, consisting of three stages: 1) the ability of indigenous phyllosphere actinobacteria to control bacterial leaf blight disease, promote plant growth, and increase shallot yield, consisting of 22 actinobacterial isolates with three replications and three experimental units; 2) the activity of defense enzymes in shallot plants introduced with indigenous phyllosphere actinobacteria and inoculated with *P. ananatis* under in planta conditions, as well as the characterization of indigenous phyllosphere actinobacteria as biocontrol and biofertilizer agents under in vitro conditions, consisting of 12 treatments with four replications; and 3) molecular identification of five indigenous phyllosphere actinobacterial isolates with potential as biocontrol and biofertilizer agents. The parameters observed were: the development of bacterial leaf blight disease, plant growth, and shallot yield; the activity of defense-related enzymes, the production of biocontrol and biofertilizer compounds; and sequencing and phylogenetic analysis. The results of the study showed that *Streptomyces bullii* strain NLLP2H, *Actinomycetes bacterium* strain NLLA3F, *Streptomyces seoulensis* strain NBSP3A, *Streptomyces xiangtanensis* strain NBSP3F, and *Kitasatospora kepongensis* strain NBSP2H were able to act as biocontrol agents of bacterial leaf blight disease with disease suppression indices ranging from 77.15 to 87.00%, to increase plant height ranging from 41.55 to 45.77 cm, number of leaves ranging from 48.66 to 74.55, fresh bulb weight ranging from 111.24 to 150.55 g, and dry bulb weight of shallots ranging from 109.48 to 147.24 g. These five isolates were able to increase peroxidase (POX) enzyme activity in roots ranging from 50.00 to 115.63% and in leaves ranging from 36.00 to 80.56%, polyphenol oxidase (PPO) enzyme activity in roots ranging from 16.00 to 216.00% and in leaves ranging from 56.00 to 136.00%, and phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activity in roots ranging from 13.93 to 22.73% and in leaves ranging from 8.74 to 13.73%. They were also able to suppress the growth of *P. ananatis* in vitro with inhibition zone diameters ranging from 16.00 to 17.50 mm, to produce protease enzymes with diameters ranging from 1.03 to 1.22 mm, amylase enzymes ranging from 1.01 to 2.05 mm, and to produce hydrogen cyanide (HCN). These isolates were also able to fix nitrogen, solubilize phosphate ranging from 1.14 to 1.38 mm, and produce indole-3-acetic acid (IAA) ranging from 83.46 to 308.51 ppm.

Keywords: Defense enzyme activity, biofertilizer, peroxidase, *Kitasatospora kepongensis*, *Streptomyces xiangtanensis*.

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura penting yang bernilai ekonomi tinggi dan dimanfaatkan sebagai bahan baku industri, farmasi, dan kesehatan (Rovicky *et al.,* 2024). Berdasarkan data yang diperoleh dari Badan Pusat Statistik, produktivitas bawang merah di Indonesia mengalami peningkatan pada tahun 2021-2023 berturut-turut yaitu 11,05; 11,15; dan 11,25 ton/ha. Produktivitas bawang merah di Sumatera Barat pada tahun 2021-2023 berturut-turut yaitu 14,47; 14,78; dan 16,67 ton/ha (BPS, 2024). Produktivitas bawang merah belum optimal jika dibandingkan produktivitas optimal mencapai 18 ton/ha (Upe & Asrijal 2022). Faktor penyebab produktivitas bawang merah belum optimal salah satunya karena gangguan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) yaitu gulma, hama, dan patogen yang dapat menurunkan potensi panen berkisar 50-100 % (Rovicky *et al.,* 2024).

Beberapa patogen yang menginfeksi tanaman bawang merah yaitu *Alternaria porri* penyebab penyakit bercak ungu (Muthaiah *et al.,* 2021); *Peronosclerospora destructor* penyebab penyakit embun bulu (Natesan *et al.,* 2020); *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* penyebab penyakit busuk pangkal batang dan layu fusarium (Diabankana *et al.,* 2024); *Puccinia allii* penyebab penyakit karat daun (Kwon *et al.,* 2021); *Stemphylium vesicarium* penyebab penyakit hawar daun stemphylium (Chandel *et al.,* 2024); *Pseudomonas viridiflava* penyebab penyakit busuk umbi (Tsuji & Fuji, 2021); *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* penyebab penyakit hawar daun bakteri (Nga *et al.,* 2021; Yanti *et al.,* 2023); *Pantoea dispersa* penyebab penyakit busuk tengah umbi (Chang *et al.,* 2018); *Pantoea agglomerans* penyebab penyakit busuk umbi (Zhang *et al.,* 2022); dan *Pantoea ananatis* penyebab penyakit hawar daun bakteri (De Armas *et al.,* 2022).

Penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *P. ananatis* merupakan penyakit penting yang sampai saat ini masih tergolong dalam kategori Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina golongan A2 (OPTK A2), yaitu patogen yang telah terdeteksi di Indonesia tetapi penyebaran di lapangan masih terbatas dan

sedang dalam upaya pengendalian (Badan Karantina Pertanian, 2022). Gejala awal infeksi penyakit hawar daun bakteri ini ditandai dengan adanya lesi kebasahan (*water soaking*) pada bagian tengah daun tanaman bawang merah dan berkembang menjadi klorosis berwarna putih yang memanjang hingga bagian ujung daun, sehingga daun tanaman bawang merah menjadi nekrotik yang mengering berwarna putih akibat kematian sel klorofil pada daun, lalu berubah menjadi warna abu-abu hingga kecoklatan (Myers *et al.,* 2023). Kerugian hasil panen yang ditimbulkan di beberapa sentra produksi bawang merah tergolong cukup tinggi yaitu seperti di Cirebon berkisar 81,43%, Tegal berkisar 80,81%, Nganjuk berkisar 83,31%, Bantul berkisar 78,04%, dan Sigi berkisar 83,64% (Asrul *et al.,* 2014). Sementara itu, kerugian yang ditimbulkan di sentra produksi bawang merah di Sumatera Barat yaitu dengan insidensi penyakit hawar daun bakteri berkisar 66,40-68,30% dengan severitas penyakit berkisar 71,60-91,10% (Yanti *et al.,* 2023).

Beberapa upaya pengendalian penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis* yang telah dilakukan di luar negeri yaitu sanitasi lahan, menggunakan benih sehat, mengatur jarak tanam yang sesuai untuk menjaga kelembapan, menggunakan mulsa plastik, membuat jalur irigasi dan drainase air (Tho *et al.*, 2019), eradikasi tanaman yang terinfeksi (Yanti *et al.,* 2023); dan melakukan rotasi tanaman dengan menanam tanaman bukan satu famili minimal selama 3 tahun dapat menekan perkembangan patogen, mengendalikan gulma di sekitar tanaman, dan pemupukan berimbang (Black *et al.,* 2012). Namun, saat ini petani umumnya mengendalikan penyakit hawar daun bakteri menggunakan bakterisida sintetik berbahan aktif tembaga *oxysulfate* (Asrul, 2020). Pengendalian penyakit hawar daun bakteri dengan bakterisida sintetik dapat berdampak negatif yang dapat merugikan ekologi, menimbulkan strain baru patogen, patogen yang dikendalikan menjadi resisten terhadap bakterisida sintetik, membunuh spesies bukan target, membunuh musuh alami, serta meninggalkan residu kimia yang berbahaya bagi kesehatan (Kaari *et al.,* 2023). Maka, diperlukan alternatif yang ramah lingkungan dan berkelanjutan yaitu dengan memanfaatkan mikroorganisme indigenos (Boubekri *et al.,* 2022).

Mikroorganisme indigenos berasal dari tanaman tertentu dan diaplikasikan kembali pada tanaman asalnya. Keunggulannya yaitu ketika diaplikasikan kembali ke tanaman asalnya, mikroorganisme indigenos tersebut mampu beradaptasi dan

berkembang lebih optimal (Querejeta *et al.,* 2022). Mikroorganisme indigenos yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan perkembangan penyakit pada tanaman, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi tanaman salah satunya yaitu aktinobakteria filosfer indigenos (Wati *et al.,* 2024).

Aktinobakteria filosfer indigenos merupakan bakteri yang berasosiasi pada bagian permukaan daun tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit pada daun tanaman tersebut (Kumar *et al.,* 2023). Aktinobakteria filosfer indigenos berperan sebagai agens biokontrol dan biofertilizer melalui mekanisme langsung dan tidak langsung (Silva *et al.,* 2022). Mekanisme secara langsung yaitu interaksi langsung antara aktinobakteria filosfer indigenos dan patogen dengan menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat mendegradasi dinding sel patogen seperti poliketida, *ß*-laktam, peptida, dan kasugamisin yang berperan dalam menghambat biosintesis dinging sel patogen, serta mampu menghasilkan beberapa enzim hidrolitik seperti kitinase, protease, amilase, selulase, dan β-glukanase yang dapat mendegradasi dinding sel patogen tanaman (Izhar *et al.,* 2024); menghasilkan siderofor dan hidrogen sianida (Trivedi *et al.,* 2020). Selain itu, aktinobakteria filosfer indigenos berperan sebagai biofertilizer dengan memfiksasi nitrogen bebas di udara, melarutkan fosfat yang tidak larut di dalam tanah, menghasilkan hormon *Indole Acetic Acid* (IAA), dan menghasilkan amonia (Boukhatem *et al.,* 2022), serta senyawa biofertilizer lainnya yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan produksi tanaman.

Mekanisme tidak langsung aktinobakteria filosfer indigenos dalam menekan perkembangan penyakit yaitu dengan menginduksi ketahanan sistemik pada tanaman (Kaari *et al.,* 2023) yang berimplikasi pada jaringan pensinyalan aktivitas enzim pertahanan tanaman, sehingga mampu meningkatkan aktivitas enzim pertahanan terhadap infeksi patogen seperti enzim *Peroxidase* (POX), *Polyphenol Oxidase* (POX) (Meena *et al.,* 2023), dan *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) (Bindushree *et al.,* 2023). Induksi ketahanan sistemik berperan dalam perlindungan fisik dan mekanik untuk melindungi dinding sel tanaman dengan mengubah reaksi fisiologis dan biokimia pada tanaman yang dapat mensintesis bahan kimia untuk pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Kaari *et al.,* 2023). Peningkatan enzim pertahanan tanaman dapat menghambat perkembangan dan poliferasi patogen di dalam jaringan tanaman dengan aktivasi biosintesis lignifikasi, dan

akumulasi fenolik dengan konsentrasi yang tinggi pada seluruh bagian tanaman, termasuk bagian yang terinfeksi patogen (Ebrahimi *et al.,* 2022). Aktinobakteria mampu meningkatkan aktivitas enzim pertahanan tanaman, sehingga tanaman lebih resisten terhadap infeksi patogen. Abo *et al.* (2020), menyatakan *Streptomyces* sp. mampu meningkatkan aktivitas enzim POX dan PAL pada tanaman tomat yang terinfeksi penyakit mozaik (*Tobacco Mozaik Virus*). Introduksi *S. pectum* dapat meningkatkan ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit virus kuning keriting (*Yellow Leaf Curl Virus*) dengan meningkatkan enzim POX dan PAL (Li *et al.,* 2019). *S. rochei* mampu menginduksi ketahanan sistemik tanaman apel serta menekan perkembangan penyakit busuk cincin (*Botryosphaeria dothidea*) dengan meningkatkan aktivitas enzim POX dan PAL (Zhang *et al.,* 2016).

Hasil penelitian Iskandar (2024), diperoleh 20 isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri dan meningkatkan produksi bawang merah, yaitu kode isolat NLLA3F, NLLP2A, NLLP2H, NBSP2C, NKGP2F, NLLP3J, NBSA2E, NBSP3A, NBSP2I, NLLP2G, NBSP2H, NBSP3F, NLLA2E, NKGP3B, NBSA2I, NBSA3B, NBSA2B, NBSP3B, NKGP3G, dan NKGP3I. Namun, spesies dari isolat yang potensial tersebut belum diketahui, sehingga untuk mengetahui spesies aktinobakteria filosfer indigenos dapat dilakukan melalui identifikasi secara molekuler.

Identifikasi spesies aktinobakteria filosfer indigenos dapat dilakukan secara molekuler dengan menargetkan gen penyandi 16S rRNA. Proses ini melibatkan amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik aktinobakteria, yaitu ActF dan ActR. Data urutan basa nitrogen dari hasil sekuensing DNA, dianalisis secara filogenetik untuk menentukan kekerabatan antar spesies aktinobakteria yang terdapat pada referensi spesies di *database GenBank* (Salam *et al.,* 2020). Aktinobakteria yang telah diidentifikasi menggunakan primer spesifik ActF dan ActR diperoleh dari beberapa genus, yaitu *Amycolatopsis*, *Saccharopolyspora*, *Nocardioides*, dan *Streptomyces* (Perez *et al.,* 2022). Beberapa aktinobakteria yang diisolasi dari rhizosfer tanaman bawang merah dan diidentifikasi dengan primer spesifik 27F dan 16Sact1114R, menunjukkan spesies *Streptomyces rameus*, *S. lydicus*, *S. viridaris, S. panaciradicis*, dan *S. seoulensis* (Yanti *et al.,* 2024). Menurut Han *et al.* (2025), identifikasi molekuler aktinobakteria yang diisolasi dari rhizosfer

tanaman padi menggunakan primer SC-Act-235 dan Act-878 menunjukkan spesies *Streptomyces* sp. Sementara itu, keragaman spesies aktinobakteria dari filosfer tanaman padi yang diidentifikasi secara molekuler dengan primer spesifik diperoleh berasal dari genus *Streptomyces*, *Saccharothrix*, *Lentzea*, dan *Gordonia* (Harsonowati *et al.,* 2017).

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah?
2. Bagaimana respon fisiologis tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan *P. ananatis*, serta kemampuan menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer?
3. Bagaimana keragaman spesies akinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi berdasarkan primer spesifik ActF dan ActR?

C. Tujuan Penelitian

1. Memperoleh aktinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah.
2. Mengetahui respon fisiologis tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan inokulasi *P. ananatis*, serta mengetahui kemampuan menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer.
3. Mengetahui keragaman spesies akinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi berdasarkan primer spesifik ActF dan ActR.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yaitu untuk memberikan informasi mengenai kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dan meningkatkan produksi bawang merah.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bawang Merah

Tanaman bawang merah (*Allium ascolanicum* L.) merupakan tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi dan bermanfaat sebagai bahan masakan, industri, farmasi, dan kesehatan (Yanti *et al.,* 2024). Menurut CABI (2021), tanaman bawang merah diklasifikasikan sebagai berikut yaitu kingdom: Plantae, divisi: Spermatophyta, subdivisi: Angiospermae, class: Monocotyledonae, ordo: Liliales, family: Liliaceae, genus: *Allium*, dan spesies: *Allium ascalonicum* L.

Tanaman bawang merah dapat tumbuh dengan optimal pada dataran rendah maupun dataran tinggi yaitu dengan ketinggian sekitar 0-1.100 m dpl dengan ketinggian yang optimal untuk pertumbuhan yaitu berkisar pada 0-800 m dpl (Murti *et al.,* 2022). Bawang merah membutuhkan sekitar 70% penyinaran cahaya matahari selama 12 jam dan angin berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman, serta dapat meningkatkan pembentukan umbi pada tanaman bawang merah (Arsadiarta *et al.,* 2024). Suhu yang dibutuhkan tanaman bawang merah yaitu berkisar 25-32 °C serta kelembapan yang berkisar 50-70% (Krismiratsih *et al.,* 2025). Bawang merah dapat tumbuh optimal pada kondisi tanah yang sehat, gembur, dan mengandung bahan organik tinggi, serta drainase dan aerase yang sesuai (Ilham *et al.,* 2019). Keasaman pH tanah mempengaruhi tanaman dalam menyerap unsur hara pada tanah (Barchia *et al.,* 2021). pH tanah optimal untuk pertumbuhan tanaman bawang merah yaitu berkisar 5.7-7.0 (Herani *et al.,* 2023).

Kriteria umbi bawang merah untuk dibudidayakan yaitu umbi berasal dari indukan yang berumur 60-90 hst tergantung varietas. Umbi memiliki ukuran sedang sekitar 5-10 g dengan bentuk dan penampilan umbi segar, sehat, padat, bentuknya tidak cacat, kulit umbi tidak keriput dan terkelupas, berwarna cerah merah keunguan, serta terbebas dari hama dan penyakit pada umbi (Murti *et al.,* 2022). Penanaman dilakukan dengan memotong 1/3 bagian atas umbi, setelah itu ditanam dengan membenamkan umbi dengan posisi tegak dengan jarak tanam 20×20 cm (Yanti *et al.,* 2024). Penanaman bawang merah dilakukan pada pagi ataupun sore hari tergantung kondisi cuaca (Yanti *et al.,* 2023).

Pemupukan pada tanaman bawang merah dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada persiapan lahan sebagai pupuk dasar dan pada saat tanaman berumur 35 hst. Pemupukan dasar pada tanaman bawang merah membutuhkan kotoran sapi sebanyak 10-20 ton/ha, kotoran ayam sebanyak 5-6 ton/ha, dan kompos sebanyak 4-5 ton/ha. Pemupukan selanjutnya menggunakan pupuk anorganik dengan dosis Nitrogen yang optimum sebanyak 150-300 kg/ha, Kalium sebanyak 50-150 kg/ha. Pemberian pupuk N dengan dosis 250 kg/ha, dan K 100 kg/ha sebagai dosis pupuk pada budidaya bawang merah dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas hasil, sehingga dapat mencegah serangan patogen tanaman (Herani *et al.,* 2023).

Pemanenan tanaman bawang merah dilakukan pada saat cuaca cerah dan kering serta pada saat tanaman berumur 65-70 hst yang ditandai dengan rebahnya daun tanaman sekitar 60-90%, kemudian pada bagian pangkal batang melunak, tanaman rebah ke permukaan tanah, serta daun menguning. Panen dilakukan dengan mencabut seluruh bagian tanaman dengan perlahan agar umbi tidak rusak maupun tertinggal di tanah. Umbi yang telah dipanen dibersihkan dari sisa tanah yang menempel pada umbi maupun daun tanaman bawang merah, kemudian diikat dan dikeringkan (Siswanto *et al.,* 2022).

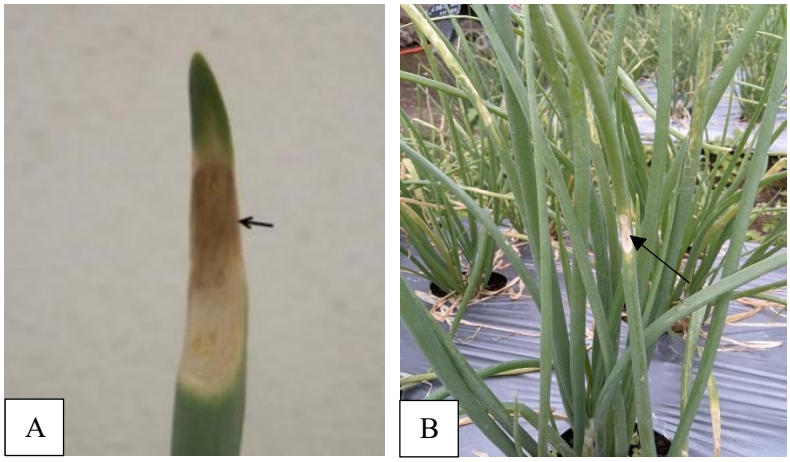
Kendala utama dalam budidaya tanaman bawang merah yaitu adanya infeksi patogen yang menurunkan produktivitas bawang merah. Beberapa patogen yang menginfeksi tanaman bawang merah diantaranya yaitu *Alternaria porri* penyebab penyakit bercak ungu (Muthaiah *et al.,* 2021); *Peronosclerospora destructor* penyebab penyakit embun tepung (Natesan *et al.,* 2020); *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* penyebab penyakit busuk pangkal batang (Diabankana *et al.,* 2024); *Puccinia allii* penyebab penyakit karat daun (Kwon *et al.,* 2021); *Stemphylium vesicarium* penyebab penyakit hawar daun stemphylium (Chandel *et al.,* 2024); *Pseudomonas viridiflava* penyebab penyakit busuk umbi (Tsuji & Fuji, 2021); *Pantoea dispersa* penyebab penyakit busuk tengah umbi (Chang *et al.,* 2018); *Pantoea agglomerans* penyebab penyakit busuk umbi (Zhang *et al.,* 2022); *Xanthomonas axonopodis* pv. *alli* penyebab penyakit hawar daun bakteri (Nga *et al.,* 2021); dan *Pantoea ananatis* penyebab penyakit hawar daun bakteri (De Armas *et al.,* 2022).

B. Penyakit Hawar Daun Bakteri oleh *Pantoea ananatis*

Penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *P. ananatis* merupakan penyakit penting pada tanaman bawang merah (Kowalska & Smolinska, 2015). Penyakit ini dapat menyebar melalui perpindahan benih, terutama pada benih bawang merah yang diimpor berisiko dapat menyebarkan inokulum *P. ananatis* strain baru dengan tingkat virulensi yang tinggi sehingga dapat mematahkan ketahanan kultivar pada bawang merah dengan mudah (Dutta *et al.,* 2017). Selain itu inokulum *P. ananatis* disebarkan melalui luka pada bagian tanaman (Coutinho & Venter, 2009); alat pertanian yang digunakan selama budidaya tanaman bawang merah, dan serangga vektor seperti Thrips tobaco *Frankliniella fusca* (Gitaitis *et al.,* 2003); Thrips onion *Thrips tabaci* (Dutta *et al.,* 2014), dan dapat menyebabkan busuk pada bagian tengah umbi bawang merah (Nurjanah *et al.,* 2018). Perkembangan penyakit ini didukung beberapa faktor abiotik seperti curah hujan yang berkepanjangan, kelembapan relatif yang tinggi sekitar 75%, dan suhu yang bersekitar antara 28-35 °C (Schwartz *et al.,* 2003).

Kerugian yang ditimbulkan akibat serangan penyakit hawar daun bakteri ini di lapangan cukup besar yaitu berkisar 78,04-83,63% dan kerugian di penyimpanan berkisar 20-25% (Asrul *et al.,* 2014). Gejala awal yang ditimbulkan akibat penyakit hawar daun bakteri dimulai pada bagian tengah daun yaitu berupa bercak kebasahan (*water soaking*), daun mengerut, terdapat lekukan pada daun atau daun menjadi melengkung, dan klorosis serta nekrosis berwarna putih, kecokelatan, hingga menghitam pada bagian daun tanaman bawang merah (Asrul, 2020). Gambar 1A gejala penyakit hawar daun bakteri yang ditandai klorosis dan nekrotik pada daun tanaman bawang merah. Gambar 1B gejala klorosis berwarna putih pada bagian tengah daun tanaman bawang merah.

Gejala serangan yang disebabkan oleh *P. ananatis* yaitu adanya bercak putih kering dengan klorosis yang memanjang dari bagian tengah daun bawang merah hingga ke pangkal daun. Infeksi lebih parah terjadi ketika daun tanaman terdapat gejala klorosis menjadi warna abu-abu dan daun menjadi mengering sehingga menyebabkan tanaman bawang merah mati (Nurjanah *et al.,* 2018). Menurut Myers *et al.* (2023), infeksi *P. ananatis* pada tanaman bawang merah dimulai adanya bercak pada daun tanaman yang memanjang hingga ujung daun.



Gambar 1. Gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* pada tanaman bawang merah (A) Gejala klorosis dan nekrosis pada daun tanaman bawang merah (Asrul & Umrah, 2019), (B) Gejala penyakit hawar daun bakteri di lahan tanaman bawang merah di Nagari Bukit Sileh, Kecamatan Lembang Jaya, Kabupaten Solok, Sumatera Barat.

Upaya yang telah dilakukan untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *P. ananatis* yaitu menggunakan kultivar tahan seperti *Redwing* yang telah terbukti dapat mengurangi infeksi *P. ananatis* pada lahan tanaman bawang merah secara luas dan seragam sehingga dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan penyakit hawar daun bakteri di Amerika Serikat (Vahling *et al.,* 2016). Selain itu, pengaplikasian fungisida Mancozeb di Brazil dilakukan pada tahap awal perkembangan penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis* (Bomfeti *et al.,* 2007). Pengendalian juga dapat dilakukan dengan memilih genotip resisten terhadap patogen (Carr *et al.,* 2013); memusnahkan tanaman yang terserang, rotasi tanaman bukan inang, memperbaiki saluran irigasi dan drainase, jarak tanam yang ideal dan menggunakan mulsa plastik sebagai penutup tanah sehingga kondisi tanah menjadi panas dan dapat menghambat patogen (Yanti *et al.,* 2023).

Berbagai upaya pengendalian penyakit hawar daun bakteri yang telah dilakukan, namun teknik pengendalian yang disarankan masih terbatas dalam pengaplikasiannya di lapangan. Faktor yang menyebabkan sulitnya pengendalian penyakit hawar daun bakteri diantaranya yaitu kurangnya pemahaman petani dalam menerapkan pengendalian di lapangan dan kemampuan *P. ananatis* dalam membentuk strain baru dengan tingkat virulensi yang berbeda dan kisaran inang yang cukup luas (Dutta *et al.,* 2017). Penggunaan bakterisida sintetik untuk

mengendalikan penyakit hawar daun bakteri ini memiliki risiko yang berbahaya (Kaari *et al.,* 2023). Alternatif pengendalian yang ramah lingkungan dan efektif yaitu dapat memanfaatkan mikroorganisme yang berasal dari filosfer tanaman, salah satunya yaitu dari kelompok aktinobakteria filosfer (Wang & Ma, 2010).

C. Aktinobakteria Filosfer Indigenos

Aktinobakteria filosfer indigenos merupakan kelompok bakteri Gram positif yang dapat beradaptasi dengan lingkungan yang beragam termasuk pada permukaan daun tanaman (Durand *et al.,* 2018). Klasifikasi morfologi aktinobakteria mengacu pada ada tidaknya miselium substrat, miselium aerial, warna miselium, produksi pigmen melanin, dan susunan spora dalam rantai spora. Pigmen melanin yang dihasilkan aktinobakteria berperan dalam meningkatkan daya adaptasi aktinobakteria dan daya saing terhadap mikroba lain (Barka *et al.,* 2016).

Aktinobakteria yang hidup di permukaan daun tanaman disebut dengan aktinobakteria filosfer (Wati *et al.,* 2024). Aktinobakteria filosfer merupakan kelompok aktinobakteria yang dominan terdapat di filosfer tanaman yang dapat berperan penting dalam menekan pertumbuhan patogen tanaman dan memacu pertumbuhan tanaman (Thapa & Prasanna, 2018).

Populasi aktinobakteria filosfer dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Faktor biotik yang mempengaruhi populasi aktinobakteria filosfer diantaranya yaitu struktur morfologi filosfer, karakteristik fisiologi, karakteristik biokimia, jenis tanaman, dan varietas tanaman. Sedangkan faktor abiotik yang mempengaruhi populasi aktinobakteria filosfer yaitu kondisi iklim, letak geografis, sifat fisik dan kimia tanah, suhu, kelembapan, dan cahaya matahari (Huang *et al.,* 2023).

Aktinobakteria filosfer sebagai binokulan dan biopestisida merupakan alternatif pupuk dan pestisida kimiawi yang ramah lingkungan dan aman digunakan secara luas. Aktinobakteria filosfer dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pada berbagai cekaman abiotik seperti suhu ekstrim, salinitas, dan kekurangan air. Pertumbuhan optimum yaitu suhu 28-37 ^{o}C dan sebagian aktinobakteria filosfer dapat tumbuh pada suhu ekstrim yang berkisar 55-56 ^{o}C (Wati *et al.,* 2024).

Aktinobakteria filosfer memiliki kemampuan sebagai agens biokontrol dalam menghambat pertumbuhan patogen melalui mekanisme secara langsung dan tidak

langsung. Mekanisme langsung terjadi persaingan nutrisi dengan patogen dan menghasilkan senyawa antibiotik untuk menghambat perkembangan patogen (Silva *et al.,* 2022). Mekanisme tidak langsung terjadi induksi ketahanan tanaman dan memicu tanaman menghasilkan induksi ketahanan sistemik (Mitra *et al.,* 2022).

Induksi ketahanan sistemik merupakan penekanan pertumbuhan patogen tanaman oleh aktinobakteria filosfer. ISR bekerja pada jaringan tanaman untuk memberikan sinyal tanaman seperti asam salisilat, asam jasmonat, dan etilen. Hormon ini merangsang mekanisme ketahanan tanaman terhadap fitopatogen yang melibatkan perlindungan fisik dan mekanik dengan melindungi dinding sel tanaman serta mengubah reaksi fisiologis dan biokimia, sehingga tanaman mensintesis bahan kimia untuk mempertahankan terhadap patogen (Roopa & Gadag, 2019).

Aktinobakteria sebagai bakteri penghuni filosfer berasosiasi dengan permukaan daun tanaman tanpa menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut. Aktinobakteria filosfer menghasilkan metabolit bioaktif, siderofor, amonia, *hydogen cyanide* (HCN), asam giberelat, dan enzim, seperti *aminocyclopropane*, *carboxylic acid* (ACC), deaminase, kitinase, selulase, lipase, dan *β*-1,3 glucanase, pelarutan fosfat, fiksasi nitogen, seng, dan kalium sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan agens biokontrol (Sathya *et al.,* 2017). Selain itu, aktinobakteria filosfer menghasilkan *Indole Acetic Acid* seperti *Arthrobacter* sp., *Nocardiodes* sp., *Pseudonocardia* sp., dan *Streptomyces* sp. (Rangseekaew *et al.,* 2021).

Aktinobakteria filosfer mampu menghambat pertumbuhan spora jamur patogen tanaman serta dapat menghasilkan enzim kitinase yang berperan penting pada mekanisme pertahanan tanaman inang (Ilsan, 2017). Aktinobakteria filosfer sebagai agen biokontrol dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman seperti *Corynespora cassiicola* (Wang & Ma, 2010); *Pyricularia oryzae* (Harsonowati *et al.,* 2017); *Sclerotium rolfsii* (Wibowo *et al.,* 2019); *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Vesuna & Nerurkar, 2020); *C. gloeosporioides*, *F oxysporum* (Mitra *et al.,* 2022); *P. ananatis* (Dornelas *et al.,* 2023); dan *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* (Hosny *et al.,* 2022). Kemampuan beberapa aktinobakteria indigenos yang diperoleh dari tanaman padi mampu mengendalikan perkembangan penyakit hawar daun bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* serta meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman padi (Fadil *et al.,* 2023). Aktinobakteria filosfer

yang diisolasi dari permukaan daun tanaman padi mampu mengendalikan bakteri fitopatogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* menghasilkan senyawa antibiotik (Ilsan *et al.,* 2016).

Aktinobakteria juga menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman berupa melarutkan fosfat, menambat nitrogen, dan memproduksi fitohormon yang dapat memacu pertumbuhan tanaman seperti *Indole Acetic Acid* (IAA). Produksi IAA oleh Streptomyces bergantung pada *L-triptophan* dan jalurnya melalui *indole-3-acetamide.* Produksi IAA oleh strain *Steptomyces* En-1 dapat merangsang pertumbuhan planlet *Arabidopsis* selama budidaya (Lin & Xu, 2013). Penelitian Ghorbani *et al.* (2013), aktinobakteria mampu menghidrolisis asam fitat yang dominan bentuk P organik dalam tanah. Akttinobakteria filosfer indigenos mampu menginduksi ketahanan tanaman. Ketahanan merupakan suatu karakter yang dimiliki oleh tanaman untuk menekan serangan hama dan patogen, tanaman mempunyai dua mekanisme ketahanan yaitu ketahanan pasif dan aktif, induksi ketahanan tanaman yang umum dipelajari adalah *Systemic Aqcuired Resistance* (SAR) dan *Induced Systemic Resistance* (ISR) (De Armas *et al.,* 2023).

ISR terjadi karena perubahan fisiologi tanaman yang memacu terbentuknya senyawa kimia yang berguna dalam pertahanan terhadap patogen (Angraeni *et al.,* 2021). SAR menginduksi ketahanan tanaman pada jalur pensinyalan asam salisilat (AS), sedangkan ISR menginduksi ketahanan tanaman melalui asam jasmonat (AJ) dan etilen (ET). ISR merupakan suatu bentuk pertahanan tanaman akibat adanya perlakuan yang mengakibatkan tanaman menjadi tahan terhadap infeksi patogen, ISR ini dapat dilakukan dengan memberikan perlakuan dengan agens biokontrol.

Senyawa yang dihasilkan oleh aktinobakteria filosfer menjadi elisitor sinyal JA dan ET bagi tanaman untuk membentuk sistem pertahanan terhadap infeksi patogen sehingga menimbulkan ISR pada tanaman (Chen *et al.,* 2022). Aktinobakteria filosfer berperan sebagai agens biofertilizer dan biostimulan karena kemampuannya dalam fiksasi nitrogen, pelarutan fosfat, dan menghasilkan senyawa pemacu pertumbuhan tanaman seperti IAA, giberelin, dan sitokinin (Wahyudi *et al.,* 2019). Kemampuan aktinobakteria filosfer sebagai agens biofertilizer secara tidak langsung mampu meningkatkan ISR tanaman terhadap patogen.

ISR memacu tanaman meningkatkan senyawa *peroxidase* (PO), *phenylalanine ammonia lyase* (PAL), dan *polyphenol oxidase* (PPO) yang akan menjadi senyawa pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Lee *et al.,* 2021). Enzim POX berperan dalam proses pembentukan dan penebalan dinding sel tanaman sehingga tanaman resisten terhadap infeksi awal patogen melalui biosintesis lignifikasi dinding sel tanaman (Zhai *et al.,* 2024); mampu mendegradasi hidrogen peroksida yang toksik terhadap patogen tanaman (Maibeche *et al.,* 2022); dan menghasilkan senyawa fenolitik yang dapat menekan pertumbuhan patogen di dalam jaringan tanaman (Poursakhi *et al.,* 2025). Enzim PPO berperan dalam merespon infeksi patogen dengan cepat sehingga patogen tidak menyebar ke bagian jaringan tanaman yang lain melalui reaksi hipersensitif dengan mematikan jaringan tanaman yang terinfeksi dan meningkatkan konsentrasi quinon pada tanaman yang bersifat cytotoxic (Pandey *et al.,* 2024). Enzim PAL berperan untuk mengkatalisasi senyawa amonia dari senyawa asam sinamat, sehingga dapat terjadi sintesis senyawa fenolitik dengan konsentrasi yang tinggi untuk senyawa pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Mondal *et al.,* 2024).

Menurut Hata *et al.* (2021), menyatakan *Streptomyces shenzhenensis* strain TKSC3 mampu menekan perkembangan penyakit garis daun tanaman padi yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) dengan indeks penekanan penyakit sebesar 73.20%. Hal ini disebabkan karena *S. shenzhensis* strain TKSC3 menginduksi aktivitas enzim POX, PPO, PAL, dan GLU pada saat tanaman berumur 2 hsi. Aktivitas enzim POX meningkat dengan konsentrasi tertinggi yaitu 115,32 µmol/mg protein, enzim PPO yaitu 118,52 µmol/mg protein, enzim PAL yaitu 51,36 µmol/mg protein, dan enzim GLU yaitu 275,14 abs/mg protein (Hata *et al.,* 2021).

Aktinobakteria dari spesies *Streptomyces* sp. strain N2 mampu mengendalikan penyakit busuk buah jeruk yang disebabkan oleh jamur *Penicillium digitatum* dan *P. italicum* dengan meningkatkan aktivitas enzim pertahanan tanaman secara signifikan seperti enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) pada 3 hsi yaitu 206,58 µg/*fresh wheight*, enzim *Catalase* (CAT) pada 5 hsi yaitu 32,03 µg/*fresh wheight*, enzim *Peroxidase* (POX) pada 1 hsi yaitu 560,62 µg/*fresh wheight*, enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO) pada 4 hsi yaitu 10,05 µg/*fresh wheight,* dan enzim

Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL) pada 4 hsi yaitu 471,73 µg/*fresh wheight.* Selain itu, *Streptomyces* sp. strain N2 mampu meningkatkan aktivitas *Pathogenesis Related Protein* (PR-Protein) pada 5 hsi seperti meningkatkan aktivitas enzim *Chitinase* yaitu 0,11 µg/*fresh wheight* dan enzim *β-1,3-Glucanase* yaitu 24,00 µg/*fresh wheight* (Peng *et al.,* 2025).

D. Identifikasi Molekuler Aktinobakteria Filosfer Indigenos

Spesies bakteri dapat diketahui melalui proses identifikasi secara molekuler, proses identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan terhadap bakteri tersebut secara morfologi maupun fisiologi. Pengamatan secara morfologi meliputi bentuk koloni, struktur koloni, bentuk sel, ukuran sel, bentuk flagel, dan pewarnaan endospore dari bakteri. Pengamatan secara fisiologi yaitu meliputi uji biokimia. Selain itu, identifikasi bakteri juga dapat dilakukan dengan cara identifikasi secara molekuler yaitu dengan mengisolasi DNA bakteri, selanjutnya amplifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Rosahdi *et al.,* 2018).

Prokaryota memiliki tiga jenis RNA ribosomal, yaitu 5S, 16S, dan 23S rRNA, dari ketiga jenis RNA ribosomal tersebut 16S yang paling banyak digunakan sebagai penanda molekuler, 5S rRNA jika dijadikan metode dalam mengidentifikasi dinilai sangat sulit, jenis RNA ribosomal ini terlalu kecil dan dalam identifikasi Archae dan Prokariot tidak akurat jika dilakukan analisis filogenik. Gen 23S rRNA memiliki 2,900 basa dan juga dinilai menyulitkan analisis statistika, karena memiliki struktur tersier dan sekunder yang cukup panjang, pemanfaatan gen 16S rRNA untuk metode identifikasi molekuler dianggap memiliki tingkat diskriminasi yang rendah karena sebagian besar hasil runutan DNA 16S rRNA menunjukkan adanya kesamaan yang tinggi di dalam satu spesies (Akihary & Kolondam, 2020).

Panjang urutan gen 16S rRNA adalah sekitar 1,550 bp dan terdiri dari daerah yang dilestarikan (*conserved regions*), gen ini relatif besar, dengan polimorfisme interspesifik untuk menganalisis perbedaan dan pengukuran yang valid secara statistik, primer universal biasanya digunakan sebagai pelengkap ke daerah yang dilestarikan pada bagian awal gen dan di kedua wilayah 15,540-bp atau pada akhir urutan sekitar 1,550 bp, dan urutan pada daerah variabel diantaranya digunakan untuk taksonomi perbandingan, meskipun ukuran yang umum digunakan untuk

sekuens dan membandingkan adalah 500 dan 1,500 bp, namun urutan dalam database dapat lebih bervariasi (Noer, 2021).

Gen 16S rRNA bersifat universal untuk mengidentifikasi bakteri termasuk bakteri dari filum aktinobakteria, sehingga hubungan filogenetik dapat diukur antar semua spesies bakteri. Perbandingan urutan gen 16S rRNA memungkinkan diferensiasi tingkat genus pada semua filum utama bakteri dengan tujuan mengklasifikasikan galur di berbagai tingkat, termasuk tingkat spesies dan sub spesies (Law *et al.,* 2018). Identifikasi molekuler aktinobakteria filosfer indigenos dapat menggunakan primer spesifik yaitu primer ActF dan ActR yang bertujuan untuk mengetahui spesies aktinobakteria filosfer indigenos yang lebih spesifik.

Primer spesifik aktinobakteria filosfer indigenos yaitu primer ActF dan ActR dapat mengamplifikasi secara spesifik sekuens primer ActF dan ActR yang lebih kompleks. Identifikasi aktinobakteria filosfer indigenos biasanya dianalisis menggunakan primer spesifik ActF dan ActR untuk dapat mengamplifikasi gen penyandi 16S rRNA. Beberapa penelitian mengenai identifikasi molekuler aktinobakteria filosfer indigenos menggunakan primer spesifik telah dilakukan. Ali *et al.,* (2012) melaporkan identifikasi aktinobakteria isolat dengan kode EU593640 asal tanaman Ginseng Jawa memiliki kemiripan dengan *Streptomyces avidinii*. Ozakin *et al.,* (2021) melaporkan aktinobakteria penghasil antibiotik telah diidentifikasi menggunakan primer spesifik aktinobakteria diperoleh kemiripan dengan genus *Streptomyces*. Beberapa aktinobakteria yang berasal dari rhizosfer tanaman cabai setelah diidentifikasi dengan primer spesifik ActF dan ActR diperoleh spesies *Streptomyces cellulose, S. olivaceus, S. psudogriseolus,* dan *S. griseoflavus* (Yanti *et al.,* 2023). Menurut Han *et al.* (2025) aktinobakteria yang berasal dari rhizosfer tanaman herbal *Salvia miltiorrhiza* yang diidentifikasi dengan primer spesifik SC-Act-235 dan Act-878 diperoleh dari spesies *Streptomyces* sp.

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Proteksi Tanaman, dan Kebun Percobaan, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang; Pusat Riset Mikrobiologi Terapan-Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong; dan Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang. Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Desember 2024 hingga Juli 2025. Jadwal kegiatan penelitian terlampir Lampiran 1.

B. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu alkohol 70%, akuades, 20 isolat aktinobakteria filosfer indigenos (koleksi Dr. Yulmira Yanti, S. Si., M. P), bakteri *Pantoea ananatis* (koleksi Dr. Yulmira Yanti, S. Si., M. P), umbi bawang merah kultivar Bima Brebes (Lampiran 2), larutan standar *McFarland* (Lampiran 3), medium *Starch Casein Agar* (SCA), medium *Glucose Yeast Peptone Agar* (GYPA), medium *International Streptomyces Project* 2 (ISP2), *Starch Casein Broth* (SCB), medium *Glucose Yeast Peptone Broth* (GYPB), medium *International Streptomyces Project 2 Broth* (ISP2 *Broth*), medium *Skim Milk Agar* (SMA), medium *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), medium *Pikovskaya Agar* (PKV) (Lampiran 4), *picric acid*, *calcium carbonate*, primer ActF (5'CGCGGCCTAT CAGCTTGTTG-3'), ActR (5'CCGTACTCCCCAGGCGGGG 3'), *agarose gel* 1%, *buffer Tris Boric* EDTA (TBE 0.5 x), buffer fosfat, buffer Natrium fosfat, catechol, kalium fosfat 0.5%, buffer pH 7, 0,1 g *Polypinyl pyrplidone* (PVP), pirogalol, buffer borat, Tris-HCl, mercaptoetanol, *L-phenylalanine*, asam sinamat, nitrogen cair, methanol 80%, *filter fiber glass*, heksan, HCl 4N, *ethyl acetate*, *methanol absolut*, asam linnnoleat, Tween 20, asam 9,10-dihidrojasmonat, NaOCl, *L-Tryptophan* 0.5%, *Salkowsky reagent*, glutaraldehyde 4%, *osmium tetroxide* 1%, *ITaq master mix PCR*, resin Spurr, HCl, NaOH 0.5 mM, aluminium foil, tisu, *polybag* ukuran 5 kg, plastik bening, kertas saring, dan kertas label, *plastic wrapp, cotton buds*, spiritus, pupuk kotoran sapi, akuades, dan tanah.

C. Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan yaitu cawan petri, gelas ukur, pinset, tabung reaksi, pipet tetes, Erlenmeyer, *Laminar Air Flow Cabinet*, *autoclave*, *vortex*, timbangan analitik, *hotplate stirrer*, *rotary shaker*, *haemocytometer neubauer improved China,* spuit ukuran 1 ml, *hand sprayer*, jarum ose, *microtube*, mikro pipet, mesin PCR *thermal cycler*, elektroforesis, spektrofotometer, mikroskop stereo binokuler, *object glass*, *cover glass*, *eppendorf tube,* pisau, mortar, alu, korek api, bunsen, pisau, *freezer*, *electrophoresis tray*, *UV Trans Illuminator*, alat dokumentasi, dan alat tulis.

D. Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimen yang terdiri dari 3 tahap yaitu:

Tahap 1. Uji kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, dan meningkatkan pertumbuhan, serta produksi bawang merah

Penelitian Tahap 1 bertujuan untuk mendapatkan isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah. Penelitian Tahap 1 dilaksanakan di Kebun Percobaan, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang. Penelitian terdiri dari 22 perlakuan, 3 ulangan, dan 3 unit percobaan, disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan kontrol negatif, tanaman bawang merah hanya diinokulasi dengan *P. ananatis,* sebagai pembanding parameter perkembangan penyakit hawar daun bakteri. Perlakuan kontrol positif, tanaman bawang merah tanpa diberikan perlakuan apapun, sebagai pembanding parameter pertumbuhan tanaman dan produksi bawang merah. Perlakuan penelitian pada Tahap 1 dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil seleksi pada Tahap 1 dilanjutkan ke Tahap 2 untuk mendapatkan isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu meningkatkan aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah, menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer, dengan kriteria sebagai berikut:

1. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri dengan severitas penyakit < 21,00% tergolong ketahanan tanaman Tahan-Agak tahan, dan indeks penekanan penyakit > 50,00%.

2. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu meningkatkan produksi bawang merah dengan bobot bawang merah > 90,00 g.

Tabel 1. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada Tahap 1

Kode isolat	Lokasi asal isolat	Bagian tanaman asal isolat	Ketinggian lokasi
NLLP2H	Limau Lunggo	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NLLP2A	Limau Lunggo	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NLLP2G	Limau Lunggo	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NLLP3J	Limau Lunggo	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NLLA2E	Limau Lunggo	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NLLA3F	Limau Lunggo	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSA2E	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSP3B	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSP3F	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSA2B	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSA3B	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSP2C	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSP2I	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSA2I	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSP2H	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NBSP3A	Bukit Sileh	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NKGP3B	Koto Gadang	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NKGP2F	Koto Gadang	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NKGP3G	Koto Gadang	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
NKGP3I	Koto Gadang	Permukaan daun bawang merah	±1,500 m dpl
KONTROL+	Akuades steril	-	-
KONTROL-	*P. ananatis*	-	-

Keterangan :

Kontrol (+) Hanya diintroduksi dengan akuades steril, sebagai pembanding parameter pertumbuhan tanaman dan produksi bawang merah.

Kontrol (-) Hanya diinokulasi dengan *P. ananatis,* sebagai pembanding parameter perkembangan penyakit hawar daun bakteri.

Tahap 2. Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan *P. ananatis*, serta karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer

Penelitian Tahap 2 bertujuan untuk mengetahui aktivitas pertahanan tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan *P. ananatis*, serta mengetahui karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer. Respon fisiologis pertahanan tanaman bawang merah dilaksanakan di Pusat Riset Mikrobiologi Terapan – Badan Riset Inovasi Nasional, Cibinong. Penelitian terdiri dari 13 perlakuan. Parameter yang diamati yaitu mekanisme peningkatan aktivitas enzim pertahanan tanaman meliputi enzim *Peroxidase* (POX), *Polyphenol Oxydase* (PPO), dan *Phenylalanin Ammonia Lyase* (PAL). Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah dilakukan dengan mengambil sampel tanaman bawang merah yang telah diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan *P. ananatis* pada saat tanaman bawang merah berumur 0, 1, 7, 14, dan 21 hari setelah inokulasi (hsi), untuk dilakukan analisis aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah, berupa enzim POX, PPO, dan PAL.

Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer dilakukan secara *in vitro* yang dilaksanakan di Pusat Riset Mikrobiologi Terapan – Badan Riset Inovasi Nasional, Cibinong. Penelitian terdiri dari 12 perlakuan. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol meliputi kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan *P. ananatis* secara kuantitatif, produksi enzim protease secara kuantitatif, enzim amilase secara kuantitatif, dan produksi *Hydrogen Cyanide* (HCN) secara kualitatif. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer meliputi produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) secara kuantitatif, fiksasi nitrogen secara kualitatif, dan pelarut fosfat secara kuantitatif. Perlakuan penelitian Tahap 2 dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil seleksi pada Tahap 2 dilanjutkan ke Tahap 3 untuk mengetahui spesies aktinobakteria filosfer indigenos yang potensial, dengan kriteria sebagai berikut:

1. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu meningkatkan respon fisiologis pertahanan tanaman bawang merah, meliputi enzim POX, PPO, dan PAL.
2. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menghambat pertumbuhan *P. ananatis* dengan diameter zona hambat > 14,00 mm yang tergolong kategori penghambatan Tinggi.
3. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menghasilkan enzim protease, amilase, dan hidrogen sianida.
4. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menghasilkan IAA dengan konsentrasi > 50,00 *ppm*, mampu melarutkan fosfat dan memfiksasi nitrogen.

Tabel 2. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada Tahap 2

No.	Kode isolat
1.	NLLP2H
2.	NLLP2A
3.	NLLP3J
4.	NLLA3F
5.	NBSA2E
6.	NBSP3B
7.	NBSP3F
8.	NBSP2H
9.	NBSP3A
10.	NKGP2F
11.	NKGP3G
12.	KONTROL +
13.	KONTROL -

Keterangan :

Kontrol (+) Hanya diintroduksi dengan akuades steril sebagai pembanding untuk mengetahui respon fisiologis tanaman bawang merah secara alami yang tidak diinokulasi dengan *P. ananatis*.

Kontrol (-) Hanya diinokulasi dengan *P. ananatis* sebagai pembanding untuk mengetahui respon fisiologis tanaman bawang merah yang diinokulasi dengan *P. ananatis.*

Tahap 3. Identifikasi molekuler aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi dengan primer spesifik ActF dan ActR

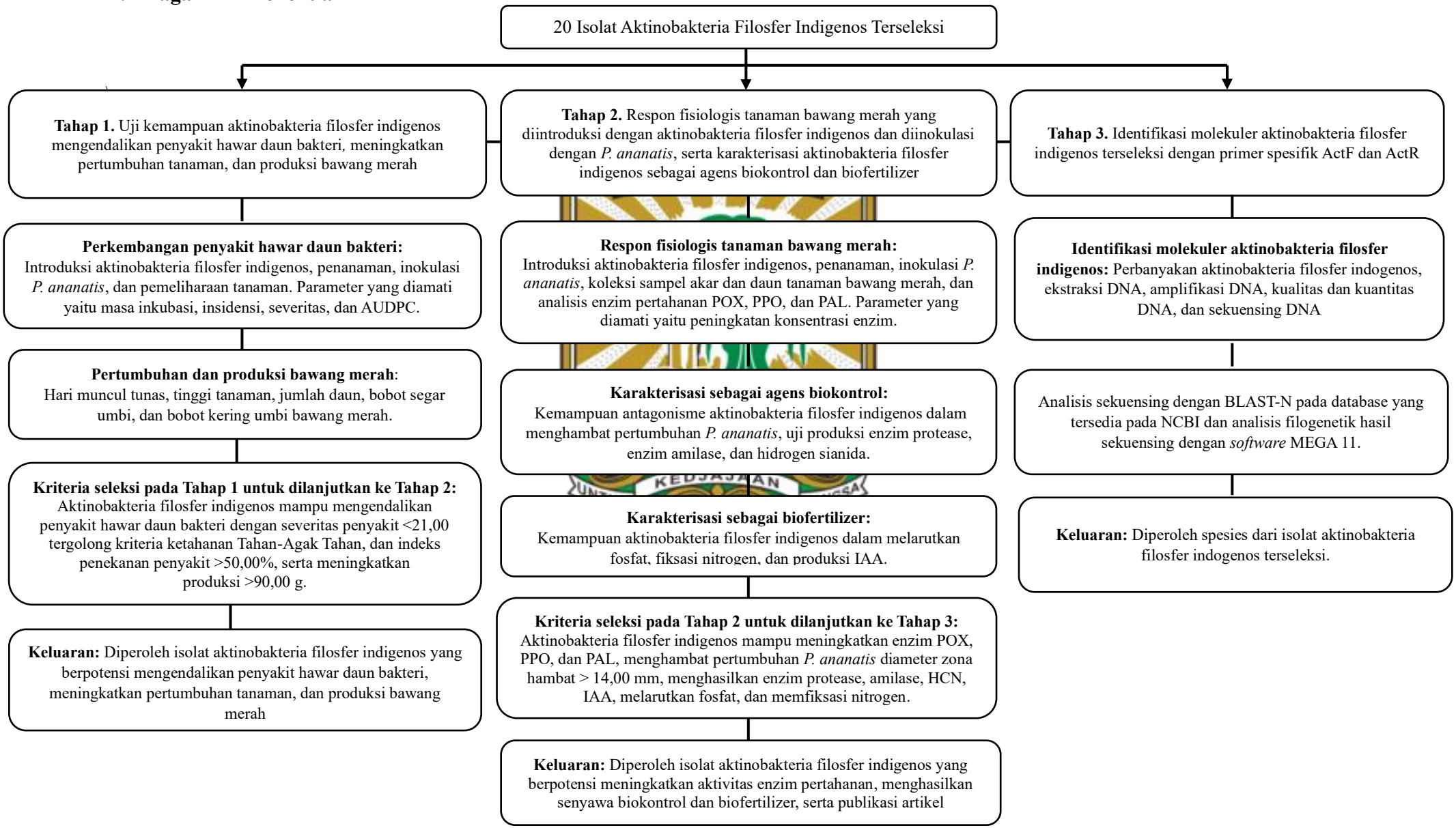
Penelitian Tahap 3 dilakukan bertujuan untuk mengetahui keragaman spesies aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi. Penelitian dilakukan secara deskriptif dengan mengidentifikasi aktinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi secara molekuler berdasarkan primer spesifik ActF dan ActR yang dilakukan di Laboratorium Biomedis, Departemen Ilmu Biomedis, Fakultas Kedokteran, Kampus Jati Universitas Andalas, Padang. Analisis sekuensing aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan di instansi *First BASE Sequensing*, *Singapore* melalui perantara instansi PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta. Hasil data sekuensing dianalisis dengan BLAST-N untuk mengetahui kekerabatan spesies aktinobakteria filosfer indigenos dengan data spesies aktinobakteria yang terdapat pada *GenBank*, lalu diinterpretasikan dalam bentuk filogenetik dan tabel. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi pada Tahap 1 dan 2 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada Tahap 3

No.	Kode isolat	Bagian tanaman asal isolat	Lokasi asal isolat
1.	NLLP2H	Permukaan daun bawang merah	Nagari Limau Lunggo
2.	NLLA3F	Permukaan daun bawang merah	Nagari Limau Lunggo
3.	NBSP3A	Permukaan daun bawang merah	Nagari Bukit Sileh
4.	NBSP2H	Permukaan daun bawang merah	Nagari Bukit Sileh
5.	NBSP3F	Permukaan daun bawang merah	Nagari Bukit Sileh

Prosedur penelitian secara keseluruhan diinterpretasikan secara sistematis pada Bagan Alir Penelitian, yang menunjukkan rangkaian tahapan penelitian dari awal hingga akhir kegiatan. Penelitian terdiri dari 3 Tahap dan dilakukan seleksi pada Tahap 1 dan 2. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi pada Tahap 1 dan 2 dapat dilanjutkan ke Tahap 3 untuk diidentifikasi secara molekuler terhadap isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang potensial sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah.

E. Bagan Alir Penelitian



F. Prosedur Penelitian

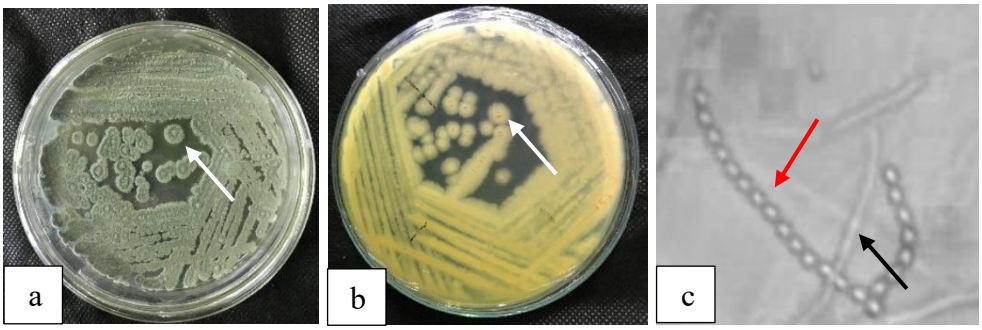
Tahap 1. Uji kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah

1. Persiapan aktinobakteria filosfer indigenos
a. Peremajaan aktinobakteria filosfer indigenos

Aktinobakteria filosfer indigenos merupakan koleksi Dr. Yulmira Yanti, S. Si., M. P yang diisolasi dari permukaan daun tanaman bawang merah yang sehat dan dikoleksi dalam kultur cair pada *eppendorf tube*. Peremajaan dilakukan bertujuan untuk mendapatkan biakan murni aktinobakteria filosfer indigenos, dilakukan dengan mengambil koloni aktinobakteria filosfer indigenos menggunakan jarum ose, kemudian digores pada permukaan medium selektif pertumbuhan yaitu medium ISP2 (Perez-Corral *et al.,* 2022) atau SCA (Sharifi & Bipinraj, 2019) sesuai dengan medium pertumbuhan isolat tersebut di dalam cawan petri dengan metode gores kuadran, lalu diinkubasi selama 14×24 jam pada suhu 28 °C.

1.1 Konfirmasi aktinobakteria filosfer indigenos
a. Konfirmasi karakteristik morfologi aktinobakteria filosfer indigenos

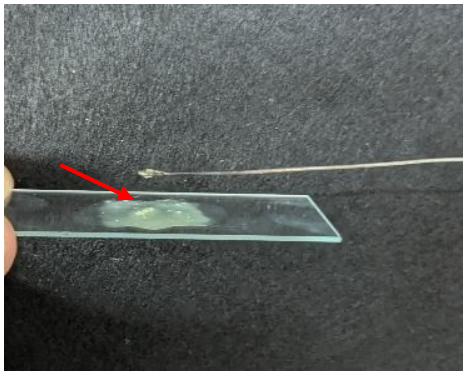
Konfirmasi karakteristik morfologi bertujuan untuk memastikan aktinobakteria filosfer indigenos yang digunakan pada penelitian sesuai dengan koleksi sebelumnya. Aktinobakteria filosfer indigenos yang tumbuh setelah diinkubasi selama 14×24 jam, dilakukan pengamatan morfologi koloni secara makroskopis dan mikroskopis (Holt *et al.,* 1994). Pengamatan morfologi koloni makroskopis, dilakukan dengan mengamati secara langsung koloni tunggal aktinobakteria filosfer indigenos, meliputi bentuk koloni, tepi koloni, elevasi koloni, warna miselium aerial, dan warna miselium substrat (Pérez-Corral *et al.,* 2022). Pengamatan morfologi koloni mikroskopis meliputi bentuk spora dan hifa aktinobakteria filosfer indigenos, pengamatan dilakukan dengan mengambil koloni aktinobakteria filosfer indigenos yang murni dengan jarum, lalu diletakkan pada permukaan *object glass* dan diberikan satu tetes akuades steril, lalu ditutup dengan *cover glass* dan diamati di bawah mikroskop stereo binokular dengan perbesaran 40×10 (Wati *et al.,* 2023). Karakteristik morfologi koloni aktinobakteria filosfer indigenos sesuai dengan koleksi sebelumnya yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Lampiran 8.



Gambar 2. Karakteristik morfologi koloni aktinobakteria filosfer indigenos berumur 14×24 jam, (a). Miselium aerial aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2G berwarna hijau, (b). Miselium substrat berwarna kuning, (c). Morfologi koloni memiliki spora berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai (tanda panah berwarna merah), hifa tidak bersekat, dan tidak terdapat percabangan pada hifa (tanda panah berwarna hitam).

b. Konfirmasi Gram aktinobakteria filosfer indigenos

Konfirmasi Gram bertujuan untuk memastikan aktinobakteria filosfer indigenos sesuai dengan koleksi sebelumnya yaitu Gram positif. Uji Gram dilakukan dengan mengambil satu koloni tunggal aktinobakteria filosfer indigenos menggunakan jarum ose, lalu diletakkan di atas *object glass* dan diberikan satu tetes larutan KOH 3% dan dihomogenkan hingga tercampur rata, kemudian campuran tersebut diangkat menggunakan jarum ose, apabila tidak terdapat lendir maka aktinobakteria filosfer indigenos tersebut tergolong bakteri Gram positif (Schaad *et al.,* 2001), sehingga sesuai koleksi sebelumnya yaitu Gram positif. Konfirmasi Gram aktinobakteria filosfer indigenos dapat dilihat Gambar 3 dan Lampiran 8.

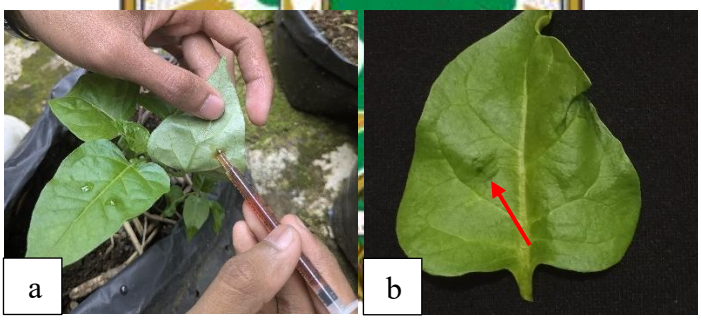


Gambar 3. Konfirmasi Gram aktinobakteria filosfer kode isolat NLLP2G dengan larutan KOH konsentrasi 3% tidak terdapat lendir pada saat jarum ose diangkat, sehingga tergolong bakteri Gram positif.

1.2 Konfirmasi keamanan hayati aktinobakteria filosfer indigenos

a. Konfirmasi reaksi hipersensitif aktinobakteria filosfer indigenos

Konfirmasi reaksi hipersensitif bertujuan untuk memastikan aktinobakteria filosfer indigenos sesuai dengan koleksi sebelumnya yaitu tidak tergolong patogen pada tanaman. Reaksi hipersensitif mengacu metode Yanti *et al.* (2024), aktinobakteria filosfer indigenos disuspensikan dengan 9 ml akuades steril, dan dilakukan pengenceran seri hingga 10^{-6} untuk menghitung kerapatan spora aktinobakteria filosfer indigenos dengan *haemocytometer neubauer*, lalu kerapatan spora diamati dengan mikroskop stereo binokular perbesaran 40×10 hingga mencapai kerapatan 10^{8} spora/ml. Inokulasi dilakukan dengan mengambil 50 µL suspensi aktinobakteria filosfer indigenos dengan suntikan lalu diinokulasikan pada bagian bawah jaringan daun tanaman kembang pukul empat, lalu disungkup dengan plastik bening untuk menjaga kelembapan (Schaad *et al.,* 2001). Konfirmasi reaksi hipersensitif aktinobakteria filosfer indigenos tidak tergolong patogen pada tanaman sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya yang dapat dilihat pada Gambar 4 dan Lampiran 8.



Gambar 4. Reaksi hipersensitif aktinobakteria filosfer indigenos pada daun tanaman kembang pukul empat, (a). Inokulasi aktinobakteria filosfer indigenos pada permukaan bawah daun tanaman kembang pukul empat, dan (b). Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSP2H tidak menunjukkan gejala nekrotik pada daun tanaman kembang pukul empat setelah diinkubasi selama 2×24 jam.

b. Konfirmasi patogenisitas aktinobakteria filosfer indigenos

Konfirmasi patogenisitas bertujuan untuk memastikan aktinobakteria filosfer indigenos sesuai dengan koleksi sebelumnya yaitu tidak tergolong patogen pada tanaman bawang merah. Metode uji patogenisitas mengacu pada Yanti *et al.* (2024), aktinobakteria filosfer indigenos disuspensikan dengan 9 ml akuades steril lalu

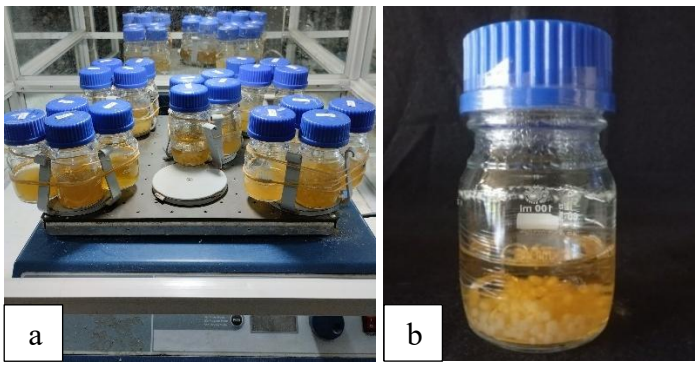
dilakukan pengenceran seri hingga 10^{-6}, kerapatan spora aktinobakteria filosfer indigenos ditentukan dengan menghitung menggunakan *haemocytometer neubauer* di bawah mikroskop stereo binokular perbesaran 40×10 hingga kerapatan 10^8 spora/ml. Inokulasi dilakukan pada tanaman bawang merah berumur 30 hst dengan melukai bagian tengah daun bawang merah dengan jarum, lalu dioleskan dengan suspensi aktinobakteria filosfer indigenos kerapatan 10^8 spora/ml dengan kapas steril, lalu disungkup dengan plastik bening untuk menjaga kelembapan (Yanti *et al.,* 2024). Konfirmasi patogenisitas aktinobakteria filosfer indigenos tidak tergolong patogen pada tanaman bawang merah, sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya yang dapat dilihat pada Gambar 5 dan Lampiran 8.

Gambar 5. Uji patogenisitas aktinobakteria filosfer indigenos pada daun tanaman bawang merah berumur 30 hst, (a). Pelukaan daun tanaman bawang merah dengan jarum suntik, (b). Inokulasi aktinobakteria filosfer indigenos pada daun tanaman bawang merah, dan (c). Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NKGP2F tidak menimbulkan gejala nekrotik pada daun tanaman bawang merah setelah diinkubasi selama 2×24 jam.

c. Perbanyakan aktinobakteria filosfer indigenos

Perbanyakan bertujuan untuk memperoleh kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos untuk introduksi pada umbi dan tanaman bawang merah. Perbanyakan dilakukan dengan mengambil satu koloni tunggal dari kultur murni aktinobakteria filosfer indigenos menggunakan jarum ose, kemudian dimasukkan ke botol kultur berisi 50 ml medium selektif pertumbuhan yang berbeda yaitu medium ISP2 *broth* atau SC *broth*, lalu diinkubasi selama 14×24 jam pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 *rpm* pada suhu 28 °C (Kawuri *et al.,* 2018). Kerapatan spora aktinobakteria filosfer indigenos dihitung menggunakan *haemocytometer neubauer*

di bawah mikroskop stereo binokular perbesaran 40×10 hingga kerapatan 10^8 spora/ml. Perbanyakan aktinobakteria filosfer indigenos dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perbanyakan aktinobakteria filosfer indigenos pada medium ISP2 *broth* dan SC *broth*, (a). Aktinobakteria filosfer indigenos diinkubasi selama 14×24 jam pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 *rpm*, (b). Aktinobakteria filosfer indigenos setelah diinkubasi 14×24 jam, terdapat koloni aktinobakteria filosfer berbentuk bulat.

2. Persiapan *Pantoea ananatis*

a. Peremajaan *P. ananatis*

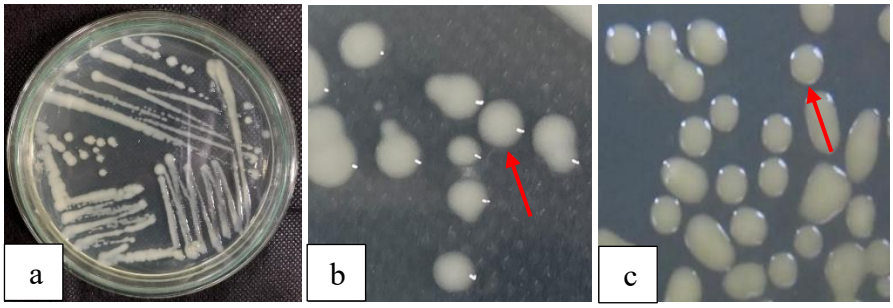
Bakteri *P. ananatis* yang digunakan merupakan koleksi dari Dr. Yulmira Yanti, S. Si., M. P yang diisolasi dari tanaman bawang merah bergejala penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *P. ananatis* di Kabupaten Solok, dan telah diidentifikasi secara molekuler menggunakan primer universal 16S rRNA. Peremajaan dilakukan untuk memperoleh biakan murni *P. ananatis*. Peremajaan dilakukan dengan mengambil koloni *P. ananatis* dari kultur cair di dalam *eppendorf tube* menggunakan jarum ose, kemudian ditumbuhkan pada permukaan medium selektif *Glucose Yeast Peptone Agar* (GYPA) dengan metode gores kuadran, lalu diinkubasi selama 2×24 jam pada suhu 28 °C (Asrul, 2020).

2.1 Konfirmasi *P. ananatis*

a. Konfirmasi karakteristik morfologi *P. ananatis*

Konfirmasi karakteristik morfologi koloni *P. ananatis* dilakukan dengan mengamati koloni tunggal *P. ananatis* yang tumbuh pada permukaan medium GYPA berumur 2×24 jam. Pengamatan karakteristik morfologi koloni *P. ananatis* yang diamati dari koloni tunggal berupa bentuk koloni, elevasi koloni, dan warna koloni. Morfologi koloni *P. ananatis* yaitu koloni berwarna krem, berlendir,

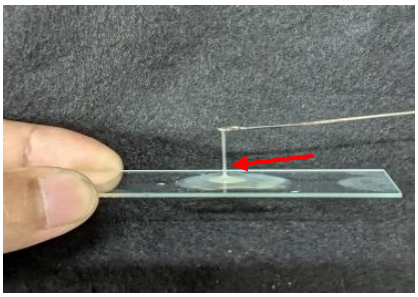
berbentuk bundar, cembung dengan tepi rata (Asrul & Umrah, 2019). Konfirmasi karakteristik morfologi *P. ananatis* sesuai dengan koleksi sebelumnya yang dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Karakteristik morfologi koloni *P. ananatis* setelah diinkubasi selama 2×24 jam, (a) Koloni berlendir, berbentuk bundar, elevasi cembung, dan berwarna krem (b) Koloni tunggal *P. ananatis,* dan (c). Koloni tunggal *P. ananatis* (Asrul, 2020).

b. Konfirmasi Gram *P. ananatis*

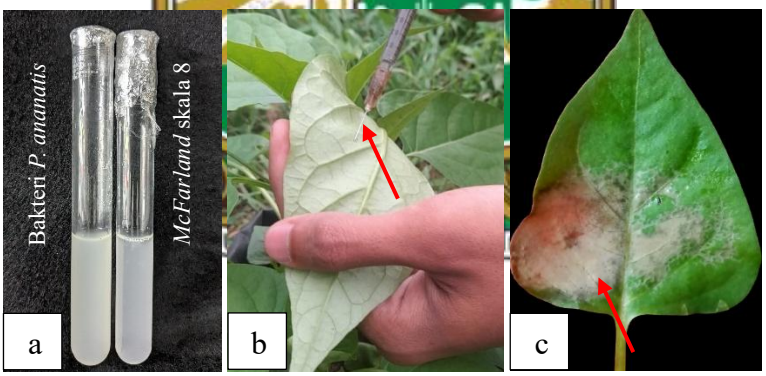
Konfirmasi Gram bertujuan untuk memastikan *P. ananatis* yang digunakan tergolong bakteri Gram negatif, sesuai dengan koleksi sebelumnya yaitu Gram negatif. Uji Gram mengacu pada metode Schaad *et al.,* (2001), yaitu dengan mengambil koloni tunggal *P. ananatis* menggunakan jarum ose dan diletakkan di atas *object glass* dan diberikan satu tetes larutan KOH 3%, lalu koloni *P. ananatis* dihomogenkan dengan larutan KOH 3% hingga tercampur merata pada permukaan *object glass* dan jarum ose diangkat, apabila terbentuk lendir pada saat jarum ose diangkat, maka *P. ananatis* tersebut tergolong bakteri Gram negatif (Nurjanah *et al.,* 2018) dan sesuai dengan koleksi sebelumnya. Konfirmasi Gram *P. ananatis* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Konfirmasi Gram *P. ananatis* dengan larutan KOH 3% terdapat lendir, sehingga tergolong dalam bakteri Gram negatif.

c. Konfirmasi reaksi hipersensitif *P. ananatis*

Reaksi hipersensitif bertujuan untuk memastikan *P. ananatis* tergolong patogen pada tanaman, dengan mengacu pada metode Asrul, (2020). Bakteri *P. ananatis* disuspensikan dengan menuang 9 ml akuades steril ke cawan petri berisi biakan murni *P. ananatis* berumur 2×24 jam, lalu dikikis menggunakan jarum ose hingga seluruh koloni *P. ananatis* terlepas dari permukaan medium GYPA, suspensi dipindahkan ke *test tube* dan dihomogenkan dengan *vortex*. Kepadatan populasi *P. ananatis* ditentukan hingga mencapai 10^8 sel/ml dengan membandingkan kekeruhan suspensi dengan larutan standar *McFarland* skala 8. Suspensi *P. ananatis* diinokulasikan pada permukaan bawah daun tanaman kembang pukul empat dengan suntik dan disungkup dengan plastik bening untuk menjaga kelembapan, lalu diinkubasi selama 2×24 jam dan diamati gejala nerotik yang muncul pada bagian daun yang diinokulasi, jika bergejala nekrotik maka *P. ananatis* tergolong patogen pada tanaman. Konfirmasi hipersensitif *P. ananatis* tergolong patogen tanaman, sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya yang dapat dilihat pada Gambar 9.

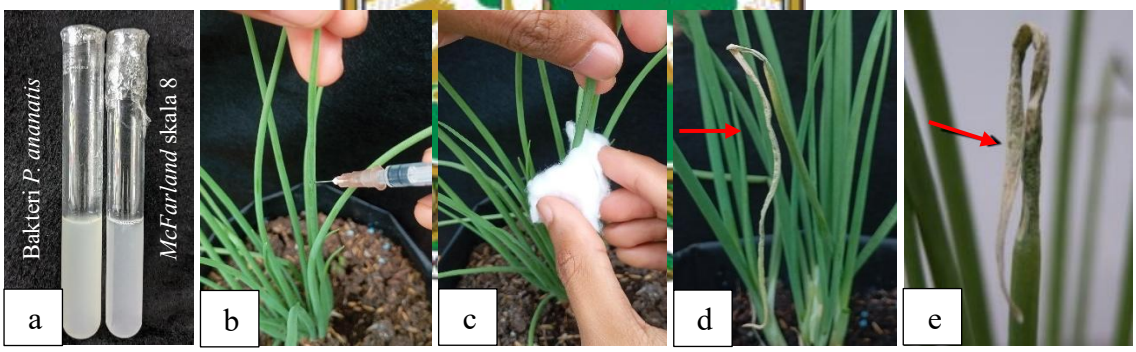


Gambar 9. Reaksi hipersensitif *P. ananatis* pada daun tanaman kembang pukul empat, (a). Perbandingan kepadatan populasi suspensi *P. ananatis* dengan standar larutan *McFarland* skala 8, (b). Inokulasi suspensi *P. ananatis* pada permukaan bawah daun tanaman kembang pukul empat, dan (c). Menunjukkan gejala nekrotik dan klorosis pada daun tanaman kembang pukul empat setelah diinkubasi selama 1×12 jam (positif).

d. Konfirmasi patogenisitas *P. ananatis*

Konfirmasi patogenisitas bertujuan untuk memastikan *P. ananatis* dapat menimbulkan gejala penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah. Uji

patogenisitas dilakukan dengan menuangkan 9 ml akuades steril ke cawan petri berisi biakan murni *P. ananatis* yang berumur 2×24 jam, koloni *P. ananatis* dikikis dengan jarum ose hingga terlepas dari permukaan medium, suspensi dipindahkan ke *test tube* dan dihomogenkan dengan *vortex*. Suspensi *P. ananatis* dengan kepadatan 10^8 sel/ml dibandingkan berdasarkan tingkat kekeruhan standar *McFarland* skala 8 (De Armas *et al.,* 2022). Inokulasi dilakukan pada tanaman bawang merah berumur 30 hari setelah tanam (hst) dengan cara melukai bagian tengah daun tanaman bawang merah menggunakan suntikan, lalu mengoleskan suspensi bakteri pada bagian yang terluka menggunakan kapas steril. Daun yang telah diinokulasi disungkup menggunakan plastik bening untuk menjaga kelembapan, lalu diinkubasi hingga muncul gejala khas penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis*, yang ditandai dengan adanya lesi kebasahan (*water soaking*) dan klorosis yang memanjang dari bagian tengah daun hingga ujung daun tanaman bawang merah (Asrul, 2020). Konfirmasi patogenisitas *P. ananatis* tergolong patogen penyebab penyakit hawar daun bakteri, sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya yang dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Uji patogenisitas *P. ananatis* pada tanaman bawang merah (a). Perbandingan kepadatan populasi suspensi *P. ananatis* dengan standar larutan *McFarland* skala 8, (b). Pelukaan jaringan daun tanaman bawang merah dengan jarum suntik, (c). Inokulasi suspensi *P. ananatis* pada daun tanaman bawang merah, (d). Gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* pada daun tanaman bawang merah berumur 30 hst setelah diinkubasi selama 2×24 jam, dan (e). Gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* (Asrul, 2020).

e. Perbanyakan *P. ananatis*

Perbanyakan *P. ananatis* bertujuan untuk memperoleh kultur cair *P. ananatis* untuk inokulasi pada tanaman bawang merah. Perbanyakan dilakukan dengan

meremajakan *P. ananatis* pada permukaan medium GYPA dengan metode gores kuadran, kemudian diinkubasi selama 2×24 jam. Selanjutnya, koloni tunggal *P. ananatis* yang tumbuh berumur 2×24 jam diambil dengan jarum ose dan diinokulasikan ke Erlenmeyer volume 250 ml yang berisi 250 ml medium *Glucose Yeast Peptone Brtoh* (GYPB), dan diinukbasi pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 *rpm* selama 3×24 jam (Yanti *et al.,* 2024).

3. Uji kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah

a. Persiapan media tanam

Media tanam yang digunakan untuk penanaman bawang merah terdiri atas campuran tanah dan pupuk kotoran sapi dengan perbandingan 2:1 (v:v), lalu dicampur hingga merata. Campuran media tanam tersebut disterilisasi dengan metode tyndalisasi, yaitu sterilisasi uap panas bertahap dengan cara memasukkan media tanam ke dalam plastik tahan panas berkapasitas 10 kg, kemudian dipanaskan dalam dandang selama 1 jam pada suhu 100 °C. Setelah pemanasan pertama, media diinkubasi selama 1 hari pada suhu 28 °C, lalu dipanaskan kembali dengan metode yang sama sebanyak tiga kali. Media tanam yang telah steril dimasukkan ke *polybag* volume 5 kg dan digunakan untuk penanaman bawang merah (Yanti *et al.,* 2023).

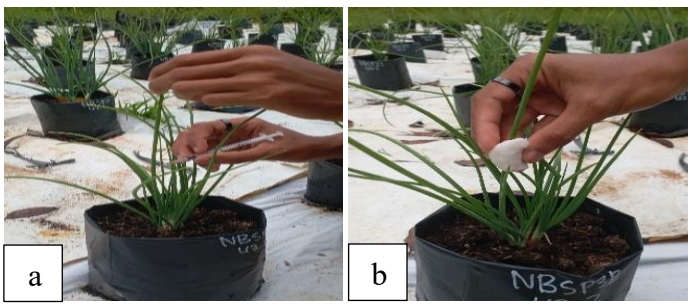
b. Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan penanaman

Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos mengacu pada metode Yanti *et al.* (2024) dilakukan sebanyak empat kali introduksi, yaitu pada saat sebelum tanam (0 hst) diintroduksi pada umbi bawang merah kultivar Bima Brebes, dan diintroduksi kembali pada sekitar perakaran tanaman bawang merah berumur 5, 12, dan 21 hst, yang bertujuan untuk meningkatkan ketahanan tanaman bawang merah terhadap penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan, dan produksi bawang merah. Umbi bawang merah dipotong 1/3 bagian atas umbi dengan pisau steril, agar sel aktinobakteria filosfer indigenos menempel, dan masuk ke jaringan umbi bawang merah, sehingga dapat mempercepat pertumbuhan tunas umbi bawang merah. Sterilisasi permukaan umbi bawang merah dilakukan dengan mencuci umbi

bawang merah menggunakan air mengalir, lalu umbi bawang merah direndam dalam akuades steril selama 1 menit, dilanjutkan perendaman dalam alkohol 70% selama 1 menit, lalu direndam dua kali dengan akuades steril selama 1 menit. Introduksi pertama aktinobakteria filosfer indigenos dengan kerapatan 10^8 spora/ml dilakukan pada umbi bawang merah melalui perendaman selama 20 menit, sedangkan untuk perlakuan kontrol positif dan negatif, umbi bawang merah direndam dalam akuades steril selama 20 menit. Umbi bawang merah yang telah diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos ditanam pada media tanam steril sebanyak 1 umbi per *polybag*. Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos kedua dilakukan pada saat tanaman bawang merah berumur 5 hst, introduksi kegita pada saat tanaman bawang merah berumur 12 hst, dan introduksi keempat pada saat tanaman bawang merah berumur 21 hst, yang dilakukan dengan menyiramkan 20 ml kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos kerapatan 10^8 spora/ml pada sekitar perakaran tanaman bawang merah.

c. Inokulasi *P. ananatis*

Kultur *P. ananatis* yang digunakan untuk inokulasi diperoleh dari hasil perbanyakan pada medium GYPB. Inokulasi dilakukan dengan metode pelukaan bagian tengah daun tanaman bawang merah berumur 30 hst, setiap tanaman dilukai sebanyak lima helai daun, dan setiap helai daun dilukai satu titik dengan jarum steril. Kultur cair *P. ananatis* dioleskan dengan kapas steril pada daun yang telah dilukai, lalu disungkup dengan plastik bening untuk menjaga kelembapan hingga muncul gejala awal penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* (Carr *et al.,* 2013). Inokulasi *P. ananatis* pada tanaman bawang merah yang berumur 30 hst dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Inokulasi *P. ananatis* pada tanaman bawang merah berumur 30 hst, (a). Pelukaan jaringan bagian tengah daun bawang merah, dan (b). Inokulasi *P. ananatis* dengan dioleskan pada daun yang dilukai.

d. Pemeliharaan tanaman bawang merah

Pemeliharaan tanaman bawang merah meliputi penyiraman, pemupukan, dan penyiangan gulma. Penyiraman dilakukan setiap pagi dan sore hari dengan disesuaikan kondisi media tanam dalam *polybag*. Pemupukan tanaman bawang merah dilakukan pada umur 15 dan 30 hst dengan memberikan pupuk urea sebanyak 2 g/*polybag* (setara pupuk urea 200 kg/ha), pupuk SP-36 sebanyak 1,2 g/*polybag* (setara pupuk SP-36 100 kg/ha), dan pupuk KCL sebanyak 0,8 g/*polybag* (setara pupuk KCL 50 kg/ha) yang diberikan dengan metode tabur di tepi *polybag*. Penyiangan dilakukan dengan mencabut gulma yang tumbuh di sekitar tanaman bawang merah, untuk mecegah kompetisi dalam penyerapan unsur hara dan air, sehingga tanaman bawang merah dapat tumbuh optimal (Asrul & Umrah, 2019).

e. Panen

Pemanenan dilakukan saat tanaman bawang merah berumur 80 hst, dengan kriteria fisiologis berupa daun tanaman bawang merah rebah ke permukaan tanah, daun menguning, kering, dan umbi bawang merah muncul ke permukaan tanah. Tanaman bawang merah yang telah dipanen dipotong bagian daun dan perakaran, lalu dibersihkan dari tanah yang menempel pada umbi bawang merah. Selanjutnya, umbi bawang merah dibungkus dengan amplop kertas dan diberi label perlakuan, lalu dibawa ke laboratorium untuk dikeringanginkan selama 14 hari pada suhu 28 °C, hingga umbi bawang merah mengering dengan kriteria kulit umbi mengering dan terkelupas (Yanti *et al.,* 2023).

4. Pengamatan penelitian

1. Persiapan aktinobakteria filosfer indigenos

a. Konfirmasi karakteristik morfologi aktinobakteria filosfer indigenos

Karakterisasi morfologi koloni aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan melalui pengamatan morfologi makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis mencakup karakteristik miselium aerial dan miselium substrat, meliputi bentuk koloni, tepi koloni, dan tekstur permukaan koloni seperti halus, bertepung, atau kasar, serta warna miselium yang bervariasi seperti merah, hijau, cokelat, krem, dan abu-abu. Sementara itu, pengamatan mikroskopis dilakukan

dengan mengamati bentuk spora dan hifa pada perbesaran 40×10 menggunakan mikroskop stereo binokular (Ferina *et al.,* 2022). Karakteristik morfologi aktinobakteria filosfer indigenos sesuai dengan koleksi sebelumnya (Lampiran 8).

b. Konfirmasi Gram aktinobakteria filosfer indigenos

Pengamatan uji Gram aktinobakteria filosfer indigenos yang diamati yaitu berupa tidak terbentuknya lendir pada saat koloni aktinobakteria filosfer indigenos dihomogenkan dengan larutan KOH 3% yang menunjukkan bakteri Gram positif (Servepalli *et al.,* 2024). Karakteristik Gram aktinobakteria filosfer indigenos sesuai dengan koleksi sebelumnya (Lampiran 8).

1.2 Konfirmasi kemanan hayati aktinobakteria filosfer indigenos

a. Konfirmasi reaksi hipersensitif aktinobakteria filosfer indigenos

Pengamatan reaksi hipersensitif dengan mengamati tidak adanya gejala nekrotik pada bagian jaringan daun tanaman kembang pukul empat yang diinokulasi dengan suspensi aktinobakteria filosfer indigenos kerapatan 10^8 spora/ml, menunjukkan tidak tergolong patogen tanaman (Yanti *et al.,* 2024). Aktinobakteria filosfer indigenos tidak tergolong patogen tanaman sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya (Lampiran 8).

b. Konfirmasi patogenisitas aktinobakteria filosfer indigenos

Pengamatan uji patogenisitas dilakukan dengan mengamati tidak adanya gejala nekrotik pada daun tanaman bawang merah yang diinokulasi dengan suspensi aktinobakteria filosfer indigenos kerapatan 10^8 spora/ml, tidak tergolong patogen pada tanaman bawang merah (Yanti *et al.,* 2024). Aktinobakteria filosfer indigenos tidak tergolong patogen tanaman, sesuai dengan koleksi sebelumnya (Lampiran 8).

2. Persiapan bakteri *P. ananatis*

a. Konfirmasi morfologi bakteri *P. ananatis*

Pengamatan morfologi bakteri *P. ananatis* yang diamati dari koloni koloni tunggal biakan murni bakteri *P. ananatis* pada permukaan medium GYPA, meliputi morfologi koloni warna krem, bentuk bundar, permukaan cembung, tepi rata, dan berlendir (Asrul & Umrah, 2019). Karakteristik morfologi bakteri *P. ananatis* sesuai dengan koleksi sebelumnya.

b. Konfirmasi Gram bakteri *P. ananatis*

Pengamatan konfirmasi Gram bakteri *P. ananatis* yang diamati berupa adanya lendir yang terbentuk pada saat koloni bakteri *P. ananatis* dihomogenkan dengan larutan KOH 3% menunjukkan bakteri Gram negatif, sehingga dapat dipastikan bahwa bakteri tersebut tergolong bakteri *P. ananatis* (Polidore *et al.,* 2021). Karakteristik Gram bakteri *P. ananatis* sesuai dengan koleksi sebelumnya.

c. Konfirmasi reaksi hipersensitif bakteri *P. ananatis*

Pengamatan reaksi hipersensitif bakteri *P. ananatis* yang diamati berupa adanya gejala nekrotik pada bagian daun tanaman kembang pukul empat yang diinokulasi dengan suspensi bakteri *P. ananatis* kepadatan populasi 10^8 sel/ml. Bakteri *P. ananatis* tergolong patogen pada tanaman (Asrul, 2020). Konfirmasi hipersensitif menunjukkan adanya gejala nekrotik, sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya.

d. Konfirmasi patogenisitas bakteri *P. ananatis*

Pengamatan patogenisitas dilakukan dengan mengamati gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* yang muncul pada daun tanaman bawang merah setelah diinokulasi dengan suspensi bakteri *P. ananatis* kepadatan populasi 10^8 sel/ml. Gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* ditandai dengan adanya lesi kebasahan (*water soaking*) pada bagian yang diinokulasi, diikuti klorosis berwarna putih yang memanjang dari bagian tengah hingga ujung daun tanaman bawang merah (Asrul, 2020). Bakteri *P. ananatis* tergolong patogen tanaman bawang merah, sehingga sesuai dengan koleksi sebelumnya.

3. Uji kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah

1. Perkembangan penyakit hawar daun bakteri
a. Masa inkubasi (hari)

Pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari setelah tanaman diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis,* hingga muncul gejala awal penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* yang ditandai dengan adanya lesi kebasahan (*water soaking*),

kemudian berkembang menjadi klorosis yang memanjang dari bagian tengah hingga ujung daun tanaman bawang merah (Nurjanah *et al.,* 2018).

b. Insidensi penyakit (%)

Insidensi penyakit diamati setiap interval 7 hari sekali, setelah munculnya gejala awal penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis,* hingga tanaman bawang merah berumur 63 hst. Insidensi penyakit dihitung dengan rumus berikut:

$IP = \frac{n}{N}$ x 100%..... (Rumus 1).

Keterangan: IP = Insidensi penyakit
n = Jumlah tanaman yang terinfeksi
N = Jumlah tanaman yang diamati

c. Severitas penyakit (%)

Pengamatan severitas penyakit dilakukan setiap interval 7 hari sekali bersamaan dengan pengamatan parameter insidensi penyakit, hingga tanaman bawang merah berumur 63 hst. Severitas penyakit hawar daun bakteri dihitung menggunakan rumus berikut:

$S = \frac{\sum(n \times v)}{Z \times N}$ x 100%.....(Rumus 2).

Keterangan: S = Severitas penyakit
n = Jumlah daun tanaman tiap kategori infeksi
v = Nilai skala tiap kategori infeksi
N = Jumlah daun yang diamati
Z = Nilai skala infeksi tertinggi

Perhitungan severitas penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* serta penentuan kriteria ketahanan pada bawang merah terhadap penyakit hawar daun bakteri, dilakukan dengan menggunakan skala dan kriteria seperti yang terlampir pada Tabel 4.

Tabel 4. Skala severitas penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* pada tanaman bawang merah

Skala severitas	Tingkat infeksi pada tanaman	Persentase infeksi	Reaksi ketahanan tanaman
0	Tidak bergejala	0,00%	Imun
1	Gejala hawar sangat ringan	>1,00-10,00%	Tahan
2	Gejala hawar ringan	>11,00-20,00%	Agak tahan
3	Gejala hawar sedang	>21,00-30,00%	Agak rentan
4	Gejala hawar berat	>31,00-50,00%	Rentan
5	Gejala hawar sangat berat	>51,00%	Sangat rentan

Sumber: Yanti *et al,* (2023).

d. *Area Under the Disease Progress Curve* (AUDPC)

Perhitungan nilai AUDPC bertujuan untuk mengetahui korelasi antara severitas penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* dengan interval waktu parameter pengamatan severitas penyakit pada 7-35 hsi. Nilai AUDPC dihitung menggunakan rumus berikut:

$$AUDPC = \sum_{i=0}^{n} \left(\frac{(y_i + y_{i+1})}{2} x(t_{i-1} + t_i) \right) \quad \text{.....(Rumus 3).}$$

Keterangan: AUDPC = *Area Under the Disease Progress Curve*

y_i = Severitas penyakit pada waktu ke-i

t_i = Jumlah hari setelah tanam pada waktu pengamatan ke-i

2. Pertumbuhan tanaman bawang merah

a. Hari muncul tunas (hst)

Perhitungan hari muncul tunas umbi bawang merah dilakukan setiap hari hingga tanaman bawang merah berumur 14 hst. Perhitungan dilakukan dengan menghitung jumlah umbi bawang merah yang bertunas (Sutriana *et al.,* 2021).

b. Tinggi tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan setiap interval 7 hari sekali dengan meletakkan penggaris pada bagian pangkal batang sampai daun yang paling tinggi. Pengukuran dimulai pada saat tanaman berumur 7-63 hst (Wati *et al.,* 2024).

c. Jumlah daun (helai)

Penghitungan jumlah daun dilakukan setiap interval 7 hari sekali dengan cara menghitung seluruh jumlah daun yang tumbuh. Perhitungan dimulai pada saat tanaman bawang merah berumur 7-63 hst (Wati *et al.,* 2024).

d. Bobot segar umbi (g)

Perhitungan bobot segar umbi dilakukan dengan membersihkan umbi bawang merah dari tanah pada permukaan umbi, lalu bagian daun dan akar bawang merah dipotong dengan gunting. Kemudian, umbi bawang merah ditimbang dengan timbangan digital untuk mengetahui bobot segar umbi (Yanti *et al.,* 2023).

e. Bobot kering umbi (g)

Penghitungan bobot kering umbi dilakukan dengan menimbang umbi bawang merah yang telah dikeringanginkan selama 14 hari. Kriteria umbi yang kering yaitu kulit umbi mengering dan terkelupas. Bobot kering umbi ditimbang dengan timbangan digital untuk mengetahui bobot kering umbi (Yanti *et al.,* 2023).

Tahap 2. Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis*, serta karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer

1. Respon fisiologis tanaman bawang merah yang diintorduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi bakteri *P. ananatis*

1.1 Persiapan media tanam

Media tanam yang digunakan untuk penanaman bawang merah terdiri atas campuran tanah dan pupuk kotoran sapi dengan perbandingan 2:1 (v:v), lalu dicampur hingga merata. Campuran media tanam tersebut disterilisasi dengan metode tyndalisasi, yaitu sterilisasi uap panas bertahap dengan cara memasukkan media tanam ke dalam plastik tahan panas berkapasitas 10 kg, kemudian dipanaskan dalam dandang selama 1 jam pada suhu 100 °C. Setelah pemanasan pertama, media diinkubasi selama 1 hari pada suhu 28 °C, lalu dipanaskan kembali dengan metode yang sama sebanyak tiga kali. Media tanam yang telah steril

dimasukkan ke *polybag* volume 5 kg dan digunakan untuk penanaman bawang merah (Yanti *et al.,* 2023).

1.2 Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan penanaman

Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos mengacu pada metode Yanti *et al.* (2024) dilakukan sebanyak 4 kali introduksi, yaitu pada saat sebelum tanam (0 hst) diintroduksi pada umbi bawang merah kultivar Bima Brebes, dan diintroduksi kembali pada sekitar perakaran tanaman bawang merah berumur 5, 12, dan 21 hst, yang bertujuan untuk meningkatkan ketahanan tanaman bawang merah terhadap penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan, dan produksi bawang merah. Umbi bawang merah dipotong 1/3 bagian atas umbi dengan pisau steril, agar sel aktinobakteria filosfer indigenos menempel, dan masuk ke jaringan umbi bawang merah, sehingga dapat mempercepat pertumbuhan tunas umbi bawang merah. Sterilisasi permukaan umbi bawang merah dilakukan dengan mencuci umbi bawang merah menggunakan air mengalir, lalu umbi bawang merah direndam dalam akuades steril selama 1 menit, dilanjutkan perendaman dalam alkohol 70% selama 1 menit, lalu direndam dua kali dengan akuades steril selama 1 menit. Aktinobakteria filosfer indigenos dengan kerapatan 10^8 spora/ml diintroduksi pada umbi bawang merah melalui perendaman selama 20 menit, sedangkan untuk perlakuan kontrol positif dan negatif, umbi bawang merah direndam dalam akuades steril selama 20 menit. Umbi bawang merah yang telah diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos ditanam pada media tanam steril sebanyak 1 umbi per *polybag*. Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos lanjutan dilakukan dengan menyiramkan 20 ml kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos kerapatan 10^8 spora/ml pada sekitar perakaran tanaman bawang merah berumur 5, 12, dan 21 hst.

1.3 Inokulasi bakteri *P. ananatis*

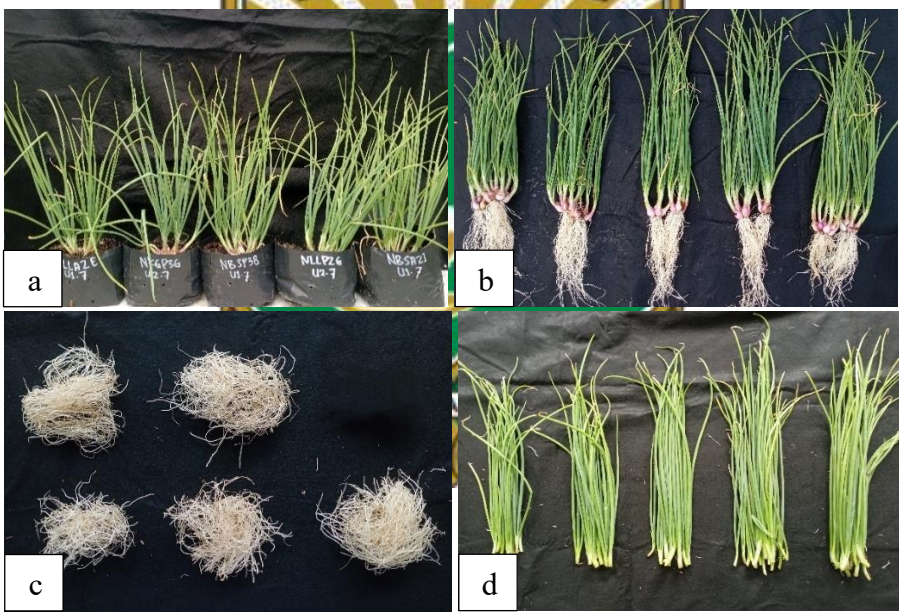
Kultur bakteri *P. ananatis* yang digunakan untuk inokulasi diperoleh dari hasil perbanyakan pada medium GYPB. Inokulasi dilakukan dengan metode pelukaan bagian tengah daun tanaman bawang merah berumur 30 hst, setiap tanaman dilukai sebanyak lima helai daun, dan setiap helai daun dilukai satu titik dengan jarum steril. Kultur cair bakteri *P. ananatis* dioleskan dengan kapas steril pada daun yang telah

dilukai, lalu disungkup dengan plastik bening untuk menjaga kelembapan hingga muncul gejala awal penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* (Carr *et al.,* 2013).

1.4 Koleksi sampel akar dan daun tanaman bawang merah

Sampel akar dan daun tanaman bawang merah yang telah diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indogenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* dipanen pada umur 0, 1, 7, 14, dan 21 hari setelah inokulasi (hsi). Tanaman bawang merah dicabut secara keseluruhan dari media tanam, lalu sampel tanaman dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan tanah yang menempel pada tanaman bawang merah, lalu dikeringkan di atas tisu. Analisis aktivitas enzim pertahanan tanaman dilakukan dengan memotong bagian daun dan akar tanaman bawang merah dengan pisau steril. Preparasi pengukuran enzim pertahanan tanaman bawang merah dapat dilihat pada Gambar 12.

UNIVERSITAS ANDALAS



Gambar 12. Preparasi pengukuran aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah pada umur 7 hsi, (a). Sampel destruktif tanaman bawang merah berumur 37 hst, (b). Sampel tanaman bawang merah yang dipanen, (c). Sampel akar tanaman bawang merah, dan (d). Sampel daun tanaman bawang merah.

1.5 Pengukuran aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah

a. Enzim *peroxidase* (POX)

Pengukuran aktivitas enzim *peroxidase* pada tanaman bawang merah mengacu pada metode Zhang *et al.* (2020), dengan mengambil sebanyak 1 g sampel akar dan daun tanaman bawang merah, lalu dimaserasi hingga halus menggunakan mortar

dan alu, kemudian ditambahkan dengan 2,5 ml kalium fosfat 0,5%; buffer pH 7,0; dan 0,1 g *Polypinyl Pyrplidone* (PVP). Sampel tanaman yang telah dimaserasi, dihomogenkan hingga merata dan disaring menggunakan dua lapisan kain kasa, lalu disentrifugasi pada kecepatan 6,000 *rpm* selama 15 menit pada suhu 4 °C. Selanjutnya dipisahkan antara supernatan dengan pelet, pelet yang mengendap pada bagian bawah *microtube* dibuang dan supernatan untuk aktivitas enzim *peroxsidase*.

Pengukuran aktivitas enzim *peroxidase* dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,2 ml supernatan, lalu dimasukkan ke *test tube* yang berisi 5 ml pirogalol (0,631 g pirogalol dalam 0,005 M *buffer phosphate* pH 6,0, volume akhir 100 ml), dihomogenkan dengan *vortex* hingga tercampur merata, kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan H2O2 konsentrasi 1% dan dihomogenkan kembali hingga homogen. Hasil campuran supernatan, pirogalol, dan H2O2 konsentrasi 1% dimasukkan ke kuvet pada spektrofotometer untuk dianalisis nilai absorbansi, lalu kuvet dipasang pada spektofotometer dengan nilai absorbansi 420 nm. Perubahan nilai absorbansi diamati setiap 5 detik sampai nilai absorbansi konstan. Aktivitas enzim *peroxidase* yang diperoleh dinyatakan dengan satuan µg/ml (Zhang *et al.,* 2020).

b. Enzim *polyphenol oxydase* (PPO)

Pengukuran enzim *polyphenol oxydase* dilakukan dengan menggerus sampel jaringan akar dan daun tanaman bawang merah sebanyak 1 g dengan mortar dan alu, kemudian dilarutkan dalam 2 ml bufer fosfat 50 mM dingin pH 6,5. Selanjutnya, suspensi disentrifugasi dengan *centrifuge* pada kecepatan 6,000 *rpm* selama 15 menit pada 4 ºC. Suspensi yang dihasilkan digunakan sebagai ekstrak tanaman. Larutan *buffer phosphate* 50 mM pH 6,5 sebanyak 2,6 m, 0,1 ml L 3,4-*dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) 5 mM, 0,1 ml asam askorbat 2,1 mM, dan 0,1 ml EDTA 0,065 mM dihomogenkan hingga tercampur merata. Ekstrak kasar sebanyak 0,1 ml ditambahkan ke larutan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 28 °C. Larutan dimasukkan ke kuvet untuk mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 420 nm dengan spektrofotometer (Abo *et al.,* 2020).

c. Enzim *phenylalanin ammonia lyase* (PAL)

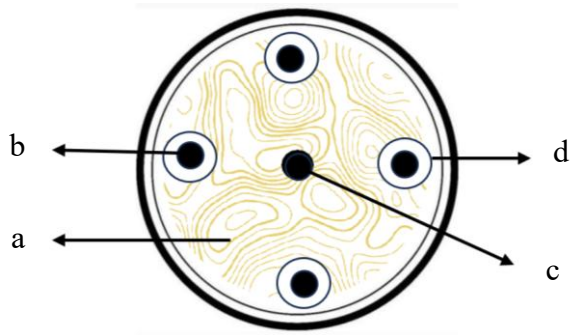
Sampel jaringan akar dan daun seberat 1 g dimaserasi dengan mortar dan alu hingga halus dan dilarutkan dalam 2 ml buffer natrium borat 0,1 M dingin pH 7,0. Suspensi yang dihasilkan disentrifugasi dengan kecepatan 6,000 *rpm* dengan *centrifuge* selama 15 menit dan diinkubasi pada suhu 4 ºC. Larutan *L-Phenylalanine* 3 mM sebanyak 2,0 ml ditambahkan dengan air deionisasi sebanyak 0,9 ml dicampurkan hingga homogen (Abo *et al.,* 2020). Aktivitas enzim PAL diukur dengan metode Sainders & McClure (1975). Reaksi dilakukan selama 60 menit pada suhu 37 °C dan peningkatan absorbansi pada 420 nm dicatat setiap interval waktu 15 menit. Sebanyak 200 mM Tris-HCl pH 7,0 digunakan sebagai larutan buffer dan 20 mM *L-Phenylalanine* sebagai substrat aktivitas enzim PAL. Kurva tingkat formasi asam sinamat sebagai pengukur aktivitas enzim PAL menggunakan peningkatan nilai absorbansi 0,01 pada 420 nm sebagai kurva asam sinamat 3,09 n mol. Aktivitas enzim PAL dinyatakan dengan satuan n mol^{-1} g^{-1}. Kalibrasi protein diukur dengan metode standar Bradford (1976).

2. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol

a. Kemampuan antagonimse aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro*

Kemampuan antagonisme bertujuan untuk mengetahui aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro*, memnggunakan *plug diffusion method* yang mengacu pada metode Dornelas *et al.* (2023). Satu koloni bakteri *P. ananatis* berumur 2×24 jam pada medium GYPA diambil menggunakan *cutton buds* steril, lalu diinokulasikan dengan disebar ke seluruh permukaan medium campuran GYPA dan ISP2 atau SCA dengan perbandingan 1:1 (v:v) menggunakan metode gores. Medium yang telah diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* dilubangi dengan *cork borrer* steril berdiameter 5 mm dan potongan medium dibuang. *Plug* tersebut diisi dengan potongan medium ISP2 atau SCA berdiameter 5 mm yang telah ditumbuhi dengan aktinobakteria filosfer indigenos berumur 7×24 jam, sebagai kontrol *plug* diisi dengan potongan medium ISP2 atau SCA tanpa ditumbuhi aktinobakteria filosfer indigenos, dan diinkubasi selama 3×24 jam pada suhu 28 °C. Pengamatan kemampuan antagonisme berupa

zona hambat yang terbentuk di sekitar *plug* koloni aktinobakteria filosfer indigenos. Diameter zona hambat aktinobakteria filosfer indigenos dihitung dengan Rumus 4. Skema kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Skema kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos menghambat perkembangan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro*, (a). Koloni bakteri *P. ananatis*, (b). Koloni aktinobakteria filosfer indigenos, (c). Kontrol, dan (d). Zona hambat.

b. Produksi enzim protease

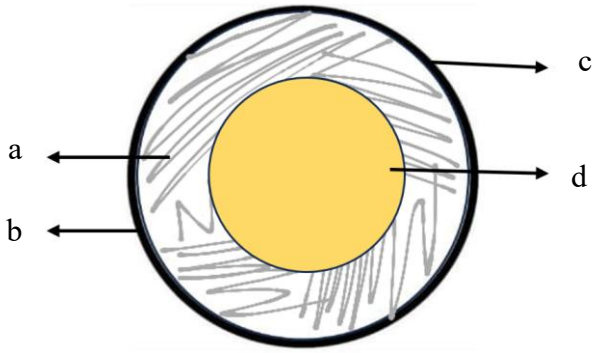
Produksi enzim protease dilakukan untuk mengetahui kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghasilkan enzim protease yang berperan mendegradasi protein yang terdapat pada dinding sel bakteri *P. ananatis*. Produksi enzim protease mengacu metode Amfar *et al.* (2021), yaitu menumbuhkan aktinobakteria filosfer indigenos pada 10 ml medium selektif yang berbeda yaitu medium ISP2 *broth* atau SC *broth* dan diinkubasi selama 14×24 jam dengan *orbital shaker* pada suhu 28 °C. Selanjutnya, kertas saring steril berdiameter 6 mm dicelupkan ke kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos selama 1 menit, sedangkan akuades steril sebagai kontrol, lalu diinokulasi di atas permukaan medium *Skim Milk Agar* (SMA) (Lampiran 4), lalu diinkubasi selama 1×24 jam pada suhu 28 °C. Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghasilkan enzim protease diamati secara kuantitatif melalui pengukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos. Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan enzim protease ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium SMA (Yanti *et al.,* 2024). Diameter enzim protease dihitung dengan Rumus 5.

c. Produksi enzim amilase

Produksi enzim amilase bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos menghasilkan enzim amilase. Produksi enzim amilase mengacu metode Renuka *et al.* (2023), yaitu menumbuhkan aktinobakteria filosfer indigenos pada medium selektif yang berbeda yaitu medium ISP2 *broth* atau SC *broth* dan diinkubasi selama 14×24 jam dengan *orbital shaker* pada suhu 28 °C. Selanjutnya, kertas saring steril berdiameter 6 mm dicelupkan ke kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos selama 1 menit dan akuades steril sebagai kontrol, lalu diinokulasi di atas permukaan medium *deMan Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) (Lampiran 4), lalu diinkubasi selama 2×24 jam pada suhu 28 °C. Koloni aktinobakteria filosfer indigenos ditetesi dengan larutan iodine 1% dan diinkubasi selama 1 menit. Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghasilkan enzim amilase diamati secara kuantitatif melalui pengukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium MRSA. Diameter enzim amilase dihitung dengan Rumus 6.

d. Produksi hidrogen sianida (HCN)

Produksi HCN bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghasilkan senyawa HCN. Aktinobakteria filosfer indigenos ditumbuhkan pada medium selektif pertumbuhan yaitu medium ISP2 atau SCA, lalu diinkubasi selama 7×24 jam pada suhu 28 °C. Kemudian kertas saring steril berdiameter 60 mm dicelupkan ke larutan asam pikrat 0,5% (Lampiran 4), lalu kertas saring dikeringkan di atas tisu steril selama 5 menit, dan diinokulasi pada bagian dalam tutup cawan petri yang berisi biakan murni aktinobakteria filosfer indigenos, kemudian diinkubasi selama 14×24 jam pada suhu 28 °C. Perubahan warna pada kertas saring menjadi cokelat muda (+), cokelat tua (++), dan merah bata (+++), menunjukkan kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos menghasilkan HCN (Djebaili *et al.,* 2021). Skema uji produksi HCN dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Skema produksi HCN, (a). Aktinobakteria filosfer indigenos, (b). Cawan petri, (c). Penutup cawan petri, dan (d). Kertas saring ukuran 6 mm yang telah direndam dengan larutan asam pikrat 0,5%.

3. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer

a. Pelarut fosfat (P)

Pengujian kemampuan pelarutan fosfat bertujuan untuk mengetahui potensi aktinobakteria filosfer indigenous dalam melarutkan fosfat secara kuantitatif, mengacu metode Gonzalez *et al.* (2023). Isolat aktinobakteria filosfer indigenos dikulturkan dalam medium ISP2 *broth* atau SC *broth* dan diinkubasi menggunakan *orbital shaker* pada kecepatan 150 *rpm* selama 14 hari. Setelah inkubasi, kertas saring steril berdiameter 6 mm dicelupkan ke kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos dan akuades steril sebagai kontrol, lalu diinokulasi pada permukaan medium *Pikovskaya Agar* (PKVA) (Lampiran 4). Inkubasi dilakukan pada suhu 28 °C selama 3×24 jam. Aktivitas pelarutan fosfat dievaluasi melalui pengukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos sebagai indikator pelarutan fosfat. Diameter pelarutan fosfat dihitung dengan Rumus 7.

b. Fiksasi nitrogen (N)

Pengujian fiksasi nitrogen bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam memfiksasi nitrogen, mengacu metode Saidi *et al.* (2021). Aktinobakteria filosfer indigenos ditumbuhkan pada medium ISP2 *broth* atau SC *broth*, lalu diinkubasi pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 *rpm* selama 14×24 jam. Selanjutnya, kertas saring steril ukuran 6 mm dicelupkan ke kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos dan akuades steril sebagai kontrol, lalu diinokulasi pada permukaan medium *Ashby's Mannitol Agar* (AMA)

(Lampiran 4), kemudian diinkubasi selama 7×24 jam pada suhu 28 °C. Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam memfiksasi nitrogen ditandai dengan adanya pertumbuhan aktinobakteria filosfer indigenos pada permukaan medium bebas nitrogen (AMA).

c. Produksi *Indole Acetic Acid* (IAA)

Produksi IAA mengacu metode Boubekri *et al.* (2021). Aktinobakteria filosfer indigenos ditumbuhkan pada 5 ml medium ISP2 *broth* atau SC *broth* yang telah ditambahkan dengan 0,5 g *L-Tryptophan* dan diinkubasi pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 *rpm* dalam kondisi gelap selama 7×24 jam pada suhu 28 °C. Aktinobakteria filosfer indigenos disentrifugasi dengan *centrifuge* pada kecepatan 4,000 *rpm* selama 30 menit, lalu 1 ml supernatan aktinobakteria filosfer indigenos dipindahkan ke *test tube* dan ditambahkan dengan 2 ml *Salkowsky Reagent*, lalu diinkubasi pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 *rpm* dalam kondisi gelap selama 30 menit. Nilai absorbansi konsentrasi IAA dianalisis pada panjang gelombang 530 nm dengan spektrofotometer. Pembanding pengujian digunakan IAA standar dengan konsentrasi 0, 5, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, dan 50 sebanyak 15 µg/ml. Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghasilkan IAA ditandai dengan perubahan warna pada kultur menjadi merah muda hingga keunguan. Konsentrasi IAA dihitung berdasarkan kurva kalibrasi IAA standar dan hasilnya dinyatakan *part per million* (*ppm*).

d. Pengamatan penelitian

1. Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah yang diintorduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi bakteri *P. ananatis*

a. Enzim *peroxidase* (POX)

Aktivitas enzim POX dianalisis dengan mengamati perubahan nilai absorbansi setiap 5 detik hingga mencapai kestabilan, mengacu pada metode Abo *et al.* (2020). Aktivitas enzim POX memfasilitasi oksidasi guaiakol menjadi tetraguaiakol, ditandai dengan perubahan warna larutan dari tidak berwarna menjadi warna jingga kecokelatan. Peningkatan konsentrasi tetraguaiakol diamati melalui kenaikan nilai

absorbansi pada panjang gelombang 470 nm menggunakan spektrofotometer. Parameter yang dievaluasi mencakup laju perubahan absorbansi, kestabilan reaksi, dan nilai absorbansi maksimum. Aktivitas enzim POX dinyatakan dalam satuan µg/ml.

b. Enzim *polyphenol oxydase* (PPO)

Aktivitas enzim polifenol oksidase (PPO) dianalisis berdasarkan metode Abo *et al.* (2020), dengan mengukur perubahan nilai absorbansi pada panjang gelombang 420 nm menggunakan spektrofotometer. Reaksi enzimatis dilakukan dengan menggunakan substrat katekol, yang mengalami oksidasi menjadi o-kuinon oleh aktivitas enzim PPO. Proses ini ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi cokelat kekuningan. Nilai absorbansi dicatat setiap 5 detik hingga reaksi konstan. Parameter yang diamati meliputi laju perubahan absorbansi, kestabilan reaksi, dan nilai absorbansi maksimum. Aktivitas enzim PPO dinyatakan dalam satuan µg/ml.

c. Enzim *phenylalanin ammonia lyase* (PAL)

Aktivitas enzim PAL ditentukan berdasarkan kemampuan PAL dalam mengkatalisis konversi *L-Phenylalanin* menjadi asam trans-sinamat, yang ditandai dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 290 nm. Jumlah asam sinamat yang terbentuk dihitung menggunakan kurva standar. Konsentrasi total protein dalam ekstrak enzim PAL diukur sebagai dasar normalisasi aktivitas, menggunakan metode Bradford (1976) dengan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai standar. Aktivitas enzim PAL diekspresikan dalam satuan nmol asam sinamat per menit per g bahan segar.

2. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol

a. Kemampuan antagonimse aktinobakteria filosfer indigenos dalam menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* (mm)

Pengamatan kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* yang diamati berupa ada atau tidak zona hambat yang terbentuk di sekitar *plug* koloni aktinobakteria filosfer indigenos setelah diinkubasi selama 3×24 jam. Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu

menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* ditandai adanya zona hambat di sekitar *plug* koloni aktinobakteria filosfer indigenos. Pengukuran diameter zona hambat oleh aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* dapat dihitung dengan rumus Dornelas *et al.* (2023).

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{\text{Diameter zona hambat - diameter } \textit{plug}}{\text{Diameter } \textit{plug}} \quad \text{.....(Rumus 4).}$$

Penentuan tingkat aktivitas antagonistik aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* dilakukan berdasarkan kategori zona hambat yang terbentuk secara *in vitro* (Tabel 5). Kriteria ini digunakan untuk mengklasifikasikan kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* berdasarkan ukuran diameter zona hambat (mm) yang dihasilkan.

Tabel 5. Kriteria kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro*

Zona hambat (mm)	Kriteria penghambatan
0,00	Tidak ada
7,00-10,00	Rendah
11,00-14,00	Sedang
>14,00	Tinggi

Sumber: Silva *et al.,* 2020.

b. Produksi enzim protease (mm)

Pengamatan produksi enzim protease yang diamati yaitu zona bening yang terbentuk di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos setelah diinkubasi selama 2×24 jam pada permukaan medium *Skim Milk Agar* (SMA). Aktinobakteria filosfer indigenos mampu memproduksi enzim protease ditandai adanya zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos, sedangkan yang tidak mampu memproduksi enzim protease tidak terdapat zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos (Amfar *et al.,* 2021). Diameter zona bening enzim protease dihitung dengan Rumus 5.

$$\text{Diameter enzim protease} = \frac{\text{Diameter zona bening- diameter koloni}}{\text{Diameter zona bening}} \text{.....(Rumus 5).}$$

c. Produksi enzim amilase (mm)

Pengamatan produksi enzim amilase dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos setelah diberikan larutan iodine 1% pada permukaan medium *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Aktinobakteria filosfer indigenos mampu memproduksi enzim amilase ditandai terbentuknya zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos, sedangkan yang tidak mampu memproduksi enzim amilase tidak ada zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos (Renuka *et al.,* 2023). Diameter zona bening enzim amilase dihitung dengan Rumus 6.

$$\text{Diameter enzim amilase} = \frac{\text{Diameter zona bening- diameter koloni}}{\text{Diameter zona bening}} \text{.....(Rumus 6).}$$

d. Produksi hidrogen sianida (+/-)

Pengamatan produksi HCN dilakukan dengan mengamati perubahan warna yang terjadi pada kertas saring setelah diinkubasi selama 14×24 jam. Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan HCN ditandai adanya perubahan warna pada kertas saring menjadi warna cokelat muda (+), cokelat tua (++), dan merah bata (+++). Sedangkan yang tidak mampu memproduksi HCN tidak mengalami perubahan warna pada kertas saring (Djebaili *et al.,* 2021).

3. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer

a. Pelarut fosfat (mm)

Pelarut fosfat yang diamati yaitu zona bening yang terbentuk di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos setelah diinkubasi selama selama 3×24 jam pada medium *Pikovskaya Agar* (PKVA). Aktinobakteria filosfer indigenos mampu melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni, sedangkan yang tidak mampu melarutkan posfat tidak terbentuk zona bening di sekitar koloni (Gonzalez *et al.,* 2023). Diameter zona bening pelarut fosfat dapat dihitung menggunakan Rumus 7.

$$\text{Diameter pelarut fosfat} = \frac{\text{Diameter zona bening - diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}} \text{.....(Rumus 7).}$$

b. Fiksasi nitrogen (+/-)

Fiksasi nitrogen yang diamati yaitu pertumbuhan koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium *Ashby Mannitol Agar* (AMA) setelah diinkubasi selama 7×24 jam pada suhu 28 °C. Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu memfiksasi nitrogen ditandai dengan pertumbuhan koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium AMA. Sedangkan aktinobakteria filosfer indigenos yang tidak mampu memfiksasi nitrogen ditandai dengan tidak ada pertumbuhan koloni aktinobakteraa filosfer indigenos (González *et al.,* 2023).

c. Produksi *Indole Acetic Acid* (*ppm*)

Produksi IAA yang diamati yaitu perubahan warna yang terjadi pada kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos yang telah ditambah dengan larutan *L-Tryptophan*. Aktinobakteria filosfer indogenos yang mampu menghasilkan IAA ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah muda hingga keunguan, sedangkan yang tidak mampu menghasilkan IAA tidak terjadi perubahan warna (Boubekri *et al.,* 2021). Konsentrasi IAA berdasarkan grafik kalibrasi IAA dan hasilnya dalam *ppm*. Konsentrasi IAA standar dihitung dengan Rumus 8.

Konsentrasi IAA = KY = a + bx.....(Rumus 8).

Keterangan: Y = Nilai absorbansi

a = Intersep

b = Koefisien regresi

x = Konsentrasi IAA

Tahap 3. Identifikasi molekuler aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi dengan primer spesifik ActF dan ActR

4. Persiapan sampel aktinobakteria filosfer indigenos

Aktinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi dari Tahap 2 dilakukan identifikasi secara molekuler dengan primer spesifik aktinobakteria filosfer

indigenos yaitu primer ActF dan ActR untuk mengetahui keragaman spesies aktinobakteria filosfer indgenos. Identifikasi molekuler dilakukan dengan meremajakan aktinobakteria filosfer indgenos untuk mendapatkan biakan murni pada permukaan medium selektif pertumbuhan yang berbeda yaitu medium ISP2 atau SCA dengan metode gores kuadran, lalu diinkubasi selama 14×24 jam pada suhu 28 °C. Koloni tunggal dari biakan murni aktinobakteria filosfer indgenos yang tumbuh pada permukaan medium diambil dengan jarum ose, lalu dimasukkan ke 40 ml medium ISP2 *broth* atau SC *broth*, lalu diinkubasi pada *orbital shaker* selama 14×24 jam pada suhu 28 °C. Kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos sebanyak 10 ml dimasukkan ke *microtube* ukuran 10 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan maksimum 12.000 *rpm* selama 1 menit untuk memisahkan pelet dengan supernatan aktinobakteria filosfer indgenos. Supernatan dibuang dengan *micro pippet* dan pelet yang mengandung DNA aktinobakteria filosfer indgenos digunakan untuk ekstraksi DNA (Messaoudi *et al*., 2020).

5. Ekstraksi DNA aktinobakteria filosfer indigenos

Ekstraksi DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan mengekstraksi dan memurnikan DNA menggunakan *Genomic DNA Mini Kit* (Geneaid). Beberapa tahapan ekstraksi DNA aktinobakteria filosfer indgenos adalah sebagai berikut:

a. Isolasi DNA

Isolasi DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan mengambil sebanyak 20 mg larutan *Lysozyme* lalu ditambahkan ke 1 ml larutan *lysozyme digestion buffer* sebelum digunakan. Pelet aktinobakteria filosfer indigenos yang diperoleh dari hasil ekstraksi disuspensikan dengan 180 µl larutan *lysozyme digestion buffer* yang telah mengandung *lysozyme*, lalu campuran tersebut dihomogenkan hingga tercampur merata dengan *vortex mixer* dan diinkubasi pada suhu 37 ℃ selama 30 menit. Kemudian, sebanyak 20 µl larutan Proteinase K ditambahkan lalu dihomogenkan kembali hingga tercampur merata, selanjutnya ditambahkan 200 µl *PureLink Genomic lysis/binding buffer*, lalu dihomogenkan kembali hingga merata dan diinkubasi pada suhu 55 ℃ selama 30 menit dalam

water bath. Sebanyak 200 µl *ethanol* 96-100% ditambahkan ke *lysate* dan dihomogenkan selama 5 detik hingga tercampur merata (Messaoudi *et al.,* 2020).

b. Pengikatan DNA

Pengikatan DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan menambahkan sebanyak 640 µl larutan *lysate* ke *PureLink Spin Column*, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10,000 *rpm* selama 1 menit pada suhu 28 °C. Setelah itu, larutan yang berada pada *collection tube* dibuang dan *collection tube* baru dipasangkan kembali pada *PureLink Spin Column*. Proses pengikatan DNA diulangi sampai 2 kali hingga seluruh larutan *lysate* habis (Messaoudi *et al.,* 2020).

c. Pencucian DNA

Pencucian DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan menambahkan larutan *Wash Buffer* 1 sebanyak 500 µl dalam *spin column*, kemudian *spin column* disentrifugasi pada suhu 28 °C dengan kecepatan 10,000 *rpm* selama 1 menit, lalu larutan yang terdapat pada *collection tube* dibuang dan dipasangkan kembali dengan *collection tube* yang baru. Setelah itu, sebanyak 500 µl larutan *wash buffer* 2 dimasukkan ke *spin column* dan disentrifugasi dengan kecepatan maksimal 12,000 *rpm* selama 3 menit pada suhu 28 °C, larutan yang terdapat pada *collection tube* dibuang. Apabila masih terdapat larutan yang tersisa pada *spin column*, maka proses sentrifugasi diulang kembali hingga tidak terdapat larutan yang tertinggal pada *spin column* (Messaoudi *et al.,* 2020).

d. Elusi DNA

Elusi DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan memasangkan *spin column* pada *microtube* ukuran 1,5 ml steril. Selanjutnya sebanyak 100 µl larutan *PureLink genomic elution buffer* dimasukkan ke bagian *spin column filter*, lalu diinkubasi pada suhu 28 °C selama 1 menit dan disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan maksimum 12,000 *rpm* dengan *sentrifuge* (Messaoudi *et al.,* 2020).

e. Analisis kualitas dan kuantitas DNA

Analisis kualitas dan kuantitas DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan dengan elektroforesis menggunakan *agarose gel* 1%. Pembuatan *agarose gel* 1% dibuat dengan cara melarutkan 0,4 g *agarose powder* ke dalam 40 ml buffer

TAE 1x (Tris-Acetate-EDTA pH 8,0) (Lampiran 4), lalu larutan dipanaskan dengan *microwave* hingga mendidih dan dihomogenkan hingga larutan tercampur merata. Setelah itu, larutan didiamkan sampai larutan bersuhu hangat dan tidak memadat, lalu *combs* dipasangkan ke *agarose tray* dan larutan tersebut dituang ke *agarose tray*, lalu diinkubasi selama 1 jam sampai larutan memadat pada *agarose tray*. Setelah *agarose gel* padat, *combs* dicabut dari *agarose tray* dan gel beserta *agarose tray* diangkat dan dipasang pada *electrophoresis chamber* yang telah diisi dengan larutan buffer TAE 1×. Selanjutnya larutan Buffer TAE 1× ditambahkan kembali pada *electrophoresis chamber* sampai seluruh bagian gel terendam. Sebanyak 5 µl sampel DNA diambil dan dicampurkan dengan *loading dye* 6× perbandingan 5:1, campuran DNA dan *loading dye* kemudian dimasukkan secara perlahan ke *combs gel* di dalam *electrophoresis chamber* menggunakan *micropippet*. Hal yang sama dilakukan ke setiap sampel DNA aktinobakteria filosfer indigenos secara berurutan. Setelah itu *electrophoresis chamber* dipasang dengan adapter elektroforesis (Mupid eXU) dan elektroforesis diatur pada tegangan 110 Volt selama 30 menit, setelah itu gel diambil dan direndam selama 30 menit pada buffer TAE 1× yang telah ditambahkan dengan 2-3 µl *ethidium bromide* 1%, lalu visualisasi kualitas dan kuantitas DNA dilakukan dengan mengamati pita DNA yang terdapat pada layar elektroforesis *imaging*. Kualitas dan kuantitas DNA aktinobakteria filosfer indigenos dibandingkan dengan perlakuan kontrol tanpa diberikan DNA aktinobakteria filosfer indigenos (*DNA marker*) (Messaoudi *et al.,* 2020).

f. Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan dengan mengamplifikasi DNA aktinobakteria filosfer dengan primer spesifik ActF (5'-CGCGGCCTATCAGCTTGTTG-3') dan primer ActR (5' CCGTACTCCCCAGGCGGGG-3'). Kemudian *ITaq PCR Master Mix* (*Thermo Scientific*) dan protokolnya digunakan dalam proses teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Campuran larutan dibuat sesuai dengan protokol untuk masing-masing volume reaksi 25 µl dengan campuran untuk tiap reaksi yaitu *Master Mix* 12,5 µl, *Primer Forward* 1 µl, *Primer Reverse* 1 µl dan *Nuclease Free Water* 7,5 µl. Campuran reaksi PCR sebanyak 25 µL dimasukkan ke *microtube* 100 µl dan setiap *tube* ditambahkan sebanyak 3 µl sampel DNA *template*

aktinobakteria filosfer indigenos. Amplifikasi dengan teknik PCR dengan mengatur mesin *Thermocycle* pada suhu 94 ℃ selama 5 menit, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi DNA sebanyak 35 siklus terdiri dari proses denaturasi yang dilakukan pada suhu 94 ℃ selama 3 menit, *annealing* pada suhu 55 ℃ selama 1 menit, ekstensi awal pada suhu 72 ℃ selama 2 menit, dan ekstensi akhir pada suhu 72 ℃ selama 10 menit. Kemudian dilakukan elektroforesis menggunakan *agarose gel* 1% dalam buffer TAE 1× dan pita DNA divisualisasi dengan *UV Trans-Illuminator,* hingga diperoleh pita DNA berukuran + 640 bp. Hasil amplifikasi dikirim ke *First BASE Singapore* melalui instansi PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta.

g. Pemurnian dan sekuensing DNA

Pemurnian dan sekuensing yang diperoleh dari amplifikasi DNA dilakukan di *First Base Singapore*. DNA aktinobakteria filosfer indigenos dilakukan sekuensing dengan metode sekuensing dua arah (*biway direction sequenching*) dengan primer spesifik aktinobakteria yaitu primer ActF (5'-CGCGGCCTATCAGCTTGTTG-3') dan primer ActR (5' CCGTACTCCCCAGGCGGGG-3'). Sekuens yang diperoleh berupa grafik *elektrophoregram* dengan *peak* warna berbeda sesuai jenis nukleotida dan susunan basa nukleotida hasil sekuensing. Data sekuensing susunan basa nukleotida *Forward* dan *Reverse* disatukan menggunakan *software BioEdit* untuk memperoleh data *Consensus*. Data Consensus dibandingkan dengan *database* yang dapat diakses secara online melalui *Basic Local Alignment Search Tool-Nucleotide* (BLAST-N) yang tersedia pada website *National Centre of Biotechnology Information* (NCBI). Website NCBI: http://blast.ncbi.nlih.gov (Wati *et al.,* 2024).

h. Analisis filogenetik

Hasil sekuensing aktinobakteria filosfer indigenos diperoleh berupa grafik *elektrophoregram* dari pasangan basa nitrogen DNA dengan warna *peak* yang beragam. Seluruh sekuens basa nitrogen DNA disejajarkan menggunakan metode *Clustal W* dengan mengelompokkan sekuens menjadi sub-kelompok dan selanjutnya kelompok besar dengan menghitung jarak antar sekuens secara berpasangan yang dilakukan dengan *software Molecular Evolutionary Genetic Analysis* 11 (MEGA 11) (Tamura *et al.,* 2021). Pembuatan pohon filogenetik digunakan metode *neighbor-joining tree* dengan *bootstrap* 1,000 kali untuk

mengetahui kekerabatan spesies aktinobakteria filosfer indigenos dengan spesies yang terdapat di *GenBank*.

G. Pengamatan Penelitian

1. Identifikasi molekuler aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi dengan primer spesifik ActF dan ActR

a. Analisis sekuensing

Analisis sekuensing dilakukan dengan membandingkan data hasil sekuensing pada susunan basa nukleotida dengan data yang terdapat pada database *Basic Local Alignment Search Tool-Nucleotide* (BLAST-N), tersedia secara online pada *website National Centre of Biotechnology Information* (NCBI). Data sekuensing dengan tingkat kemiripan sebesar 97,00–100,00% diperoleh dari hasil pencarian BLAST-N diunduh dengan format *Fast Alignment* (FASTA) untuk analisis kekerabatan filogenetik dengan *software Molecular Evolutionary Genetic Analysis* 11 (MEGA 11) (Wati *et al.,* 2024).

b. Analisis filogenetik

Analisis filogenetik hasil konstruksi yang diperoleh dari aplikasi *software* MEGA 11 diinterpretasi dalam bentuk diagram filogenetik. Analisis ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan spesies aktinobakteria filosfer indigenos dengan spesies referensi yang tersedia pada website *GenBank* (Tamura *et al.,* 2021).

H. Analisis Data Penelitian

Analisis data dilakukan dengan metode *Analysis of Varians* (ANOVA), apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5%. Analisis data perkembangan penyakit, pertumbuhan, serta produksi bawang merah menggunakan aplikasi *software Statistical Product and Service Solutions* 27 (SPSS 27) dan *Microsoft Excel* 2021. Data hasil sekuensing dianalisis menggunakan aplikasi *software Notepad, BioEdit,* dan *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* 11 (MEGA 11).

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Tahap 1. Uji kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan, dan produksi bawang merah

Berdasarkan hasil penelitian pada Tahap 1 yang telah dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA), dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5% (Lampiran 8), menunjukkan bahwa beberapa isolat aktinobakteria filosfer indigenos mampu menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah (Tabel 6 dan Tabel 7).

1.1 Perkembangan penyakit hawar daun bakteri

a. Masa inkubasi penyakit (hsi)

Aktinobakteria filosfer indigenos mampu memperlambat masa inkubasi penyakit hawar daun bakteri dan berbeda nyata dengan kontrol negatif, berdasarkan hasil analisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 8). Terdapat 16 isolat yang berbeda nyata dengan kontrol negatif yaitu NLLP2H, NBSP3A, NBSP2H, NBSP3F, NLLP2A, NLLA3F, NBSP2I, NBSA2I, NLLP2G, NLLP3J, NKGP3G, NKGP2F, NBSP2C, NBSP3B, NLLA2E, dan NBSA2E dengan masa inkubasi yaitu berkisar 5,11-19,66 hsi (Tabel 6).

b. Insidensi penyakit (%)

Aktinobakteria filosfer indigenos yang diintroduksi pada umbi dan tanaman bawang merah menunjukkan berbeda tidak nyata dengan kontrol negatif pada insidensi penyakit (Tabel 6), sehingga tidak diuji lanjut DNMRT pada taraf 5%. Tanaman bawang merah yang diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* menunjukan gejala penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis*.

c. Severitas penyakit (%)

Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menekan severitas penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis* pada tanaman bawang merah dan berbeda nyata dengan

kontrol negatif, berdasarkan hasil analisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 8). Aktinobakteria filosfer indigenos yang berbeda nyata dengan kontrol negatif pada severitas penyakit terdapat 15 isolat yaitu NLLP2H, NLLP2A, NLLP2G, NLLP3J, NLLA2E, NBSA2E, NBSP3B, NBSP2C, NBSP2I, NKGP2F, NBSP3F, NBSP2H, NBSP3A, NLLA3F, dan NKGP3G dengan severitas penyakit yaitu berkisar 8,76-38,22%, sehingga tergolong kriteria ketahanan tanaman yaitu kriteria Tahan-Rentan (Tabel 6). Visualisasi perbandingan severitas penyakit hawar daun bakteri pada isolat aktinobakteria filosfer indigenos dengan kontrol negatif dapat dilihat pada (Gambar 15) memperlihatkan severitas penyakit lebih tinggi pada kontrol negatif dibandingkan dengan tanaman yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos.

Gambar 15. Perbandingan severitas penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis* pada tanaman bawang merah berumur 35 hsi (a). Perlakuan kontrol positif, dan (b). Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSP3F.

Tabel 6. Perkembangan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah berumur 63 hst yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis*

Kode isolat	Masa inkubasi (hsi)	Insidensi penyakit (%)	Severitas penyakit (%)	Nilai AUDPC	Indeks penekanan penyakit (%)	Kriteria ketahanan tanaman
NLLP2H	19,66 a	100,00 a	8,76 a	73,57	87,00	Tahan
NLLP2A	17,33 b	100,00 a	11,11 abc	155,57	75,51	Agak tahan
NLLP2G	10,77 d	100,00 a	21,08 f	293,30	48,17	Agak rentan
NLLP3J	14,77 c	100,00 a	14,31 de	200,65	64,54	Agak tahan
NLLA2E	6,66 e	100,00 a	38,22 h	456,01	19,42	Rentan
NLLA3F	17,00 b	100,00 a	9,95 ab	91,15	83,89	Tahan
NBSA2E	11,55 d	100,00 a	16,60 e	225,61	60,13	Agak tahan
NBSP3B	15,66 c	100,00 a	11,35 bc	197,54	65,09	Agak tahan
NBSP3F	14,33 c	100,00 a	9,56 ab	129,32	77,15	Tahan
NBSA2B	4,77 fg	100,00 a	38,81 hi	576,87	-1,92	Rentan
NBSA3B	4,66 fg	100,00 a	40,28 hi	492,55	12,97	Rentan
NBSP2C	6,66 e	100,00 a	27,98 g	466,51	17,57	Agak rentan
NBSP2I	5,33 ef	100,00 a	25,88 g	357,24	36,88	Agak rentan
NBSA2I	5,11 f	100,00 a	39,83 hi	529,65	6,41	Rentan
NBSP2H	17,66 b	100,00 a	9,65 ab	118,33	79,09	Tahan
NBSP3A	19,55 a	100,00 a	9,90 ab	110,25	80,52	Tahan
NKGP3B	4,55 fg	100,00 a	40,96 i	554,96	1,94	Rentan
NKGP2F	14,88 c	100,00 a	15,74 e	167,16	70,46	Agak tahan
NKGP3G	11,55 d	100,00 a	12,42 cd	206,50	63,51	Agak tahan
NKGP3I	4,11 fg	100,00 a	40,09 hi	581,98	-2,82	Rentan
KONTROL -	3,55 g	100,00 a	41,16 i	565,98	00,00	Rentan
KK	7,19	-	10,53	-	-	

* Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah tidak berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%.

d. *Area Under the Disease Progress Curve* (AUDPC)

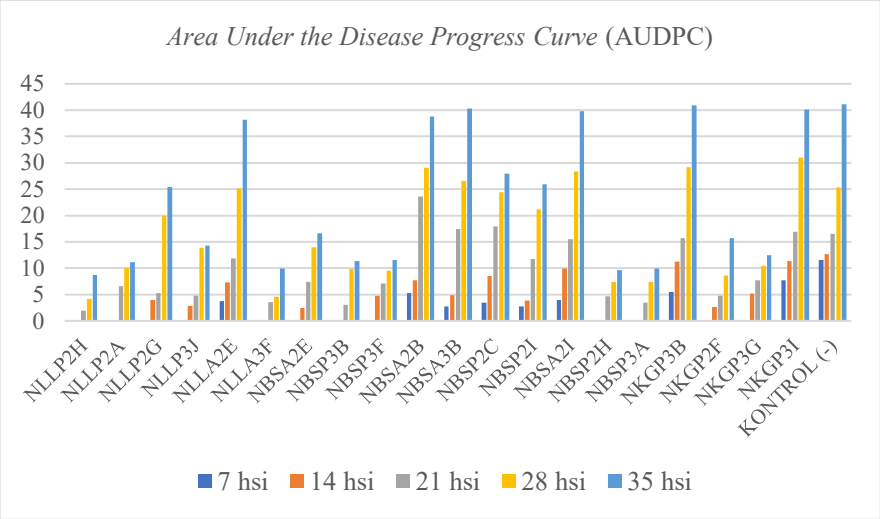
Nilai AUDPC digunakan sebagai indikator kumulatif untuk mengevaluasi perkembangan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah setelah diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi bakteri *P. ananatis* pada 7, 14, 21, 28, dan 35 hsi. AUDPC adalah satuan nilai yang menggabungkan parameter progres perkembangan penyakit tanaman sepanjang waktu. Nilai AUDPC dihitung dari parameter severitas penyakit pada setiap interval waktu pengamatan, sehingga nilai AUDPC yang rendah menunjukkan perkembangan penyakit yang lebih lambat, sedangkan nilai AUDPC yang tinggi menjunjukkan perkembangan penyakit yang lebih cepat (Tabel 6).

Perkembangan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah setelah diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* pada 7 hsi secara umum nilai AUDPC masih rendah. Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSA3B, NBSA2B, NBSP2C, NBSP2I, NBSA2I, NKGP3B, NKGP3I, NLLA2E, dan kontrol negatif menunjukkan nilai AUDPC tertinggi pada 7 hsi yaitu sekitar 8–12, sedangkan kode isolat NLLP2H, NLLP2A, NLLP2G, NLLP3J, NLLA3F, NBSA2E, NBSP3B, NBSP3F, NBSP2H, NBSP3A, NKGP3G, dan NKGP2F menunjukkan penyakit hampir belum berkembang pada 7 hsi. Perbedaan antar isolat masih rendah pada 7 hsi dengan sebagian besar isolat menunjukkan nlai AUDPC di bawah 10. Perkembangan penyakit pada 14 hsi, nilai AUDPC meningkat untuk sebagian besar isolat. Aktinobakteria filosfer indigenos dengan nilai AUDPC tertinggi adalah yang menunjukkan perkembangan penyakit yang cepat yaitu kode isolat NKGP3B, NBSP2C, NLLA2E, NBSA2B, NBSA3B, NKGP3I, dan NKGP3G dengan nilai sekitar 12–15, sedangkan kode isolat NLLP2H, NLLP3J, dan NBSP3A memiliki nilai AUDPC yang rendah yaitu 0–2.

Perkembangan penyakit pada 21 hsi secara umum menunjukkan peningkatan AUDPC yang meningkat. Nilai AUDPC tertinggi sekitar 25–26 terlihat pada isolat NBSA2B, NBSA3B, NLLA2E, NBSP2C, NBSA2I, NKGP3B, dan NKGP3I menunjukkan perkembangan penyakit cukup tinggi. Isolat dengan AUDPC terendah yaitu NLLP2H, NLLA3F, NBSP3B, NBSP2H, NBSP3F, dan NBSP3A yang menunjukkan perkembangan penyakit pada isolat tersebut berkembang lebih lambat. Perkembangan penyakit pada 28 hsi dengan AUDPC tertinggi adalah

NLLP2G, NLLA2E, NBSA2B, NBSA3B, NBSP2C, NBSA2I, NBSP2I, NKGP3B, dan NKGP3I menunjukkan laju penyakit sangat cepat, sedangkan nilai AUDPC terendah yaitu NLLP2H, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, dan NBSP3A.

Perkembangan penyakit pada 35 hsi secara umum kurva mencapai titik tertinggi. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos dengan AUDPC tertinggi yaitu kode isolat NLLA2E, NBSA2B, NBSA3B, NBSA2I, NKGP3B, NKGP3I, dan kontrol negatif sekitar 38–40. Sementara isolat dengan AUDPC terendah yaitu NLLP2H, NLLP3J, NLLP2A, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, NBSP3A, dan NKGP3G dengan perkembangan penyakit paling lambat. Nilai akhir AUDPC kontrol negatif menunjukkan perkembangan penyakit paling tinggi (Gambar 16).



Gambar 16. Grafik perkembangan penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis* pada tanaman bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi bakteri *P. ananatis* pada umur 7-35 hsi.

1.2 Pertumbuhan tanaman dan produksi bawang merah

a. Muncul tunas (hst)

Aktinobakteria filosfer indigenos yang diintroduksi pada umbi dan tanaman bawang merah mampu meningkatkan muncul tunas tanaman bawang merah terdapat 13 isolat yang berbeda nyata dengan kontrol positif, setelah dilakukan analisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 7). Isolat tersebut yaitu NBSP3F, NBSP2H, NBSP3A, NLLP2H, NKGP2F, NLLP2A, NLLP2G, NLLP3J, NLLA3F, NBSA2E, NBSP3B, NBSP2I, dan NKGP3G dengan muncul tunas yaitu berkisar 3,33-5,50 hst (Tabel 7). Perbandingan muncul tunas

umbi bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dengan kontrol positif dapat dilihat (Gambar 17 a).

b. Tinggi tanaman (cm)

Aktinobakteria filosfer indigenos mampu meningkatkan pertumbuhan tinggi tanaman bawang merah dan berbeda nyata dengan kontrol positif yaitu terdapat 9 isolat, setelah dianalisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT taraf 5% (Lampiran 8). Isolat aktinobakteria filosfer indigenos tersebut yaitu NLLP2H, NKGP2F, NBSP3F, NBSP3A, NLLA3F, NLLP3J, NBSP2H, NBSA2E, dan NKGP3G, dengan tinggi tanaman yaitu berkisar 38,44-45,67 cm (Tabel 7). Perbandingan pertumbuhan tanaman bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dengan kontrol positif dapat dilihat (Gambar 17 b) menunjukkan pertumbuhan tinggi tanaman bawang merah diintroduksi lebih optimal dibandanding kontrol positif.

c. Jumlah daun (helai)

Aktinobakteria filosfer indigenos berbeda nyata dengan kontrol positif pada jumlah daun tanaman bawang merah yaitu terdapat 8 isolat, setelah dianalisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 8). Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang berbeda nyata dengan kontrol positif yaitu NLLP2H, NLLP2A, NLLP3J, NLLA3F, NBSP3A, NBSA2E, NBSP3F, NKGP2F dengan jumlah daun yaitu berkisar 56,22-77,45 helai (Tabel 7). Pertumbuhan jumlah daun tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos lebih banyak dibandingkan dengan kontrol positif (Gambar 17 b).

d. Bobot segar umbi (g)

Aktinobakteria filosfer indigenos yang diintroduksi pada umbi dan tanaman bawang merah mampu meningkatkan produksi bawang merah yaitu terdapat 13 isolat berbeda nyata dengan kontrol positif, setelah dianalisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 7). Isolat aktinobakteria filosfer indigenos tersebut yaitu NLLP2H, NLLP2A, NLLP2G, NLLP3J, NBSA2E, NBSP3B, NBSP2I, NBSP3A, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, NKGP3G, dan NKGP2F dengan bobot segar umbi bawang merah berkisar yaitu 84,07-150,55 g (Tabel 7).

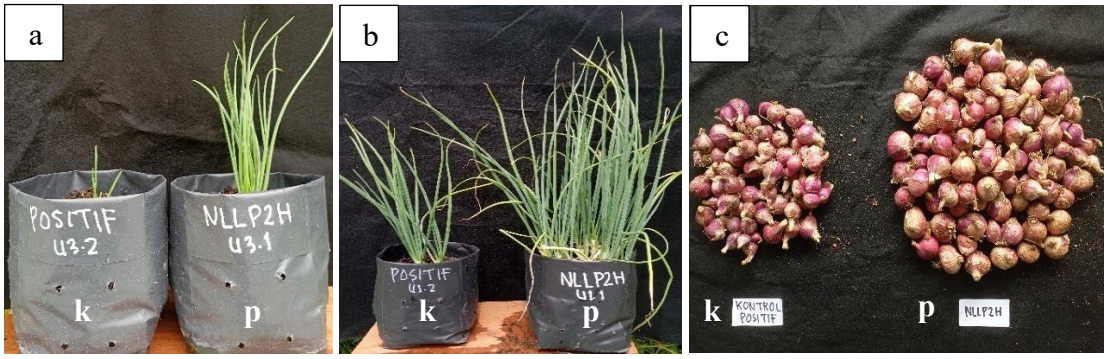
e. Bobot kering umbi (g)

Aktinobakteria filosfer indigenos menunjukkan berbeda nyata pada bobot kering umbi bawang merah dibandingkan dengan kontrol positif, setelah dianalisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 8). Terdapat 13 isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang berbeda nyata dengan kontrol positif yaitu NLLP2H, NLLP2A, NLLP2G, NLLP3J, NBSA2E, NBSP3B, NBSP2I, NBSP3A, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, NKGP3G, dan NKGP2F dengan bobot kering umbi bawang merah berkisar yaitu 79,81-147,24 g (Tabel 7). Perbandingan bobot umbi bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dibandingkan dengan kontrol positif dapat dilihat pada Gambar 17 c.

Tabel 7. Pertumbuhan tanaman bawang merah berumur 63 hst dan produksi bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos

Kode isolat	Muncul tunas (hst)	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun (helai)	Bobot segar (g)	Bobot kering (g)
NLLP2H	3,83 ab	45,77 a	74,55 a	150,55 a	147,24 a
NLLP2A	4,83 abc	39,55 bcde	56,55 bcd	97,85 ef	94,31 cde
NLLP2G	4,50 abc	37,77 defg	40,88 efg	86,65 f	80,90 e
NLLP3J	4,00 abc	41,66 abcd	63,88 ab	94,31 ef	92,19 cde
NLLA2E	11,83 d	33,44 efgh	34,44 gh	56,28 g	53,71 f
NLLA3F	4,83 abc	41,77 abcd	63,66 ab	118,77 bc	116,87 b
NBSA2E	4,50 abc	40,88 bcd	59,77 bc	92,30 f	91,40 de
NBSP3B	5,33 bc	38,77 cdef	49,11 cde	95,57 ef	93,72 cde
NBSP3F	3,33 a	43,00 abc	57,66 bcd	111,24 cd	110,32 bc
NBSA2B	12,16 d	32,66 h	27,11 h	53,22 g	49,82 f
NBSA3B	12,66 d	34,33 efgh	30,55 gh	50,46 g	47,30 f
NBSP2C	12,33 d	32,66 h	33,00 gh	49,33 g	47,02 f
NBSP2I	4,66 abc	35,00 efgh	31,66 gh	84,07 f	78,81 e
NBSA2I	13,33 d	33,61 efgh	30,00 gh	43,13 g	39,69 f
NBSP2H	3,33 a	41,55 abcd	48,66 cde	111,55 cd	109,48 bcd
NBSP3A	3,33 a	43,00 abc	62,55 b	129,35 b	126,67 b
NKGP3B	11,83 d	34,44 efgh	32,33 gh	43,92 g	40,65 f
NKGP2F	3,33 a	44,44 ab	56,22 bcd	95,54 ef	94,34 cde
NKGP3G	5,50 c	40,11 bcd	50,22 cde	93,21 ef	91,88 de
NKGP3I	13,33 d	34,88 efgh	36,55 fgh	52,31 g	49,47 f
KONTROL+	13,33 d	35,11 efgh	39,88 efg	49,76 g	48,88 f
KONTROL-	13,33 d	33,88 efgh	25,88 h	42,32 g	36,76 f
KK	10,85	6,65	13,34	12,22	12,33

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah tidak berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%.



Gambar 17. Perbandingan pertumbuhan dan produksi bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dengan kontrol positif, (a). Pertumbuhan tunas bawang merah pada umur 14 hst, (k) perlakuan kontrol positif dan (p) Kode isolat NLLP2H, (b). Pertumbuhan tanaman bawang merah pada umur 63 hst, (k) perlakuan kontrol positif dan (p) Kode isolat NLLP2H, dan (c). Bobot umbi bawang merah (k) perlakuan kontrol positif dan (p) Kode isolat NLLP2H.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tahap 1 diperoleh 11 isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah (Tabel 6 dan Tabel 7), dengan kriteria sebagai berikut :

1. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri dengan severitas penyakit < 21,00% yang tergolong kriteria ketahanan tanaman yaitu kriteria Tahan-Agak tahan, dan indeks penekanan penyakit > 50,00%.
2. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu meningkatkan produksi bawang merah > 90,00 g.

Aktinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi pada Tahap 1 yaitu kode isolat NLLP2H, NBSP2H, NBSP3A, NBSP3F, NLLA3F, NBSP3B, NLLP3J, NKGP2F, NKGP3G, NLLP2A, dan NBSA2E dilanjutkan ke Tahap 2 untuk analisis respon fisiologis tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* secara *in planta* serta karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer secara *in vitro*.

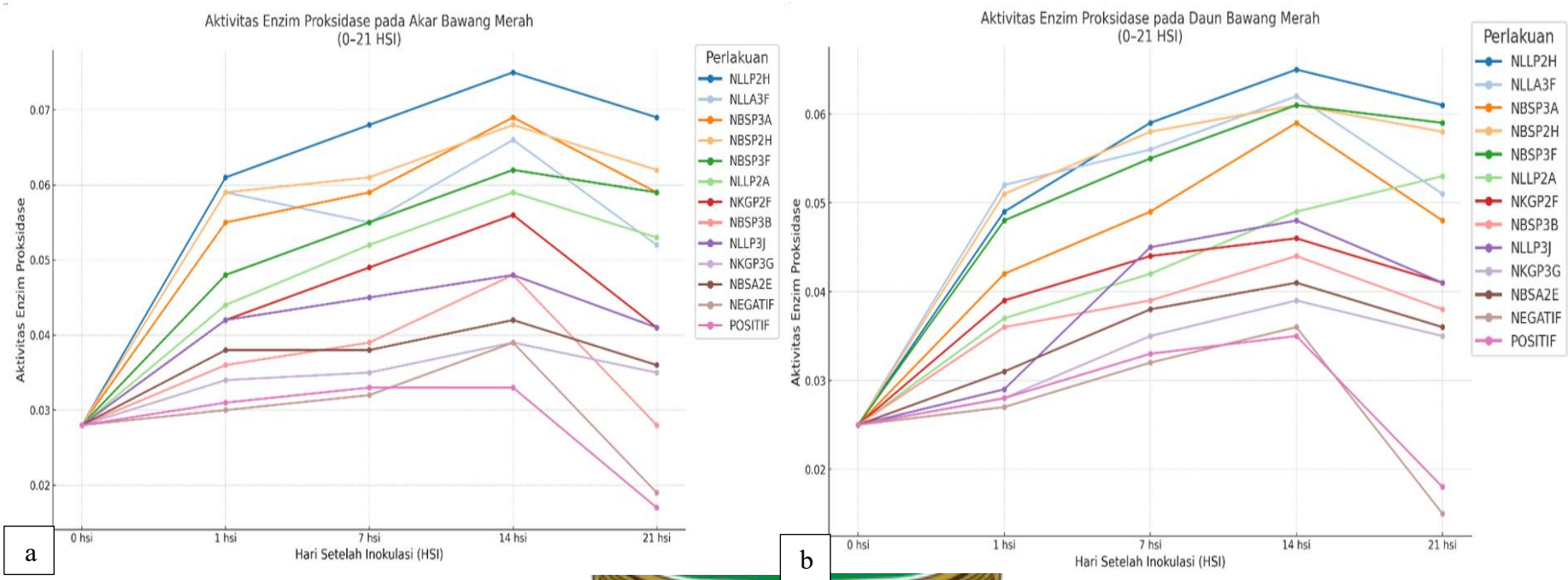
Tahap 2. Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah yang diintroduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis*, serta karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer

1. Aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah

a. Aktivitas enzim *peroxidase* (POX)

Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos pada umbi dan tanaman bawang merah mampu meningkatkan aktivitas enzim POX yang lebih tinggi pada bagian akar tanaman bawang merah dibandingkan pada bagian akar tanaman bawang merah pada 1-14 hsi dan terjadi penurunan pada 21 hsi. Hal ini disebabkan oleh aktinobakteria filosfer indigenos yang diintroduksi sebanyak 4 kali yaitu pada umbi (0 hst), dan tanaman bawang merah berumur 5, 12, dan 21 hst, sehingga aktinobakteria filosfer indigenos mampu mengimduksi enzim POX yang lebih tinggi pada bagian akar tanaman bawang merah, dibandingkan pada bagian daun tanaman bawang merah. Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP3A, NBSP2H, dan NBSP3F mampu meningkatkan aktivitas enzim POX pada umur 14 hsi dengan konsentrasi tertinggi pada bagian akar tanaman bawang merah yaitu sekitar 0,062-0,075 µg/ml dengan persentase peningkatan berkisar 50,00-115,63%, dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,059-0,069 µg/ml. Sedangkan aktivitas enzim POX pada daun tanaman bawang merah berumur 14 hsi lebih rendah yaitu sekitar 0,059-0,065 µg/ml, dengan persentase peningkatan berkisar 36,00-80,56%, dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,048-0,061 µg/ml.

Aktivitas enzim POX pada akar tanaman bawang merah perlakuan kontrol positif pada 14 hsi yaitu sekitar 0,033 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,017 µg/ml, kontrol negatif yaitu sekitar 0,039 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,019 µg/ml. Sedangkan aktivitas enzim POX pada daun tanaman bawang merah perlakuan kontrol positif yaitu sekitar 0,035 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,018 µg/ml, kontrol negatif pada 14 hsi yaitu sekitar 0,036 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,015 µg/ml. Aktivitas enzim POX pada akar dan daun tanaman bawang merah dapat dilihat pada (Gambar 18 a dan b) yang menunjukkan grafik perkembangan aktivitas enzim POX yang meningkat pada 1-14 hsi, dan menurun pada 21 hsi.

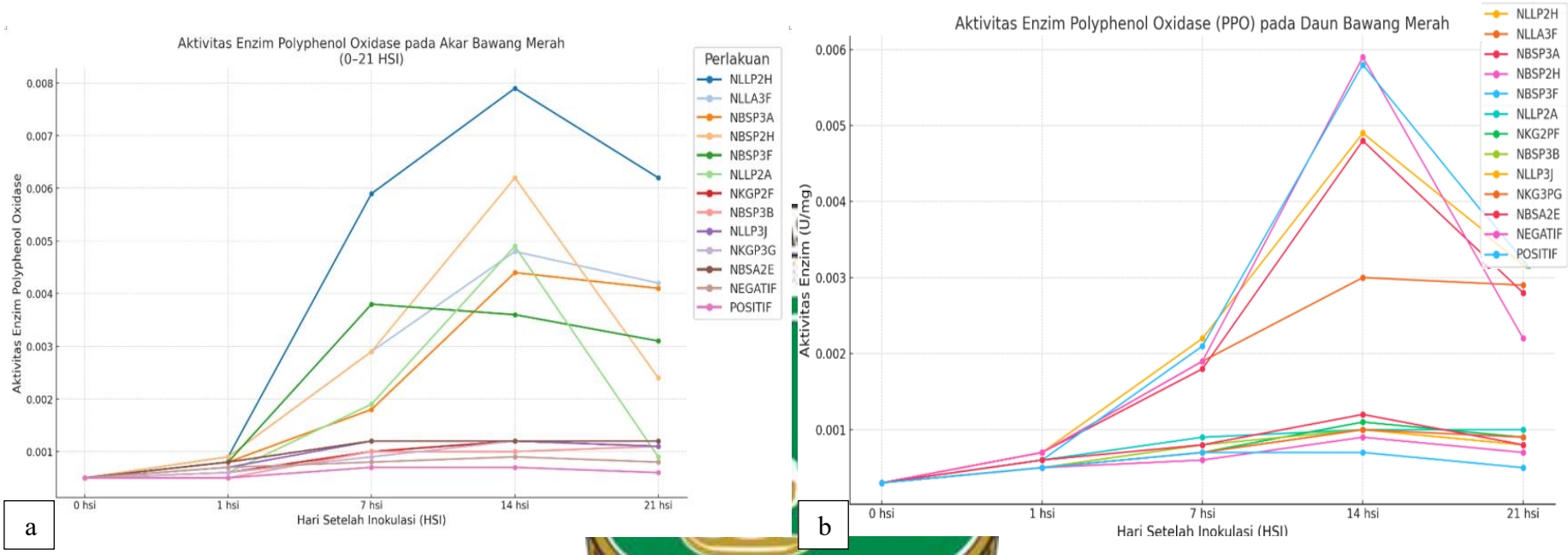


Gambar 18. Aktivitas enzim POX pada tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* pada 0, 1, 7, 14, dan 21 hsi. (a). Perkembangan aktivitas enzim POX pada bagian akar tanaman bawang merah, dan (b). Perkembangan aktivitas enzim POX pada bagian daun tanaman bawang merah.

b. Aktivitas enzim *polyphenol oxidase* (PPO)

Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan inokulasi bakteri *P. ananatis* pada tanaman bawang merah mampu meningkatkan aktivitas enzim PPO pada tanaman bawang merah dengan akumulasi enzim PPO tertinggi yaitu pada bagian akar tanaman bawang merah dibandingkan dengan aktivitas PPO pada daun tanaman bawang merah yang cenderung lebih rendah pada 1-14 hsi, dan menurun pada 21 hsi. Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP3A, NBSP2H, dan NBSP3F merupakan isolat dengan aktivitas enzim PPO tertinggi pada bagian akar tanaman bawang merah yang berumur 14 hsi yaitu sekitar 0,0029-0,0079 µg/ml dengan persentase peningkatan berkisar antara 16,00-216,00% dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,0059-0,0069 µg/ml. Sedangkan aktivitas enzim PPO pada bagian daun tanaman bawang merah menunjukkan penigkatan yang lebih rendah dibandingkan pada bagian akar tanaman abwang merah yaitu sekitar 0,0039-0,0059 µg/ml dengan persentase peningkatan berkisar 56,00-136,00%.

Aktivitas enzim PPO pada akar tanaman bawang merah perlakuan kontrol negatif dan positif cenderung rendah dan stabil pada 0-21 hsi. Aktivitas enzim PPO kontrol positif pada 14 hsi yaitu sekitar 0,0007 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,0005 µg/ml, kontrol negatif yaitu sekitar 0,0009 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,0007 µg/ml. Sedangkan aktivitas enzim PPO pada daun tanaman bawang merah perlakuan kontrol positif pada 14 hsi yaitu sekitar 0,0007 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,0006 µg/ml, kontrol negatif yaitu sekitar 0,0009 µg/ml dan menurun pada 21 hsi menjadi 0,0008 µg/ml. Aktivitas enzim PPO pada bagian akar dan daun tanaman bawang merah dapat dilihat pada (Gambar 19 a dan b) yang menunjukkan perkembangan aktivitas enzim PPO pada bagian akar dan daun tanaman bawang merah yang meningkat pada1-14 hsi dan terjadi penurunan pada 21 hsi.

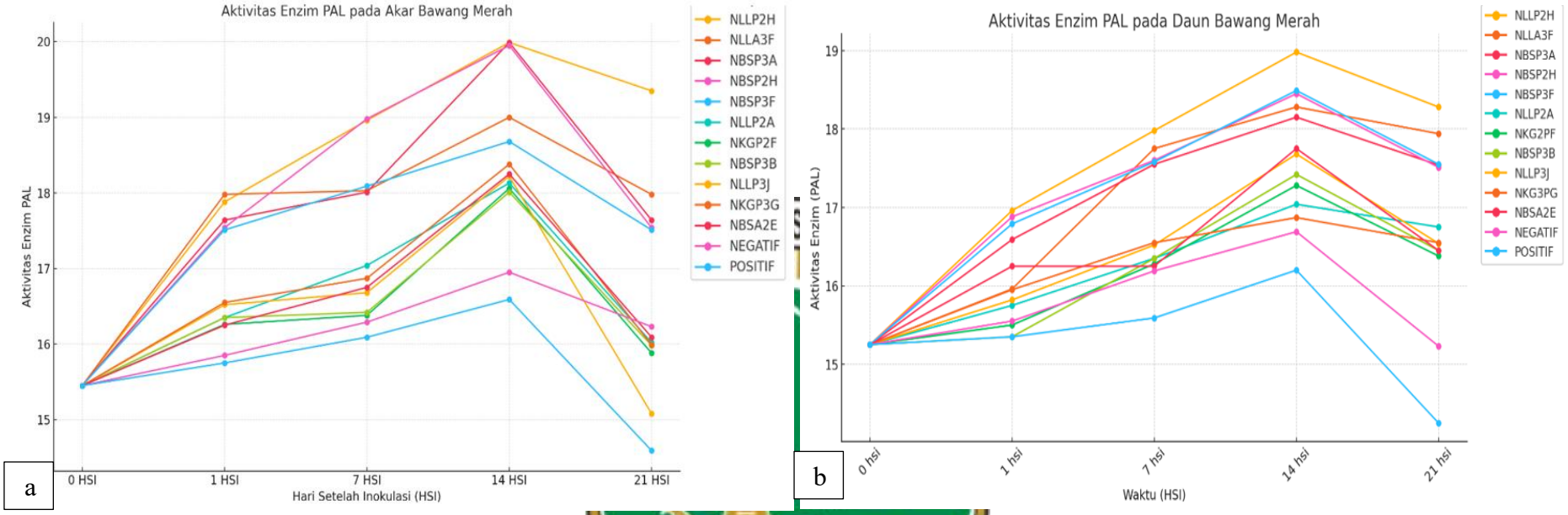


Gambar 19. Aktivitas enzim PPO pada tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* pada 0, 1, 7, 14, dan 21 hsi, (a). Perkembangan aktivitas enzim PPO pada bagian akar tanaman bawang merah, dan (b). Perkembangan aktivitas enzim PPO pada bagian daun tanaman bawang merah.

c. Aktivitas enzim *phenylalanine ammonia lyase* (PAL)

Aktivitas enzim PAL merupakan indikator penting sebagai reseptor awal dalam aktivasi biosintesis senyawa fenilpropanoid, flavonoid, fenol, dan lignifikasi pada tanaman. Hasil dari biosintesis ini berperan untuk aktivasi enzim pertahanan POX dan PPO dengan akumulasi yang tinggi pada bagian akar dan daun tanaman bawang merah, sehingga tanaman bawang merah resisten terhadap penyakit hawar daun bakteri. Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos dan inokulasi bakteri *P. ananatis* mampu meningkatkan aktivitas enzim PAL pada bagian akar dan daun tanaman bawang merah dengan akumulasi aktivitas enzim PAL tertinggi yaitu pada bagian akar tanaman bawang merah pada 1-14 hsi dan terjadi penurunan pada 21 hsi. Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP3A, NBSP2H, dan NBSP3F mampu meningkatkan aktivitas enzim PAL pada bagian akar tanaman bawang merah berumur 14 hsi yaitu sekitar 19,09-19,99 n $mol^{-1}g^{-1}$ dengan persentase peningkatan berkisar 13,93-22,73%, dan menurun pada 21 hsi menjadi 17,51-19,35 n $mol^{-1}g^{-1}$. Sedangkan aktivitas enzim PAL pada bagian daun tanaman bawang merah berumur 14 hsi yaitu berkisar 18,15-18,98 n $mol^{-1}g^{-1}$ dengan persentase peningkatan berkisar 8,74-13,73%, dan menurun pada 21 hsi menjadi 17,51-18,28 n $mol^{-1}g^{-1}$. Hal ini disebabkan karena aktivitas enzim PAL akan menurun pada interval waktu yang lama setelah patogen menginfeksi tanaman, sehingga tanaman mengurangi aktivitas enzim PAL pada 21 hsi.

Aktivitas enzim PAL pada akar tanaman bawang merah perlakuan kontrol positif dan negatif cenderung rendah pada 0-21 hsi. Aktivitas enzim PAL pada kontrol positif pada 14 hsi yaitu 16,59 n $mol^{-1}g^{-1}$ dan menurun pada 21 hsi menjadi 14,59 n $mol^{-1}g^{-1}$, kontrol negatif yaitu 16,95 n $mol^{-1}g^{-1}$ dan menurun pada 21 hsi menjadi 16,23 n mol^{-1} g^{-1}. Sedangkan aktivitas enzim PAL pada daun tanaman bawang merah perlakuan kontrol positif pada 14 hsi yaitu 16,20 n $mol^{-1}g^{-1}$ dan menurun pada 21 hsi menjadi 14,25 n $mol^{-1}g^{-1}$, kontrol negatif yaitu 16,69 n $mol^{-1}g^{-1}$ dan menurun pada 21 hsi menjadi 15,23 n $mol^{-1}g^{-1}$. Grafik perkembangan aktivitas enzim PAL pada akar dan daun tanaman bawang merah dapat dilihat pada (Gambar 20 a dan b) menunjukkan peningkatan pada 0-14 hsi dan terjadi penurunan pada 21 hsi.



Gambar 20. Aktivitas enzim PAL pada tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos dan diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* pada 0, 1, 7, 14, dan 21 hsi, (a). Perkembangan aktivitas enzim PAL pada bagian akar tanaman bawang merah, dan (b). Perkembangan aktivitas enzim PAL pada bagian daun tanaman bawang merah.

KEDJAJAAN UNTUK BANGSA

2. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol

Aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol bakteri *P. ananatis* dapat menghasilkan beberapa senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* diantaranya yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* dengan kemampuan antagonisme (Tabel 8), menghasilkan enzim protease, enzim amilase, dan hidrogen sianida (Tabel 9). Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dapat dilihat pada Lampiran 7.

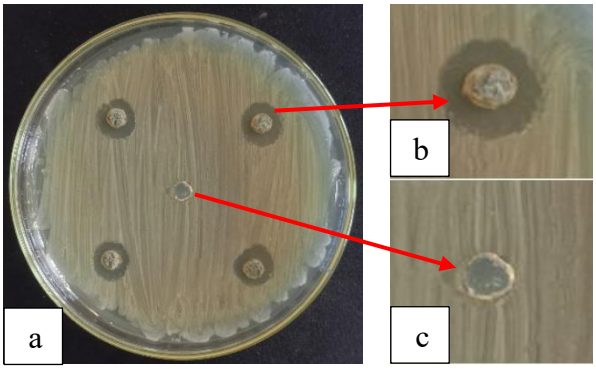
a. Kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro*

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* yaitu terdapat 11 isolat aktinobakteria filosfer indigenos berbeda nyata apabila dibandingkan dengan kontrol, setelah dianalisis sidik ragam dan uji lanjut DNMRT pada taraf 5% (Lampiran 7). Aktinobakteria filosfer indigenos tersebut yaitu kode isolat NLLP2H, NBSP2H, NBSP3A, NBSP3F, NLLA3F, NBSP3B, NLLP3J, NKGP2F, NKGP3G, NLLP2A, dan NBSA2E dengan diameter zona hambat berkisar 8,00-17,50 mm yang tergolong kriteria penghambatan yang Sedang hingga Tinggi (Tabel 8) (Gambar 21).

Tabel 8. Kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* (3 hsi)

Kode isolat	Zona hambat (mm)	Kriteria penghambatan
NLLP2H	17,50 a	Tinggi
NBSP2H	16,00 ab	Tinggi
NBSP3A	16,00 ab	Tinggi
NBSP3F	16,00 ab	Tinggi
NLLA3F	16,00 ab	Tinggi
NBSP3B	13,00 bc	Sedang
NLLP3J	12,00 cd	Sedang
NKGP2F	12,00 cd	Sedang
NKGP3G	9,50 de	Rendah
NLLP2A	9,00 de	Rendah
NBSA2E	8,00 e	Rendah
KONTROL	00,00 f	Tidak ada
KK	18,19	

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah tidak berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%.



Gambar 21. Kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos dalam menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* setelah diinkubasi 3×24 jam, (a). Aktinobakteria filosfer kode isolat NLLP2H menunjukkan zona hambat di sekitar koloni, (b). Zona hambat, dan (c). Kontrol tidak terdapat zona hambat.

b. Produksi enzim protease

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan enzim protease yaitu 5 isolat diantara nya NLLP2H, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, dan NBSP3A merupakan isolat yang mampu menghasilkan enzim protease ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium SMA dengan diameter enzim protease berkisar 1,03-1,22 mm (Gambar 22 a), sedangkan aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP3J, NKGP3G, NLLP2A, NBSA2E, NBSP3B, dan NKGP2F tidak mampu menghasilkan enzim protease karena tidak terdapat zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium SMA. Produksi enzim protease dapat dilihat pada Tabel 9.

c. Produksi enzim amilase

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan enzim amilase terdapat 9 isolat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium MRSA setelah diberikan larutan iodine 1% (Gambar 22 b). Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan enzim amilase yaitu kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, NBSP3A, NKGP3G, NLLP2A, NBSA2E, dan NKGP2F dengan diameter enzim amilase berkisar 0,56-2,44 mm, sedangkan 2 isolat aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP3J dan NBSP3B tidak mampu menghasilkan enzim amilase yang ditandai dengan tidak terbentuk zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos. Produksi enzim amilase dilihat pada Tabel 9.

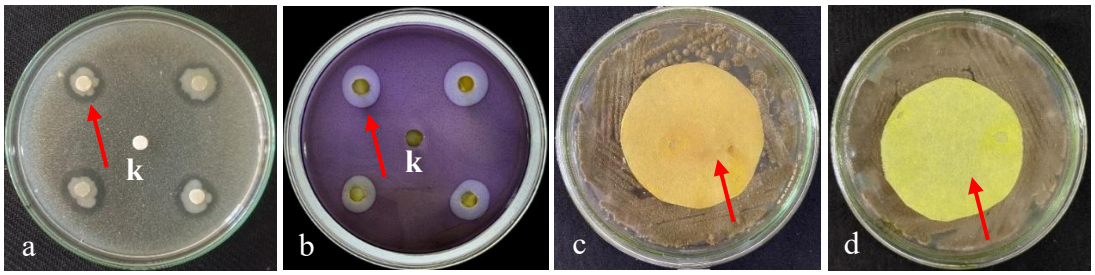
d. Produksi hidorgen sianida

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan HCN yang ditandai terjadinya perubahan warna kertas saring menjadi warna cokelat setelah dicelupkan dengan larutan asam pikrat 2% (Gambar 22 d). Terdapat 1 isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan HCN yaitu kode isolat NBSP3F, sedangkan 10 isolat lainnya yaitu NLLP3J, NBSP3B, NBSP2A, NLLP2H, NBSP2H, NBSA2E, NLLP2A, NKGP3G, dan NKGP2F tidak menghasilkan HCN yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada kertas saring (Gambar 22 e). Produksi hidrogen sianida dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol

Kode isolat	Enzim protease (mm)	Enzim amilase (mm)	Hidrogen sianida (+/-)
NLLP2H	1,21	2,05	-
NLLP3J	0,00	0,00	-
NLLA3F	1,14	2,44	-
NBSP3B	0,00	0,00	-
NBSP3F	1,10	1,11	+
NBSP2H	1,22	1,43	-
NBSP3A	1,03	1,01	-
NKGP2F	0,00	0,92	-
NKGP3G	0,00	0,56	-
NLLP2A	0,00	0,81	-
NBSA2E	0,00	1,01	-
KONTROL	0,00	0,00	-

Keterangan:
+ Mampu menghasilkan hidrogen sianida
- Tidak mampu menghasilkan hidrogen sianida



Gambar 22. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSP3F sebagai agens biokontrol, (a). Kemampuan menghasilkan enzim protease pada medium SMA ditandai terbentuk zona bening, (b). Kemampuan menghasilkan enzim amilase pada medium MRSA ditandai terbentuk zona bening, (c). Kemampuan menghasilkan HCN ditandai perubahan warna kertas cakram menjadi cokelat, (d). Kode isolat NKGP2F tidak menghasilkan HCN, dan (k). Perlakuan kontrol.

3. Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer

Aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer dengan menghasilkan senyawa pemacu pertumbuhan yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman bawang merah seperti kemampuan dalam memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat, dan menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA). Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer dapat dilihat pada Tabel 10 dan Gambar 23 dan Lampiran 7.

a. Fiksasi nitrogen

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu memfiksasi nitrogen terdapat 11 isolat yang ditandai adanya pertumbuhan koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium AMA (Gambar 23 a), sedangkan kontrol tidak terdapat pertumbuhan koloni aktinobakteria filosfer indigenos di sekitar kertas saring (Tabel 10).

b. Pelarut fosfat

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu melarutkan fosfat terdapat 5 isolat yang ditandai adanya zona bening di sekitar koloni aktinobakteria filosfer indigenos pada medium PKVA (Gambar 23 b). Diameter pelarut fosfat terbesar dihasilkan oleh aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, dan NBSP3A dengan diameter pelarut fosfat sebesar 1,14– 1,94 mm. Sedangkan, aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP3J, NLLP2A, NBSA2E, NKGP3G, dan NKGP2F tidak mampu melarutkan fosfat yang ditandai tidak adanya zona bening di sekitar koloni (Tabel 10).

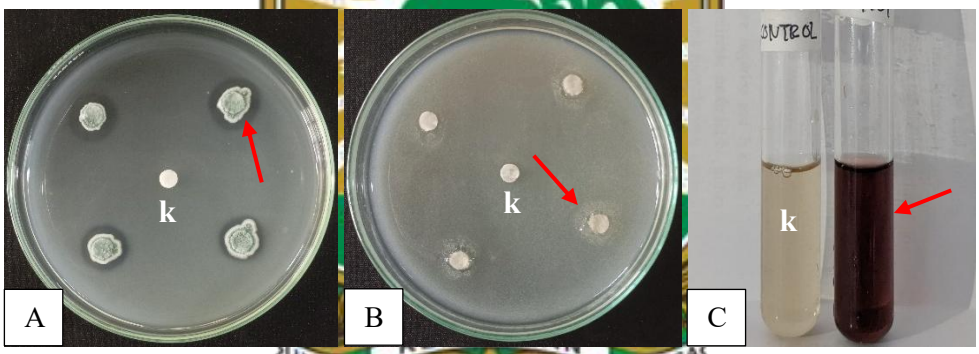
c. Produksi *Indole Acetic Acid* (IAA)

Aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menghasilkan IAA ditandai dengan perubahan warna kultur cair aktinobakteria filosfer indigenos menjadi warna keunguan setelah ditambahkan *Salkowsy Reagent* dengan kadar konsentrasi IAA yaitu 7.91 – 308.51 *ppm* (Gambar 23 c). Kadar konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSP2H, NLLP2H, NBSP3F, NLLA3F, dan NBSP3A yaitu berkisar 83,46 – 308,51 (Tabel 10).

Tabel 10. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer

Kode isolat	Fiksasi nitrogen (+/-)	Pelarut fosfat (mm)	*Indole Acetic Acid* (IAA) (*ppm*)
NLLP2H	+	1,14	269,80
NLLP3J	+	0,00	19,75
NLLA3F	+	1,57	107,18
NBSP3B	+	0,00	36,26
NBSP3F	+	1,41	115,08
NBSP2H	+	1,94	308,51
NBSP3A	+	1,38	83,46
NKGP2F	+	0,00	41,56
NKGP3G	+	0,00	11,72
NLLP2A	+	0,00	7,91
NBSA2E	+	0,00	12,03
KONTROL	-	0,00	0,00

Keterangan:
+ Mampu menghasilkan senyawa biofertilizer
- Tidak mampu menghasilkan senyawa biofertilizer



Gambar 23. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai biofertilizer, (a). Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBP3F melarutkan fosfat pada medium PKVA yang ditandai adanya zona bening, (b). Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSP3A memfiksasi nitrogen pada medium AMA yang ditandai adanya pertumbuhan koloni, (c). Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NBSP2H menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) pada medium ISP2 *broth* yang ditambah dengan *reagent Salkowsky* yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi keunguan, dan (k). Perlakuan kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian Tahap 2, diperoleh 5 isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang dapat meningkatkan aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah, serta berperan sebagai agens biokontrol dan biofertilizer, sehingga dilanjutkan ke Tahap 3 dengan kriteria sebagai berikut:

1. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu meningkatkan respon fisiologis enzim pertahanan tanaman bawang merah seperti enzim POX, PPO, dan PAL.
2. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* dengan diameter zona hambat > 14,00 mm dan kriteria penghambatan Tinggi.
3. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menghasilkan enzim protease, amilase, dan HCN.
4. Aktinobakteria filosfer indigenos mampu menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) dengan konsentrasi > 50,00 *ppm*, mampu melarutkan fosfat, dan memfiksasi nitrogen.

Aktinobakteria filosfer indigenos yang berpotensi pada Tahap 2 yaitu kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP3F, NBSP2H, dan NBSP3A dilanjutkan ke Tahap 3 untuk diidentifikasi secara molekuler dengan primer spesifik ActF dan ActR, sehingga diperoleh spesies dari aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi tersebut.

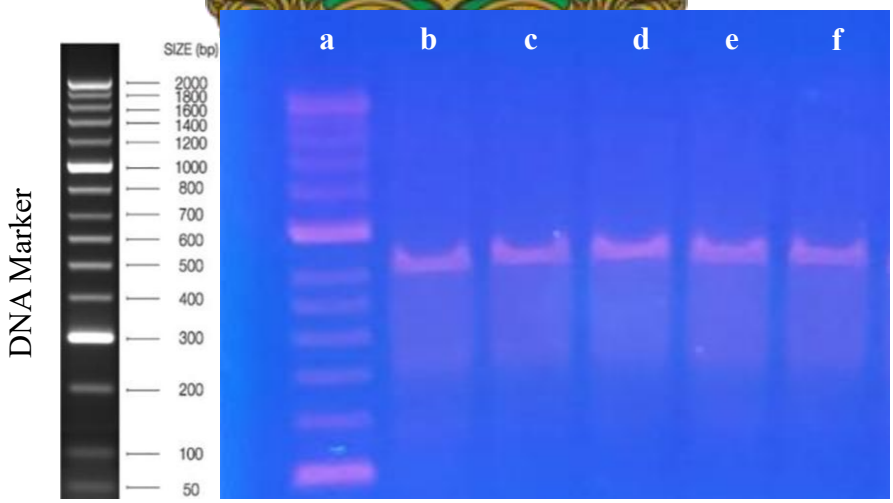
UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Tahap 3. Identifikasi molekuler aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi dengan primer spesifik ActF dan ActR

Aktinobakteria filosfer indigenos yang diidentifikasi secara molekuler dengan primer spesifik ActF dan ActR merupakan isolat potensial yang telah diseleksi dari Tahap 1 dan 2 pada penelitian ini. Kriteria aktinobakteria filosfer indigenos yang diseleksi yaitu isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang mampu menekan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan produksi bawang merah, meningkatkan respon fisiologis pertahanan tanaman bawang merah, serta menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer.

d. Analisis sekuensing

Aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi kode isolat NLLP2H, NLLA3F, NBSP2H, NBSP3F, dan NBSP3A merupakan isolat yang berpotensi sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis* dan biofertilizer tanaman bawang merah, serta mampu meningkatkan aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah. Isolat tersebut telah diidentifikasi secara molekuler dengan primer spesifik ActF dan ActR, dan dengan *iTaq Master Mix PCR* sehingga diperoleh ukuran panjang pita DNA berukuran sekitar 645 *basepair* (bp). Hasil visualisasi pita DNA aktinobakteria filosfer indigenos dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Visualisasi pita DNA aktinobakteria filosfer indigenos dengan *UV Trans Iluminator,* (a). Primer spesifik ActF dan ActR (DNA *Marker*), (b). Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2H, (c). NLLA3F, (d). NBSP3A, (e). NBSP3F, dan (f). NBSP2H.

Hasil sekuensing aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi setelah dianalisis dengan *Basic Local Alignment Search Tool – Nucleotide* (BLAST– N) diperoleh keragaman spesies aktinobakteria yang beragam dengan kemiripan yang berbeda-beda. Aktinobakteria filosfer indigenos kode isolat NLLP2H merupakan spesies *Streptomyces bullii* strain NLLP2H mirip dengan spesies *Streptomyces bullii* strain BLH-71 dengan indeks kemiripan 100,00%, kode isolat NLLA3F merupakan spesies *Actinomycetes bacterium* strain NLLA3F memiliki kemiripan dengan spesies *Actinomycetes bacterium* strain BYF-87 dengan indeks kemiripan 99,77%, kode isolat NBSP3A merupakan spesies *Streptomyces seouloensis* strain NBSP3A memiliki kemiripan dengan spesies *Streptomyces seouloensis* strain HBUM174820 dengan indeks kemiripan 100,00%, kode isolat NBSP3F merupakan spesies *Streptomyces xiangtanensis* strain NBSP3F memiliki kemiripan dengan spesies *Streptomyces xiangtanensis* strain f38 dengan indeks kemiripan 100,00%, dan kode isolat NBSP2H merupakan spesies *Kitasatospora kepongensis* strain NBSP2H memiliki kemiripan dengan spesies *Kitasatospora kepongensis* strain SU113 dengan indeks kemiripan 100,00%. Indeks kemiripan aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi dengan spesies yang terdapat pada database NCBI dapat dilihat pada (Tabel 11) menunjukkan keragaman spesies aktinobakteria filosfer indigenos.

Karakteristik morfologi *Streptomyces bullii* strain NLLP2H memiliki koloni berbentuk circular dengan elevasi berbentuk convex, miselium aerial dan substrat berwarna abu-abu, serta memiliki spora berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai. *Actinomycetes bacterium* strain NLLA3F memiliki koloni berbentuk circular dengan elevasi berbentuk convex, miselium aerial berwarna hijau tua, miselium substrat berwarna kuning, dan memiliki spora berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai. *Streptomyces seouloensis* strain NBSP3A memiliki koloni berbentuk circular, dengan elevasi berbentuk flat, miselium aerial dan substrat berwarna abu-abu, dan memiliki spora berbentuk bulat. *Streptomyces xiangtanensis* strain NBSP3F memiliki koloni berbentuk circular dengan elevasi berbentuk flat, miselium aerial berwarna hijau tua, miselium substrat berwarna kuning, dan memiliki spora berbentuk bulat. *Kitasatospora kepongensis* strain NBSP2H memiliki koloni berbentuk filamentous dengan elevasi berbentuk umbonate, miselium aerial berwarna cokelat, miselium substrat berwarna merah, dan memiliki spora berbentuk

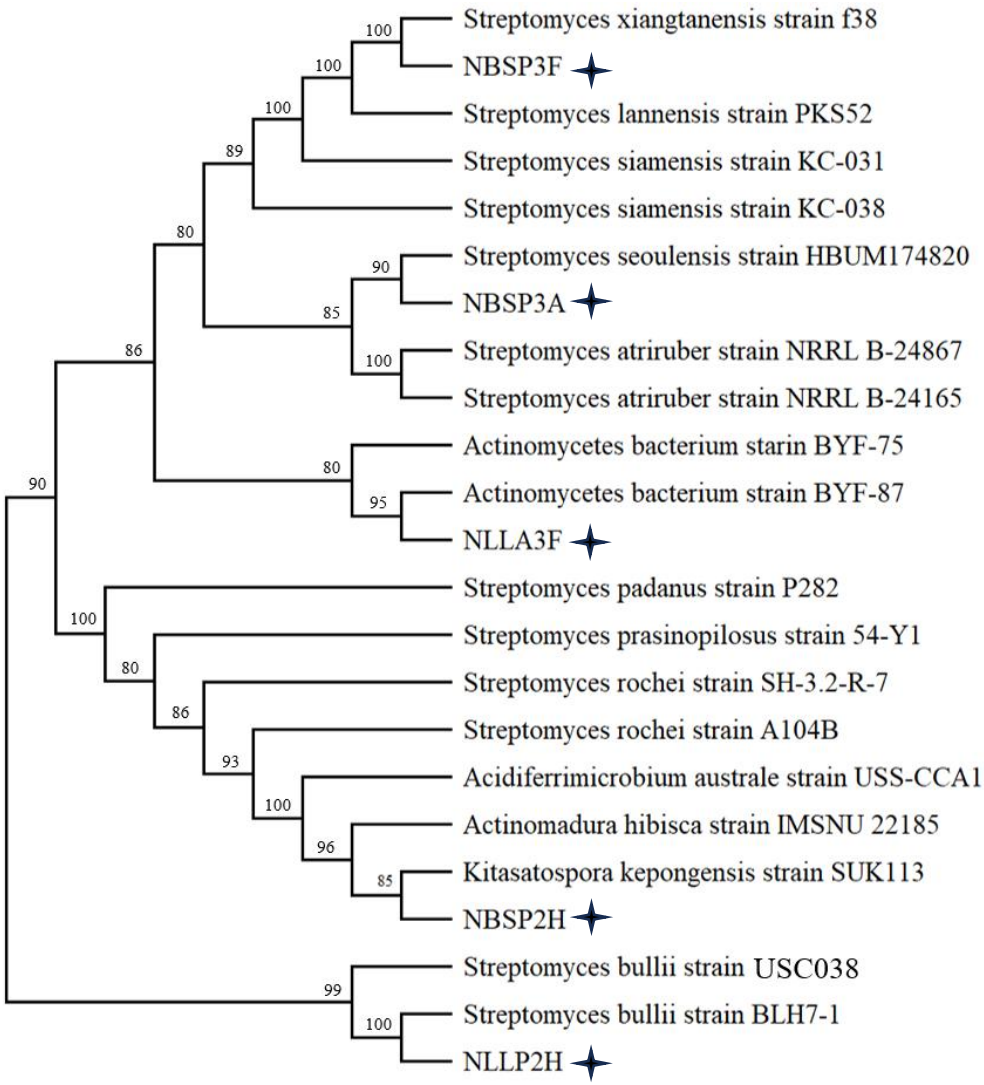
bulat yang tersusun seperti rantai. Karakteristik morfologi aktinobakteria filosfer indigenos yang telah diidentifikasi secara molekuler dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 11. Indeks kekerabatan aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi dengan spesies aktinobakteria yang tersedia secara online pada website NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

Isolate	*Species identity*	*Similarity*	*Accession*
NLLP2H	*Streptomyces bullii* strain BLH7-1	100,00%	PV809790
NBSP3A	*Streptomyces seoulensis* strain HBUM174820	100,00%	PV809789
NBSP3F	*Streptomyces xiangtanensis* strain f38	100,00%	PV809792
NBSP2H	*Kitasatospora kepongensis* strain SU113	100,00%	PV809793
NLLA3F	*Actinomycetes bacterium* strain BYF-87	99,77%	PV809791

e. Analisis filogenetik

Analisis filogenetik aktinobakteria filosfer indigenos menunjukkan bahwa isolat dengan kode NLLP2H, NBSP3A, NBSP2H, NLLA3F, dan NBSP3F tergolong kelompok spesies yang berbeda setelah dilakukan analisis BLAST-N pada website NCBI dan analisis kekerabatan filogenetik dengan *bootstrap* 1,000 kali pada aplikasi MEGA 11. Aktinobakteria filosfer indigenos kode NLLP2H memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan spesies *Streptomyces bullii*, kode isolat NLLA3F memiliki kekerabatan dekat dengan spesies *Actinomycetes bacterium*, NBSP3F memiliki kekerabatan yang dekat dengan spesies *Streptomyces xiangtanensis*, dan NBSP2H memiliki kekerabatan dengan spesies *Kitasatospora kepongensis*. Analisis filogenetik aktinobakteria filosfer indigenos dapat dilihat pada Gambar 25.



Gambar 25. Analisis filogenetik aktinobakteria filosfer indigenos dengan aplikasi *software* MEGA 11 yang dikonstruksi dengan metode *Neighbor Joining Tree* dan *Bootstrap* 1,000 kali. Isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang diidentisifaksi secara molekuler dalam penelitian ini ditandai dengan bintang.

B. Pembahasan

Aktinobakteria filosfer indigenos yang diintroduksi pada umbi dan tanaman bawang merah mampu menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri oleh *P. ananatis* dengan memperlambat masa inkubasi penyakit, menekan severitas penyakit hawar daun bakteri, dan indeks penekanan penyakit hawar daun bakteri tertinggi yaitu *Streptomyces bullii* strain NLLP2H, *Actinomycetes bacterium* strain

NLLA3F, *Streptomyces seoulensis* strain NBSP3A, *Streptomyces xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *Kitasatospora kepongensis* strain NBSP2H (Tabel 6). Hal ini disebabkan aktinobakteria filosfer indigenos tersebut mampu mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah dengan menginduksi ketahanan sistemik tanaman yang memicu respon fisiologis pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen dengan meningkatkan aktivitas enzim pertahanan POX, PPO, dan PAL pada bagian akar dan daun tanaman bawang merah pada 14 hsi (Gambar 18, 19, dan 20). Hal ini sesuai dengan Tian *et al.* (2024) menyatakan *S. pratensis* strain S10 yang diintroduksi pada bagian akar bibit gandum mampu menginduksi ketahanan sistemik bibit gandum terhadap penyakit busuk malai gandum dengan meningkatkan aktivitas enzim pertahanan POX, PPO, dan PAL.

Aktivitas enzim pertahanan tanaman memiliki peran spesifik yang saling berkaitan dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen tanaman. Enzim POX berperan dalam proses pembentukan dan penebalan dinding sel tanaman sehingga tanaman resisten terhadap infeksi awal patogen melalui biosintesis lignifikasi dinding sel tanaman (Zhai *et al.,* 2024); mampu mendegradasi hidrogen peroksida (El-Mahdy *et al.,* 2024); dan menghasilkan senyawa fenolitik yang dapat menekan perkembangan dan penyebaran patogen di dalam jaringan tanaman (Poursakhi *et al.,* 2025). Enzim PPO berperan dalam merespon infeksi patogen dengan cepat sehingga patogen tidak menyebar ke bagian jaringan tanaman yang lain melalui reaksi hipersensitif dengan mematikan jaringan tanaman yang terinfeksi dan meningkatkan konsentrasi *quinon* pada tanaman yang bersifat *cytotoxic* terhadap patogen (Pandey *et al.,* 2024). Enzim PAL berperan sebagai katalisator awal untuk mengkatalisasi senyawa amonia dari senyawa asam sinamat, sehingga dapat terjadi biosintesis senyawa fenolitik dengan konsentrasi yang tinggi untuk meningkatkan enzim POX dan PPO (Shahidi *et al.,* 2024).

Aktivitas enzim pertahanan POX, PPO, dan PAL pada tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H menunjukkan aktivitas tertinggi pada bagian akar dibandingkan pada bagian daun tanaman bawang merah pada 14 hsi (Gambar 18, 19, dan 20). Hal ini disebabkan isolat aktinobakteria filosfer indigenos tersebut diintroduksi

sebanyak 4 kali yaitu pada umbi bawang merah (0 hst) dan pada sekitar perakaran tanaman bawang merah berumur 5, 12, dan 21 hst. Sehingga, akar tanaman bawang merah menjadi akumulasi awal terjadinya induksi ketahanan sistemik dengan meningkatkan aktivitas enzim POX, PPO, PAL dengan akumulasi yang tinggi pada bagian akar tanaman bawang merah dibandingkan pada bagian daun tanaman bawang merah. Menurut Maibeche *et al.* (2022), introduksi aktinobakteria pada bagian tanaman tertentu dapat menginduksi tanaman untuk meningkatkan aktivitas enzim pertahanan tanaman pada bagian tanaman yang diintroduksi.

Aktivitas enzim POX, PPO, dan PAL pada bagian daun tanaman bawang merah meningkat pada 0-14 hsi dan menurun pada 21 hsi (Gambar 18, 19, dan 20). Hal ini disebabkan karena tanaman bawang merah merespon infeksi bakteri *P. ananatis* dengan cepat, sehingga tanaman menghasilkan enzim pertahanan dengan konsentrasi yang tinggi pada tahap awal infeksi dan menurun mengikuti penurunan laju infeksi. Selain itu, tanaman bawang merah mulai menunjukkan gejala penyakit hawar daun bakteri pada 14 hsi, dan daun tanaman bawang merah pada 21 hsi menunjukkan severitas penyakit hawar daun bakteri yang tinggi (Tabel 6). Hal ini sesuai dengan Anggreiny *et al.* (2021), menyatakan enzim pertahanan tanaman akan menurun pada saat severitas penyakit tanaman menunjukkan severitas yang tinggi.

Aktivitas enzim PAL pada tanaman bawang merah yang diintroduksi dengan *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H, serta diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi pada bagian akar dibandingkan pada bagian daun tanaman bawang merah berumur 0-14 hsi dan menurun pada 21 hsi (Gambar 20). Peningkatan aktivitas enzim PAL pada akar dan daun tanaman bawang merah meningkat lebih cepat yaitu pada 0-14 hsi, dibandingkan dengan enzim POX dan PPO terjadi lebih lambat dan meningkat bersamaan pada 1-14 hsi. Hal ini disebabkan karena enzim PAL merupakan titik awal biosintesis senyawa pertahanan yang berperan dalam membentuk senyawa pertahanan. Hasil dari biosintesis tersebut akan diakumulasikan untuk enzim POX dan PPO, sehingga aktivitas enzim PAL aktif lebih awal dibandingkan dengan enzim POX dan PPO (Sathiyabama *et al*., 2015).

Introduksi *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H, serta diinokulasi dengan bakteri *P. ananatis* pada tanaman bawang merah dapat meningkatkan aktivitas enzim POX, PPO, dan PAL pada 14 hsi (Gambar 18, 19, dan 20). Menurut Hata *et al.* (2021), introduksi *S. shenzhenensis* strain TKSC3 mampu mengendalikan penyakit hawar daun bakteri oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada tanaman padi berumur 2 hsi dengan meningkatkan aktivitas enzim POX berkisar 115,32 µmol/mg protein, enzim PPO berkisar 118,52 µmol/mg protein, enzim PAL berkisar 51,36 µmol/mg protein, dan enzim GLU berkisar 275,14 abs/mg protein. Selanjutnya, Tian *et al.* (2024), menyatakan *S. pratensis* strain S10 yang diintroduksi pada bagian akar bibit gandum mampu menginduksi ketahanan sistemik bibit gandum terhadap penyakit busuk malai gandum oleh *Fusarium graminearum* dengan meningkatkan enzim CAT, SOD, POX, PPO, dan PAL pada 12-24 jam setelah inokulasi.

S. bullii strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H yang diintroduksi pada umbi dan perakaran tanaman bawang merah mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi bawang merah (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena isolat aktinobakteria filosfer indigenos tersebut berperan sebagai *Plant Growth Promoting Actinobacteria* (PGPA) yang dapat meningkatkan pertumbuhan serta produksi tanaman dengan menghasilkan senyawa fitohormon seperti *Indole Acetic Acid* (IAA), melarutkan fosfat, dan memfiksasi nitrogen (Tabel 10). Hal ini didukung oleh Faddeta *et al.* (2023), yang menyatakan *S. coelicolor* strain M145, *Kocuria rhizophila*, dan *S. violaceoruber* strain DSM 40783 berperan sebagai PGPA yang mampu meningkatkan tinggi tanaman tomat dengan persentase berkisar 18,90-43,44%, dan panjang akar tanaman tomat berkisar 38,03-77,04%, dengan menghasilkan senyawa fitohormon seperti IAA yang memacu pertumbuhan tanaman tomat.

S. bullii strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H sebagai biofertilizer untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi bawang merah dengan menghasilkan fitohormon berupa IAA (Tabel 10). Hal ini sesuai dengan

Marinah *et al.* (2025), menyatakan aktinobakteria yang diisolasi dari tanaman famili Liliaceae menghasilkan IAA dengan konsentrasi berkisar 3,90-4,00 *ppm*. Introduksi aktinobakteria pada tanaman bawang merah mampu meningkatkan tinggi tanaman, jumlah daun, dan bobot umbi bawang merah karena menghasilkan IAA dengan konsentrasi 2,20- 82,80 *ppm* (Yanti *et al.,* 2024). Selanjutnya, *S. alboviridis* P18, *S. griseorubens* BC3, *S. griseorubens* BC10, dan *Nocardiopsis alba* BC11 yang diintroduksi pada benih gandum dapat meningkatkan pertumbuhan bibit gandum, seperti panjang akar dengan persentase berkisar 1,75–23,84%, tinggi bibit berkisar 8,92–23,56%, volume akar berkisar 41,57–71,46%, berat kering akar berkisar 46,89–162,41%, dan berat kering bibit berkisar 2,56–65,68%. Hal ini disebabkan karena isolat tersebut mampu menghasilkan fitohormon IAA dengan konsentrasi 2,75 dan 128,44 mg/L (Boubekri *et al.,* 2021). Fitohormon IAA merupakan salah satu hormon auksin yang berperan penting dalam proses fisiologis tanaman seperti pemanjangan sel, diferensiasi jaringan, pembentukan akar, pembentukan rambut akar, pembentukan akar lateral, buah, dan daun, serta mengoptimalkan proses fotosintesis pada daun tanaman (Abdul-Karim *et al.,* 2025; Gonzales *et al.,* 2023).

S. bullii strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H mampu melarutkan fosfat dengan diameter pelarut fosfat yang luas, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi bawang merah (Tabel 7 dan 10). Hal ini sesuai dengan Lalithesh *et al.* (2024), menyatakan *Streptomyces* sp. dan *S. fumigatiscleroticus* mampu melarutkan fosfat yang dapat meningkatkan jumlah polong, jumlah biji per polong, dan bobot polong pada tanaman kacang cowpea. Introduksi aktinobakteria pada benih jagung dapat meningkatkan perkecambahan benih jagung, karena isolat tersebut mampu melarutkan fosfat dengan diameter pelarut fosfat berkisar 2,12-2,48 mm (Saho *et al.,* 2024). Beberapa genus aktinobakteria yaitu *Streptomyces* dan *Nocardiopsis* (Soumare *et al.,* 2021); *Dermococus* dan *Actinobacter* (Rangseekaew *et al.,* 2021); memiliki kemampuan yang sama dalam melarutkan fosfat. Fosfat merupakan senyawa yang dibutuhkan oleh tanaman sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan tanaman. Namun, fosfat yang terdapat di dalam tanah umumnya tidak dapat diserap optimal oleh perakaran

tanaman karena terikat dengan senyawa kimia yang tidak larut seperti senyawa kalsium fosfat ($Ca_3(PO_4)_2$). Sehingga, aktinobakteria filosfer indigenos berperan penting dalam melarutkan fosfat yang terikat agar dapat diserap optimal oleh perakaran tanaman, seperti senyawa ion fosfat (PO_4^{3-}). Senyawa tersebut dapat dilarutkan di dalam tanah oleh aktinobakteria filosfer indigenos dengan melepaskan ikatan asam organik seperti asam sitrat ($C_6H_8O_7$) dan asam glukonat ($C_6H_{12}O_7$).

Selain itu, *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi bawang merah dengan memfiksasi nitrogen yang ditandai kemampuan isolat tersebut untuk tumbuh pada medium AMA (Tabel 7 dan 10). Hal ini sesuai dengan Kumar *et al.* (2025), menyatakan aktinobakteria mampu memfiksasi nitrogen. *Actinobacteria bacterium* dan *Streptomyces* sp. mampu memfiksasi nitrogen dengan konsentrasi 22,87-24,71 mg N g^{-1}, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman lada hitam (Alungal *et al.,* 2021). *Frankia colletiae* sp. nov., mampu memfiksasi nitrogen (Nouioui *et al.,* 2023). *Streptomyces* sp. strain 2GM57 yang diisolasi dari tanaman kamelia (*Camellia oleifera*) berperan sebagai PGPA mampu meningkatkan pertumbuhan bibit kamelia dengan memfiksasi nitrogen (Xu *et al.,* 2021). Mekanisme fiksasi nitrogen yaitu dengan mengubah senyawa nitrogen bebas (N_2) menjadi senyawa amonia (NH_3), nitrat (NO_3^-), dan nitrit (NO_2^-) dengan enzim nitrogenase, sehingga senyawa yang terbentuk dapat dimanfaatkan dengan optimal oleh tanaman sebagai salah satu senyawa penyusun protoplasma, klorofil, asam nukleat, dan asam amino (Obaid *et al.,* 2025).

Kemampuan *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H sebagai agens biokontrol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* melalui mekanisme langsung dengan kriteria penghambatan Tinggi (Tabel 8). Hal ini sesuai dengan Dornelas *et al.* (2023), menyatakan bahwa kriteria penghambatan dikaregorikan menjadi 4 kriteria yaitu diameter 0,00 termasuk kategori tidak ada, diameter 7,00-10,00 termasuk kategori rendah, diameter 11,00-14,00 termasuk kategori sedang, dan diameter >14,00 termasuk kategori tinggi. Kemampuan aktinobakteria filosfer indigenos tersebut dalam menghambat

pertumbuhan bakteri *P. ananatis* karena memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim hidrolitik dan senyawa biokontrol seperti menghasilkan enzim protease dan amilase, serta menghasilkan HCN. Hal ini sesuai dengan Izhar *et al.* (2024), menyatakan aktinobakteria dapat berperan sebagai agens biokontrol dengan menghasilkan enzim hidrolitik. He *et al.* (2025) menyatakan *S. shaowuensis* strain HSW2009 mampu menekan pertumbuhan bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan menghasilkan antibiotik *Piericidin* A1. *S. luteogriseus* menghasilkan enzim protease dan siderofor sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* dengan diameter zona hambat 19,98 mm (Yanti *et al.,* 2024). *Streptomyces* sp. strain UT4A49, UT5A53, UT5A54, UT4A43, dan UT5A56 yang diisolasi dari rhizosfer tanaman tomat mampu menekan pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* dengan diameter zona hambat sebesar 12.50-19.83 mm karena menghasilkan siderofor, enzim amilase, enzim protease, dan enizim selulose (Kaari *et al.,* 2022). *Streptomyces* spp. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan diameter zona hambat sebesar 2.00-25.00 mm dengan menghasilkan siderofor, HCN, dan enzim kitinase (Hastuti *et al.,* 2012).

S. bullii strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H mampu menghasilkan enzim protease dengan diameter yang tinggi (Tabel 9), sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis*. Hal ini sesuai dengan Fadil *et al.* (2023), menyatakan *Streptomyces* spp. dari rhizosfer padi menghasilkan enzim protease yang mampu menekan pertumbuhan bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* secara langsung dengan indeks daya hambat sebesar 29,66%. *Streptomyces* sp. mampu mendegradasi protein pada dinding sel nematoda *Meloidogyne javanica* dengan menghasilkan enzim protease, sehingga mengurangi jumlah telur dan mengurangi kemampuan penetrasi nematoda ke akar tanaman tomat (Mogollón-Ortiz *et al.,* 2025). Enzim protease yang dimanfaatkan sebagai enzim pendegradasi kandungan protein yang terdapat pada dinding sel bakteri *P. ananatis*, sehingga aktinobakteria filosfer indigenos mampu menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* dengan mekanisme secara langsung. Hal ini sesuai dengan Isobe *et al.* (2025), menyatakan dinding sel bakteri *P. ananatis* disusun oleh

membran yang terdiri dari lipoprotein, *Lipopolysaccharide* (LPS) dan *Extracellular Polysaccharides* (EPS) (Shin *et al.,* 2019).

Kemampuan *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* karena mampu menghasilkan enzim amilase yang berperan sebagai enzim pendegradasi amilum (Tabel 9), sehingga kandungan amilum dapat didegradasi menjadi senyawa yang sederhana. Hal ini sesuai dengan Le *et al.* (2022) menyatakan *Streptomyces* sp. strain AN090126 mampu menghasilkan enzim amilase yang dapat menekan pertumbuhan bakteri *Xanthomonas euvesicatoria*. Menurut Ahmeda & Patgiri, (2025) menyatakan kandungan amilum pada dinding sel bakteri patogen dapat dihidrolisis oleh aktinobakteria yang dianalisis secara kualitatif pada medium spesifik pendegradasi amilum yaitu medium MRSA. Selain itu, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F mampu menghasilkan HCN yang toksik terhadap bakteri *P. ananatis* (Tabel 9), sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis*. Hal ini sesuai dengan Jain *et al.* (2021), menyatakan senyawa HCN yang dihasilkan oleh aktinobakteria dapat menghambat sistem transpor respirasi patogen, sehingga dapat menghambat pertumbuhan patogen. Aktinobakteria yang berasal dari genus *Arthrobacter* dan *Streptomyces* mampu menghasilkan HCN (Shanti *et al.,* 2021). Selain itu, aktinobakteria dari akar tanaman rimbang (*Solanum nigrum*) mampu mengendalikan penyakit busuk akar dan rebah kecambah oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* pada tanaman tomat dengan menghasilkan senyawa HCN (Hazarika *et al.,* 2020).

Lima isolat aktinobakteria filosfer indigenos yang terseleksi telah diidentifikasi secara molekuler dengan primer spesifik ActF dan ActR dan diperoleh spesies yang beragam (Tabel 11). *S. bullii* strain NLLP2H mirip dengan *S. bullii* strain BLH7-1 dengan indeks kemiripan 100,00%, *A. bacterium* strain NLLA3F mirip dengan *A. bacterium* strain BYF-87 dengan indeks kemiripan 99,77%, *S. seoulensis* strain NBSP3A mirip dengan *S. seoulensis* strain HBUM174820 dengan indeks kemiripan 100,00%, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F mirip dengan *S. xiangtanensis* strain f38 dengan indeks kemiripan 100,00%, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H mirip dengan *K. kepongensis* strain SU113 dengan indeks kemiripan 100,00%.

Karakteristik morfologi *Streptomyces bullii* strain NLLP2H memiliki koloni berbentuk circular dengan elevasi berbentuk convex, miselium aerial dan substrat berwarna abu-abu, serta memiliki spora berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai. *Actinomycetes bacterium* strain NLLA3F memiliki koloni berbentuk circular dengan elevasi berbentuk convex, miselium aerial berwarna hijau tua, miselium substrat berwarna kuning, dan memiliki spora berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai. *Streptomyces seouloensis* strain NBSP3A memiliki koloni berbentuk circular, dengan elevasi berbentuk flat, miselium aerial dan substrat berwarna abu-abu, dan memiliki spora berbentuk bulat. *Streptomyces xiangtanensis* strain NBSP3F memiliki koloni berbentuk circular dengan elevasi berbentuk flat, miselium aerial berwarna hijau tua, miselium substrat berwarna kuning, dan memiliki spora berbentuk bulat. *Kitasatospora kepongensis* strain NBSP2H memiliki koloni berbentuk filamentous dengan elevasi berbentuk umbonate, miselium aerial berwarna cokelat, miselium substrat berwarna merah, dan memiliki spora berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai (Lampiran 9).

Keberhasilan *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H sebagai agens biokontrol dan biofertilizer masih terbatas. Menurut Santhanam *et al.* (2013), *S. bullii* dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa Methylpseurotin yang berperan sebagai senyawa biokontrol untuk menekan pertumbuhan patogen tanaman. Kemampuan *S. bullii* dalam mengendalikan patogen tanaman masih sangat terbatas. Menurut Suryaminasih *et al.* (2025), *Streptomyces* spp. yang diintroduksi pada benih cabai dapat menekan perkembangan penyakit layu bakteri oleh *Ralstonia solanacearum* dan meningkatkan pertumbuhan tinggi serta jumlah daun tanaman cabai. *Streptomyces* sp. strain JCK-8055 yang diisolasi dari perakaran tanaman cabai dapat berperan sebagai agens biokontrol penyakit hawar api pada tanaman apel oleh bakteri *Erwinia amylovora* dan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat oleh *Ralstonia solanacearum* dengan menghasilkan senyawa toksin berupa aureothricin dan thiolutin serta enzim hidrolitik berupa enzim protease, gelatinase, dan selulose yang berpengaruh antagonis terhadap patogen. Selain itu, *Streptomyces* sp. strain JCK-8055 dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen melalui jalur

sinyal asam salisilat dan asam jasmonat, sehingga dapat menekan perkembangan penyakit tanaman (Nguyen *et al.,* 2024).

A. bacterium strain NLLA3F berperan sebagai agens biokontrol dan biofertilizer. Menurut Zailan *et al.* (2024), Actinomycetes yang diisolasi dari tanah dapat berperan sebagai agens biokontrol dengan menghambat pertumbuhan jamur *Magnaporthe oryzae* sebesar 62,84-90,00% dan *Fusarium solani* sebesar 64,86-85,63%. Actinomycetes yang diisolasi dari rhizosfer tanaman nanas menghambat pertumbuhan bakteri *Dickea zeae* dengan diameter zona hambat sebesar 1,50-8,50 mm (Hussin *et al.,* 2024).

S. seoulensis strain NBSP3A dapat mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan produksi bawang merah, dan menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer. Menurut Yanti *et al.* (2023), *S. seoulensis* strain CB22 yang diisolasi dari rhizosfer tanaman bawang merah menghasilkan enzim kitinolitik sebesar 1,98 mm, sehingga mampu menghambat pertumbuhan jamur *Alternaria porrii* dengan indeks zona hambat 19,05%. Selain itu, *S. seoulensis* strain CB22 mampu memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat dengan indeks fosfat 1,01 mm, dan menghasilkan hormon IAA dengan konsentrasi 54,29 *ppm*. *S. seoulensis* strain Lac-19 yang diisolasi dari rhizosfer tanaman karet menghambat pertumbuhan jamur *Rigidoporus microporus* sebesar 80,20% dan menghambat perkembangan penyakit jamur akar putih pada tanaman karet sebesar 80,00%, karena menghasilkan siderofor, enzim katalase, selulose, dan kitinase (Chaiharn *et al.,* 2019).

K. kepongensis strain NBSP2H dapat mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan produksi bawang merah, dan menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer. Menurut Shi *et al.* (2013), *K. kepongensis* merupakan spesies baru aktinobakteria yang diisolasi dari tanah hutan dipterocarpeae di Kepong, Kuala Lumpur, yang mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa *Kitasatodine* dan *Kitasatopenoid* serta senyawa *Cycloheximide. Kitasatospora* sp. strain SOL 195 mampu berperan sebagai agens biokontrol dengan menurunkan severitas penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum* sebesar 90,00%, karena menghasilkan siderofor, amonia, *zink oxide*, dan *zink sulfate*. Selain itu, *Kitasatospora* sp. strain SOL 195 mampu berperan sebagai *Plant Growth Promoting Actinobacteria* (PGPA) pada tanaman tomat dengan menghasilkan

hormon IAA dan melarutkan fosfat, sehingga dapat meningkatkan tinggi tanaman, diameter batang, panjang akar, jumlah cabang, diameter daun, berat segar dan kering akar (Fonseca *et al.,* 2024). *K. putterlickiae* strain MBK05 dapat menghambat pertumbuhan miselium jamur *Fusarium solani* sebesar 85,70% dan menekan perkembangan penyakit busuk daun pada tanaman teh sebesar 71,42%, karena kemampuannya dalam menghasilkan enzim kitinase, enzim selulose, enzim protease, *β*-glukanase, produksi melanin, dan menghidrolisis pati. Selain itu, *K. putterlickiae* strain MBK05 mampu bertahan hidup pada cekaman abiotik seperti suhu 15-40 °C, pH 3,0-7,0, dan salinitas garam konsentrasi 0-8% (Babu *et al.,* 2022).

S. xiangtanensis strain NBSP3F dapat mengendalikan penyakit hawar daun bakteri, meningkatkan produksi bawang merah, dan menghasilkan senyawa biokontrol dan biofertilizer.. Menurut Mo *et al.* (2016), *S. xiangtanensis* strain LUSFXJ merupakan spesies baru dari genus *Streptomyces* yang telah diisolasi dari tanah terkontaminasi dengan logam berat mangan (Mn) di Kota Xiangtan, Provinsi Hunan, China oleh . Selanjutnya, *S. xiangtanensis* strain LUSFXJ mampu bertahan hidup pada cekaman abiotik seperti tumbuh pada suhu 10-38 °C, dengan pH 4,0-10,0, dan salinitas garam konsentrasi 0-3%. Selain itu, *S. xiangtanensis* strain LUSFXJ mampu menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S) yang bersifat racun terhadap patogen, menghasilkan enzim katalase, serta menghidrolisis pati dan esculin,

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H yang diisolasi dari permukaan daun tanaman bawang merah dapat berperan sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri dengan meningkatkan aktivitas enzim pertahanan POX, PPO, dan PAL, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah dengan menghasilkan senyawa biofertilizer seperti hormon IAA, pelarut fosfat, dan fiksasi nitrogen. Isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* dengan menghasilkan senyawa biokontrol seperti enzim protease, amilase, dan HCN.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

S. bullii strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H dapat mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dengan meningkatkan aktivitas enzim pertahanan POX, PPO, dan PAL, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan produksi bawang merah dengan menghasilkan senyawa biofertilizer seperti hormon IAA, pelarut fosfat, dan fiksasi nitrogen. Isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* dengan menghasilkan senyawa biokontrol seperti enzim protease, amilase, dan HCN.

1. *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H mampu mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dengan indeks penekanan penyakit berkisar 77,15-87,00%, mampu meningkatkan pertumbuhan tinggi tanaman berkisar 41,55-45,77cm, jumlah daun berkisar 48,66-74,55 helai, bobot segar umbi berkisar 111,24-150,55 g, dan bobot kering umbi bawang merah berkisar 109,48-147,24 g.
2. *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H mampu meningkatkan aktivitas enzim POX pada akar dengan persentase peningkatan yaitu berkisar 50,00-115,63% dan daun berkisar 36,00-80,56%, PPO pada akar berkisar 16,00-216,00% dan daun berkisar 56,00-136,00%, dan PAL pada akar berkisar 13,93-22,73%, dan daun berkisar 8,74-13,73%. Isolat tersebut mampu menekan pertumbuhan bakteri *P. ananatis* secara *in vitro* dengan diameter zona hambat berkisar 16,00-17,50 mm, menghasilkan enzim protease dengan diameter berkisar 1,03-1,22 mm, diameter enzim amilase berkisar 1,01-2,05 mm, dan menghasilkan HCN. Isolat tersebut mampu memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat dengan diameter berkisar 1,14-1,38 mm, dan IAA berkisar dengan konsentrasi berkisar 83,46-308,51 *ppm*.
3. Berdasarkan hasil identifikasi molekuler diperoleh spesies yang beragam yaitu *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan *S. bullii* strain NLLP2H, *A. bacterium* strain NLLA3F, *S. seoulensis* strain NBSP3A, *S. xiangtanensis* strain NBSP3F, dan *K. kepongensis* strain NBSP2H untuk mengendalikan patogen tanaman dengan metode aplikasi penyemprotan pada daun tanaman (*foliar sprayer*), seperti diaplikasikan dalam bentuk formulasi pada bahan organik padat dan cair, serta perlu dilakukan analisis senyawa kimia dengan metode analisis *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) dan *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS).

DAFTAR PUSTAKA

Abdul-Karim, E. & Hussein, H. (2024). The Role of Auxins in Interactive Relationships Between Plants and Pathogens. *Kirkuk University Journal for Agricultural Sciences*. *15*(4): 1–11.

Abo-Zaid, G. A., Matar, S. M. & Abdelkhalek, A. (2020). Induction of Plant Resistance Against Tobacco Mosaic Virus Using the Biocontrol Agent *Streptomyces* sp. *Cellulosae* Isolate Actino 48. *Agronomy*. *10*(11): 1–16.

Ahmeda, N. & Patgiri, S. R. (2025). Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Actinobacteria, *Amycolatopsis samaneae* (AM75), From the Rice Rhizosphere in Mirza Area, Assam, India. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. *25*(1): 1851–1858.

Akihary, C. V. & Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan Gen 16S rRNA Sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian-Penelitian di Indonesia. *Pharmacon*. *9*(1): 16–22.

Ali, A. & Rante, H. (2011). Karakterisasi Mikrobia Rizosfer Asal Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum triangulare*) Berdasarkan Gen Ribosomal 16S rRNA dan 18S rRNA. *Jurnal Biologi Papua*. *3*(2): 74–81.

Alungal, R. B., Girija, D., Gopal, K. S., Vijayaraghavan, R. & Nair Indirabai, B. V. (2021). Plant Growth Promoting Actinobacteria from Rhizosphere Soils of Black Pepper in Wayanad. *Computational Biology and Bioinformatics*. *9*(2): 31–38.

Amfar, F., Fitri, L. & Suhartono. (2021). Molecular Identification of a New Isolate of Actinobacteria Atis61 and Characterization of the Protease Activities. *Biodiversitas*. *22*(3): 1564–1569.

Angraeni, M., Handayani, T. T., Wahyuningsih, S. & Mahfut, M. (2021). Study of Orchid Resistance from *Ceratorhiza* Induction Against ORSV Infection Based on Chlorophyll Analysis. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. *5*(2): 61–68.

Arsadiarta, I. G. N. W., Wijana, G. & Gunadi, I. G. A. (2024). Growth Analysis of Differences in Shallot (*Allium ascalonicum* L.) Seedling Size. *Agro Bali: Agricultural Journal*. *7*(3): 886–895.

Asrul, A. (2020). Virulensi Beberapa Isolat *Pantoea ananatis* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri (Bacterial Leaf Blight) Pada Varietas Bawang Merah. *Agromix*. *11*(2): 136–150.

Asrul, A., & Umrah, U. (2019). Host Range *Pantoea ananatis* the Causal Agent of Bacterial Leaf Blight on *Allium* spp. *The Agricultural Sciences Journal*. *6*(1): 27–34.

Asrul, A., Hadisutrisno, B., Arwiyanto, T., & Widada, J. (2014). Peranan Faktor Lingkungan Terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Pantoea ananatis*) Pada Tanaman Bawang Merah. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia (PFI) Komda Yogyakarta, Solo, dan Semarang*. *20*(1): 15–25.

Babu, A., Pandey, A. K., Deka, B., Kumhar, K. C., Sarkar, S., Bordoloi, M., & Mani, S. (2022). Molecular Characterization and Functional Properties of Deep-Soil-Inhabiting Actinobacteria for Combating Fusarium Dieback Disease in Tea Crop. *Biological Control*. *174*(1): 105027.

Babu, P. M., Panda, N., Nayak, R. K., Sethi, D., Biswal, S., Mishra, M. K., & Pattanayak, S. K. (2025). Isolation, Characterization and Screening of Phosphate (P) Solubilizing Actinomycetes and Exploring Its Potency in Finger Millet (*Eleusine coracana* L.). *BMC Plant Biology*. *25*(1): 362.

Badan Karantina Pertanian. (2022). *Buku Saku Pemantauan Daerah Sebar OPTK TA 2022*. Kementerian Pertanian Republik Indonesia/Badan Karantina Pertanian. Tersedia online pada: https://repository.pertanian.go.id (diakses pada 29 Juli 2025).

Badan Pusat Statistik. (2024). *Statistik Indonesia*. Tersedia online pada: https://www.bps.go.id/indicator/55/61/1/produksi-tanaman-sayuran.html (diakses pada 23 Juli 2024 pukul 21:00 WIB).

Barchia, F., & Inoriah, E. (2021). Vermicompost and Biourine Doses Effect on Soil pH, Shallot Growth, and Yield in Ultisol. *American Journal of Multidisciplinary Research & Development (AJMRD)*. *3*(09): 44–53.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. *80*(4): 1–43.

Bindushree, C., Shivaprakash, M. K., & Naik, L. K. (2023). Effect of Actinobacteria on Defence Enzymes Production in Color Capsicum. *Mysore Journal of Agricultural Sciences*. *57*(3): 112–120.

Black, L., Conn, K., Gabor, B., Kao, J., & Lutton, J. (2012). *Onion Disease Guide*. Seminis, 71 halaman. Tersedia secara online pada website sebagai berikut: http://www.seminis.com/sitecollectiondocuments/onion-disease-guide.pdf.

Bomfeti, C. A., Meirelles, W. F., Souza-Paccola, E. A., Casela, C. R., Ferreira, A. D. S., Marriel, I. E., & Paccola-Meirelles, L. D. (2007). Evaluation of Commercial Chemicals, In Vitro and In Vivo, in the Control of Foliar Disease, By *Pantoea ananatis*. *Summa Phytopathologica*. *33*(1): 63–67.

Boubekri, K., Soumare, A., Mardad, I., Lyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., & Kouisni, L. (2021). The Screening of Potassium and Phosphate-Solubilizing Actinobacteria and the Assessment of Their Ability to Promote Wheat Growth Parameters. *Microorganisms*. *9*(3): 1–16.

Boubekri, K., Soumare, A., Mardad, I., Lyamlouli, K., Ouhdouch, Y., Hafidi, M., & Kouisni, L. (2022). Multifunctional Role of Actinobacteria in Agricultural Production Sustainability: A Review. *Microbiological Research*. *261*(1): 127059.

Boukhatem, Z. F., Merabet, C., & Tsaki, H. (2022). Plant Growth Promoting Actinobacteria, The Most Promising Candidates as Bioinoculants. *Frontiers in Agronomy*. *4*(1): 1–19.

Carr, E. A., Zaid, A. M., Bonasera, J. M., Lorbeer, J. W., & Beer, S. V. (2013). Infection Of Onion Leaves by *Pantoea ananatis* Leads to Bulb Infection. *Plant Disease*. *97*(12): 1524–1528.

Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI). (2021). Datasheet (Additional Resources) of *Allium ascalonicum* L. [Internet]. Diakses pada 09 Agustus 2024 Pukul 20:00 WIB.

Chaiharn, M., Sujada, N., Pathom-Aree, W., & Lumyong, S. (2019). Biological Control of *Rigidoporus microporus* the Cause of White Root Disease in Rubber Using PGPRs In Vivo. *Chiang Mai Journal of Science*. *46*(5): 850–866.

Chandel, R., Kamil, D., Kumar, A., Taak, Y., & Khar, A. (2024). Morpho-Cultural and Molecular Variability of *Stemphylium vesicarium* Causing Stemphylium Leaf Blight in Tropical Onions. *Heliyon*. *10*(20): e39107.

Chang, C. P., Sung, I. H., & Huang, C. J. (2018). *Pantoea dispersa* Causing Bulb Decay of Onion in Taiwan. *Australasian Plant Pathology*. *47*(6): 609–613.

Conn, E. K., Lutton, J. S., & Rosenberger, S. A. (2012). Onion Disease Guide. *Plant Health*. *72*(1): 1–71.

Coutinho, T. A., & Venter, S. N. (2009). *Pantoea ananatis*: An Unconventional Plant Pathogen. *Molecular Plant Pathology*. 10(3): 325–335.

De Armas, S., Galvan, G. A., Lapaz, M. I., Gonzalez-Barrios, P., Vicente, E., Pianzzola, M. J., & Siri, M. I. (2022). Phylogeny And Identification of *Pantoea* Species Associated with Bulb Rot and Bacterial Leaf Blight of Onion Crops in Uruguay. *Plant Disease*. *106*(4): 1216–1225.

Diabankana, R. G. C., Frolov, M., Islamov, B., Shulga, E., Filimonova, M. N., Afordoanyi, D. M., & Validov, S. (2024). Identification and Aggressiveness of *Fusarium* Species Associated with Onion Bulb (*Allium cepa* L.) During Storage. *Journal of Fungi*. *10*(2): 161.

Djebaili, R., Pellegrini, M., Ercole, C., Farda, B., Kitouni, M., & Del Gallo, M. (2021). Biocontrol Of Soil-Borne Pathogens of *Solanum lycopersicum* L. And *Daucus carota* L. By Plant Growth-Promoting Actinomycetes: In Vitro and In Planta Antagonistic Activity. *Pathogens*. *10*(10): 718.

Dornelas, J. C. M., Carmo, P. H. F., Lana, U. G. P., Lana, M. A. G., Paiva, C. A. O., & Marriel, I. E. (2023). Biocontrol Potential of Actinobacteria Against *Pantoea ananatis*, The Causal Agent of Maize White Spot Disease. *Brazilian Journal of Biology*. *83*(1): 1–11.

Durand, A., Maillard, F., Alvarez-Lopez, V., Guinchard, S., Bertheau, C., Valot, B., & Chalot, M. (2018). Bacterial Diversity Associated with Poplar Trees Grown on a Hg-Contaminated Site: Community Characterization and Isolation of Hg-Resistant Plant Growth-Promoting Bacteria. *Science of the Total Environment*. *622*(1): 1165–1177.

Dutta, B., Anderson, F., Smith, S., & Gitaitis, R. D. (2017). Epiphytic Survival of *Pantoea ananatis* on *Richardia scabra* L. in Georgia. *Plant Disease*. *101*(4): 613–618.

Dutta, B., Barman, A. K., Srinivasan, R., Avci, U., Ullman, D. E., Langston, D. B., & Gitaitis, R. D. (2014). Transmission Of *Pantoea ananatis* And *P. agglomerans*, Causal Agents of Center Rot of Onion (*Allium cepa* L.), by Onion Thrips (*Thrips tabaci*) Through Feces. *Phytopathology*. *104*(8): 812–819.

Ebrahimi-Zarandi, M., Saberi Riseh, R., & Tarkka, M. T. (2022). Actinobacteria As Effective Biocontrol Agents Plant Pathogens, An Overview on Their Role in Eliciting Plant Defense. *Microorganisms*. *10*(9): 1739.

Elsayed, H. H., Abdalla, N. A., & Amer, S. K. (2024). Actinobacteria As Alternative Agents for Sustainable Agriculture. *Egyptian Journal of Pure and Applied Science*. *62*(2): 52–64.

Faddetta, T., Polito, G., Abbate, L., Alibrandi, P., Zerbo, M., Caldiero, C., & Gallo, G. (2023). Bioactive Metabolite Survey of Actinobacteria Showing Plant Growth Promoting Traits to Develop Novel Biofertilizers. *Metabolites*. *13*(3): 374.

Fadil, M., Yanti, Y., & Khairul, U. (2023). Seleksi Aktinobakteria Indigenous Untuk Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) Serta Peningkatan Pertumbuhan Padi. *Jurnal AGROHITA: Jurnal Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Tapanuli Selatan*. *8*(1): 93–105.

Ferina, O. D., Nurjasmi, R., & Suryani, S. (2022). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antifungi Actinomycetes Hutan Pinus Gunung Bunder Bogor Jawa Barat Terhadap *Colletotrichum capsici*. *Jurnal Ilmiah Respati*. *13*(2): 102–115.

Fonseca, J. S. D., Sousa, T. F., Almeida, S. V. R. D., Silva, C. N., Castro, G. D. S., Yamagishi, M. E. B. & Silva, G. F. D. (2024). Amazonian Bacteria from River Sediments as a Biocontrol Solution Against *Ralstonia solanacearum*. *Microorganisms*. *12*(7): 1364.

Ghorbani-Nasrabadi, R., Greiner, R., Alikhani, A. H., Hamedi, J. & Yakhchali, B. (2013). Distribution of Actinomycetes in Different Soil Ecosystems and Effect of Media Composition on Extracellular Phosphatase Activity. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. *13*(1): 223–236.

Gitaitis, R. D., Walcott, R. R., Wells, M. L., Perez, J. D. & Sanders, F. H. (2003). Transmission of *Pantoea ananatis*, Causal Agent of Center Rot of Onion, by Tobacco Thrips, *Frankliniella fusca*. *Plant Disease*. *87*(6): 675–678.

González, F., Santander, C., Ruiz, A., Pérez, R., Moreira, J., Vidal, G., Aroca, R., Santos, C. & Cornejo, P. (2023). Inoculation with *Actinobacteria* spp. Isolated from a Hyper-Arid Environment Enhances Tolerance to Salinity in Lettuce Plants (*Lactuca sativa* L.). *Plants*. *12*(10).

Han, M., Wang, J., Lin, H., Yang, C., Zhang, J., Liu, J. & Xiao, N. (2025). Screening and Evaluation of Actinomycetes B-35 from Rhizosphere of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and Its Biocontrol and Growth-Promoting Effects. *Agronomy*. *15*(1): 102.

Harsonowati, W., Astuti, R. I. & Wahyudi, A. T. (2017). Leaf Blast Disease Reduction by Rice-Phyllosphere Actinomycetes Producing Bioactive Compounds. *Journal of General Plant Pathology*. *83*(2): 98–108.

Hastuti, R. D., Lestari, Y., Suwanto, A. & Saraswati, R. (2012). Endophytic *Streptomyces* spp. as Biocontrol Agents of Rice Bacterial Leaf Blight Pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *HAYATI Journal of Biosciences*. *19*(4): 155–162.

Hata, E. M., Yusof, M. T. & Zulperi, D. (2021). Induction of Systemic Resistance Against Bacterial Leaf Streak Disease and Growth Promotion in Rice Plant by *Streptomyces shenzhenesis* TKSC3 and *Streptomyces* sp. SS8. *The Plant Pathology Journal*. *37*(2): 173.

Hazarika, S. N. & Thakur, D. (2020). *Actinobacteria*. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*, 443–476. Academic Press.

He, Y. W., Law, J. W. F., Azad, S. M., Hu, W. D., Song, K., Chua, K. O. & Zhou, L. (2025). Identification and Genomic Analyses of a Novel Actinobacterium *Streptomyces shaowuensis* sp. nov. with Biocontrol Potential for Rice Bacterial Blight. *Phytopathology Research*. *7*(1): 24.

Herani, A., Anggorowati, D. & Gusmayanti, E. (2023). Respon Pertumbuhan dan Hasil Bawang Merah Terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh dan Pupuk NPK pada Media Gambut. *Jurnal Sains Pertanian Equator*. *12*(2): 237–244.

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK BANGSA

Holt, J., G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ed-9. Baltmore: Lippincott Williams and Wilkins.

Hosny, M., Asran, M., & Moharam, M. (2022). Biological Control of Potato Bacterial Wilt Disease Caused by *Ralstonia solanacearum* Using Actinomycetes Isolates. *Journal of Sohag Agriscience (JSAS). 7*(2): 47–59.

Huang, S., Zha, X., & Fu, G. (2023). Affecting Factors of Plant Phyllosphere Microbial Community and Their Responses to Climatic Warming-A Review. *Plants. 12*(16): 1–11.

Hussin, M., H., Asmadi, M., A., Ab Wahab, M., Z., Sapak, Z., & Noor, N., M. (2024). Screening Actinomycetes as Biological Control Agents Against the *Dickeya zeae*, Causal Agent of Bacterial Heart Rot of Pineapple. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 1397*(1): 012013.

Ilham, F., Prasetyo, T., B., & Prima, S. (2019). Pengaruh Pemberian Dolomit Terhadap Beberapa Sifat Kimia Tanah Gambut dan Pertumbuhan serta Hasil Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L). *Jurnal Solum. 16*(1): 29.

Ilsan, N., A. (2017). Antifungal Activity of Phyllosphere Actinobacteria Against *Pyricularia oryzae*. *2nd International Seminar on Global Health (ISGH).* 264–277.

Iskandar, M., F. (2024). Eksplorasi Aktinobakteria Filosfer Indigenos sebagai Agens Biokontrol Penyakit Hawar Daun Bakteri oleh *Pantoea ananatis* pada Tanaman Bawang Merah. *Skripsi*. Pertanian Universitas Andalas. Padang.

Isobe, Y., Ueda, K., Kanatsu, L., Fukui, K., Hara, Y., Takikawa, Y., & Oshima, K. (2025). UDP-galacturonic Acid 4-epimerase is Required for LPS Biosynthesis, Drug Resistance, Motility, and Virulence in *Pantoea ananatis*, a Causal Agent of Center Rot Disease of Onion. *Journal of General Plant Pathology. 91*(1): 1–12.

Izhar, S., K., Rizvi, S., F., Afaq, U., & Siddiqui, S. (2024). Potential and Applications of Actinobacteria in Agricultural Biocontrol Management. *Science and Innovation. 3*(45): 20–23.

Jain, S., Gupta, I., Walia, P., & Swami, S. (2022). Application of Actinobacteria in Agriculture, Nanotechnology, and Bioremediation. In *Actinobacteria – Diversity, Applications and Medical Aspects.* 151.

Kaari, M., Joseph, J., Manikkam, R., Sreenivasan, A., & Venugopal, G. (2022). Biological Control of *Streptomyces* sp. UT4A49 to Suppress Tomato Bacterial Wilt Disease and its Metabolite Profiling. *Journal of King Saud University – Science. 34*(1): 101688.

Kaari, M., Manikkam, R., Annamalai, K., K., & Joseph, J. (2023). Actinobacteria as a Source of Biofertilizer/Biocontrol Agents for Bio-Organic Agriculture. *Journal of Applied Microbiology. 134*(2): 1–16.

Kawuri, R., Suprapta, D., N., & Nitta, Y. (2018). Antagonistic Activity of *Streptomyces thermocarboxydus* to *Fusarium oxysporum*. The Cause of Leaf Rot Disease on *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Mill.) in Bali, Indonesia. *Malaysian Journal of Microbiology. 14*(1): 10–15.

Kowalska, B., & Smolinska, U. (2015). Soil Incorporation of Cruciferous Plant Residues as a Control Strategy for *Pantoea ananatis* Colonization of Onion Seedlings. *Journal of Plant Pathology. 97*(2): 235–242.

Krismiratsih, F., Fibriani, S., Ni'mah, K., & Pristiwaningsih, E., R. (2025). Growth and Production of Shallots (*Allium cepa* L.) at Various Volumes and Watering Intervals: Case Study in Nganjuk District. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 1446*(1): 012019.

Kumar, N., Kaur, B., Sharma, D., Korpole, S., Shukla, S., Bhardwaj, P., & Saxena, S. (2025). Impact of Altitudinal Variations on Plant Growth Dynamics, Nutritional Composition, and Free Living Rhizospheric N2 Fixing Bacterial Community of *Eruca sativa*. *Scientific Reports. 15*(1): 13839.

Kumar, S., Diksha, Sindhu, S., S., Kumar, R., Kumari, A., & Panwar, A. (2023). Harnessing Phyllosphere Microbiome for Improving Soil Fertility, Crop Production, and Environmental Sustainability. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 23*(4): 4719–4764.

Kwon, J., H., Kang, B., Moon, J., S., Choi, O., Lee, Y., & Kim, J. (2021). First Report of Rust on Onion Caused by *Puccinia allii* in Korea. *Canadian Journal of Plant Pathology. 43*(2): S347–S351.

Lalithesh, N., N., Devaki, G., Gopal, K., S., Vijayaraghavan, R., & Unnikrishnan, B. (2024). Exploring the Potential of Actinobacteria as Plant Growth Promoters in Cowpea.

Law, J., W., F., Tan, K., X., Wong, S., H., Ab Mutalib, N., S., & Lee, L., H. (2018). Taxonomic and Characterization Methods of *Streptomyces*: a Review. *Progress in Microbes & Molecular Biology. 1*(1): a00009.

Le, K., D., Yu, N., H., Park, A., R., Park, D., J., Kim, C., J., & Kim, J., C. (2022). *Streptomyces* sp. AN090126 as a Biocontrol Agent Against Bacterial and Fungal Plant Diseases. *Microorganisms. 10*(4): 791.

Lee, S., M., Kong, H., G., Song, G., C., & Ryu, C., M. (2021). Disruption of Firmicutes and Actinobacteria Abundance in Tomato Rhizosphere Causes the Incidence of Bacterial Wilt Disease. *The ISME Journal. 15*(1): 330–347.

Li, Y., Guo, Q., Li, Y., Sun, Y., Xue, Q., & Lai, H. (2019). *Streptomyces pactum* Act12 Controls Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease and Alters Rhizosphere Microbial Communities. *Biology and Fertility of Soils*. *55*(2): 149–169.

Lin, L., & Xu, X. (2013). Indole-3-Acetic Acid Production by Endophytic *Streptomyces* sp. En-1 Isolated from Medicinal Plants. *Current Microbiology. 67*(2): 209–217.

Maibeche, R., Boucherba, N., Bendjeddou, K., Prins, A., Bouiche, C., Hamma, S., & Le Roes-Hill, M. (2022). Peroxidase-Producing Actinobacteria from Algerian Environments and Insights from the Genome Sequence of Peroxidase-Producing *Streptomyces* sp. S19. *International Microbiology*. *25*(2): 379–396.

Marianah, L., Nawangsih, A. A., Munif, A., & Tondok, E. T. (2025). Endophytic Actinomycetes of Liliaceae Plants as Biocontrol Agents of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* Causes of Basal Plate Rot Disease on Shallots. *HAYATI Journal of Biosciences*. *32*(1): 241–253.

Meena, K. K., Sorty, A. M., Bitla, U., Shinde, A. L., Kumar, S., Wakchaure, G. C., Kumar, S., Kanwat, M., & Singh, D. P. (2023). Stress-Responsive Gene Regulation Conferring Salinity Tolerance in Wheat Inoculated with ACC Deaminase Producing Facultative Methylotrophic Actinobacterium. *Frontiers in Plant Science*. *14*: 1–11.

Messaoudi, O., Wink, J., & Bendahou, M. (2020). Diversity of Actinobacteria Isolated from Date Palms Rhizosphere and Saline Environments: Isolation, Identification and Biological Activity Evaluation. *Microorganisms*. *8*(12): 1–19.

Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Senapati, A., Radha, T. K., Mahakur, B., & Mohapatra, P. K. D. (2022). Actinobacteria-enhanced Plant Growth, Nutrient Acquisition, and Crop Protection: Advances in Soil, Plant, and Microbial Multifactorial Interactions. *Pedosphere*. *32*(1): 149–170.

Mo, P., Yu, Y. Z., Zhao, J. R., & Gao, J. (2017). *Streptomyces xiangtanensis* sp. nov., Isolated from a Manganese Contaminated Soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*. *110*: 297–304.

Mogollón-Ortiz, Á. M., Monteiro, T. S. A., de Freitas, L. G., & de Queiroz, M. V. (2024). Potential of Different Species of Actinobacteria in the Management of *Meloidogyne javanica*. *Archives of Microbiology*. *206*(4): 160.

Mondal, S., Acharya, U., Mukherjee, T., Bhattacharya, D., Ghosh, A., & Ghosh, A. (2024). Exploring the Dynamics of ISR Signaling in Maize Upon Seed Priming with Plant Growth Promoting Actinobacteria Isolated from Tea Rhizosphere of Darjeeling. *Archives of Microbiology*. *206*(6): 282.

Murti, A. C., Al Machfudz, W. D. P., Prihatiningrum, A. E., & Arifin, S. (2022). Effect of Planting Distance and Bulb Size on Growth and Production of Shallots (*Allium ascalonicum* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. *1104*(1): 012002.

Muthaiah, K., Pandav, A. K., Sriram, S. & Tr, U. (2021). Identification of Elite Genotypes of Onion Against Purple Blotch Disease. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. *9*(2): 966–970.

Myers, B. K., Shin, G. Y., Agarwal, G., Stice, S. P., Gitaitis, R. D., Kvitko, B. H. & Dutta, B. (2023). Genome-Wide Association and Dissociation Studies in *Pantoea ananatis* Reveal Potential Virulence Factors Affecting *Allium porrum* and *Allium fistulosum* × *Allium cepa* Hybrid. *Frontiers in Microbiology*. *13*: 1–24.

Natesan, K., Park, J. Y., Kim, C. W., Park, D. S., Kwon, Y. S., Back, C. G. & Cho, H. (2020). High-Quality Genome Assembly of *Peronospora destructor*, the Causal Agent of Onion Downy Mildew. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. *33*(5): 718–720.

Nga, N. T. T., Tran, T. N., Holtappels, D., Kim Ngan, N. Le, Hao, N. P., Vallino, M., Tien, D. T. K., Khanh-Pham, N. H., Lavigne, R., Kamei, K., Wagemans, J. & Jones, J. B. (2021). Phage Biocontrol of Bacterial Leaf Blight Disease on Welsh Onion Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. *Antibiotics*. *10*(5): 1–14.

Nguyen, L. T. T., Park, A. R., Van Le, V., Hwang, I. & Kim, J. C. (2024). Exploration of a Multifunctional Biocontrol Agent *Streptomyces* sp. JCK-8055 for the Management of Apple Fire Blight. *Applied Microbiology and Biotechnology*. *108*(1): 49.

Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia. Biological Science and Education Journal*. *1*(1): 1–6.

Nouioui, I., Ghodhbane-Gtari, F., Jando, M., Klenk, H. P. & Gtari, M. (2023). *Frankia colletiae* sp. nov., a Nitrogen-Fixing Actinobacterium Isolated from *Colletia cruciata*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. *73*(1): 005656.

Nurjanah, N., Joko, T. & Subandiyah, S. (2018). Characterization of *Pantoea ananatis* Isolated from Garlic and Shallot. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. *21*(2): 120.

Obaid, W. A., Madany, M. M., Waznah, M. S., Sonbol, H., Aloufi, A. S., Korany, S. M. & Abdelgawad, H. (2025). Modulation of Plant Carbon and Nitrogen Metabolism by Novel Actinobacteria *Rhodospirillum* sp. to Combat Galaxolide Toxicity in Barley and Maize Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. *220*: 109403.

Ozakın, S., Taşkın, B. & Bostancı, E. İ. (2021). Identification and Antimicrobial Activity of Actinobacteria Isolated from Rhizosphere of the Local Endemic Plants. *Journal of Agricultural Sciences*. *31*(4): 876–885.

Pandey, P., Kushwaha, K. P. S., Upadhyay, V. & Purohit, J. (2024). Synergistic Effect of Plant Defense Elicitors and Biocontrol Agents on Induction of Defense Enzymes in Pea against Downy Mildew. *Indian Journal of Agricultural Research*. *58*(1): 157–163.

Peng, S., Duan, C., Liu, Q., Wang, Q., Dai, Y., Hao, L. & Li, K. (2025). Biocontrol Potential of *Streptomyces* sp. N2 Against Green and Blue Mold Disease in Postharvest Navel Orange and the Action Mechanism. *Food Microbiology*. *125*: 104658.

Perez-Corral, D. A., de Jesús Ornelas-Paz, J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. Á., Berlanga-Reyes, D. I., Ruiz-Cisneros, M. F. & Rios-Velasco, C. (2022). Molecular, Morphological and Biochemical Characterization of Actinomycetes and Their Antagonistic Activity Against Phytopathogenic Fungi. *Revista Fitotecnia Mexicana*. *45*(1): 103–115.

Polidore, A. L. A., Furiassi, L., Hergenrother, P. J. & Metcalf, W. W. (2021). A Phosphonate Natural Product Made by *Pantoea ananatis* is Necessary and Sufficient for the Hallmark Lesions of Onion Center Rot. *MBio*. *12*(1): 1–18.

Poursakhi, S., Asadi-Gharneh, H. A., Nasr-Esfahani, M., Abbasi, Z. & Khankahdani, H. H. (2025). Defense-related Enzymes Associated with Resistance to Onion Fusarium Basal Rot. *Plant Physiology and Biochemistry*. *219*: 109326.

Querejeta, G. A., Rossi, L., Monroy, A. M., Iustman, L. J. R. & Vullo, D. L. (2022). Screening of Indigenous Microorganisms as Potential Biofertilisers for Periurban Horticulture Areas. *Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems*. *10*(1): 1–14.

Rangseekaew, P., Barros-Rodríguez, A., Pathom-Aree, W. & Manzanera, M. (2021). Deep-sea Actinobacteria Mitigate Salinity Stress in Tomato Seedlings and Their Biosafety Testing. *Plants*. *10*(8): 1687.

Renuka, R., Prabakar, K., Anandham, R., Pugalendhi, L., Rajendran, L., Raguchander, T. & Karthikeyan, G. (2023). Exploring the Potentiality of Native Actinobacteria to Combat the Chilli Fruit Rot Pathogens under Post-Harvest Pathosystem. *Life*. *13*(2).

Roopa, K. P. & Gadag, A. S. (2019). Management of Soil-Borne Diseases of Plants Trough Some Cultural Practices and Actinobacteria. *Department of Biotechnology, University of Agricultural Sciences, Dharwad, Karnataka, India*. *7*: 129–145.

Rosahdi, T. D., Tafiani, N. & Hafsari, A. R. (2018). Identifikasi Spesies Isolat Bakteri K2Br5 dari Tanah Karst dengan Sistem Kekerabatan Melalui Analisis Urutan Nukleotida Gen 16S rRNA. *Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*. *5*(2): 84–88.

Rovicky, A., Widowati, W. & Astutik, A. (2024). Pest and Disease Control Strategies to Increase the Productivity of Shallot Plants (*Allium ascalonium* L.). *Riwayat: Educational Journal of History and Humanities*. *7*(3): 1253–1260.

Saho, A., Karikás, V., Ásványi, B., Lakatos, E., Varga, L. & Greff, B. (2024). Bioactive Potential of Actinobacteria Strains Isolated from the Rhizosphere of Lavender, Lemon Balm, and Oregano. *Agriculture*. *14*(10): 1758.

Saidi, S., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Silini, A., Eshelli, M., Luptakova, L., Alenezi, F. N. & Belbahri, L. (2021). Improvement of *Medicago sativa* Crops Productivity by the Co-inoculation of *Sinorhizobium meliloti*–Actinobacteria Under Salt Stress. *Current Microbiology*. *78*(4): 1344–1357.

Salam, N., Jiao, J. Y., Zhang, X. T. & Li, W. J. (2020). Update on the Classification of Higher Ranks in the Phylum Actinobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. *70*(2): 1331–1355.

Santhanam, R., Rong, X., Huang, Y., Andrews, B. A., Asenjo, J. A. & Goodfellow, M. (2013). *Streptomyces bullii* sp. nov., Isolated from a Hyper-Arid Atacama Desert Soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*. *103*: 367–373.

Sarvepalli, M., Velidandi, A., Ramachandravarapu, A. K., & Korrapati, N. (2024). Marine Actinomycetes Siderophores: Types, High Throughput Characterization Techniques, Applications, and Their Association with Nanotechnology: A Comprehensive Review. *NanoWorld Journal*, *10*(1), 1-21.

Sathiyabama, M., Kannan, V. R. & Bastas, K. K. (2015). Role of Defense Enzymes in the Control of Plant Pathogenic Bacteria. *Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria*. CRC Press, New York. *7*: 311–322.

Sathya, A., Vijayabharathi, R. & Gopalakrishnan, S. (2017). Plant Growth-Promoting Actinobacteria: a New Strategy for Enhancing Sustainable Production and Protection of Grain Legumes. *Biotech*. *7*: 1–10.

Schaad, N. W., Jones, J. B. & Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria* (Ed. 3). *American Phytopathological Society (APS) Press*. St. Paul. 373 pp.

Schwartz, H. F., Otto, K. L. & Gent, D. H. (2003). Relation of Temperature and Rainfall to Development of *Xanthomonas* and *Pantoea* Leaf Blights of Onion in Colorado. *Plant Disease*. *87*(1): 11–14.

Sharifi, M. & Bipinraj, N. K. (2019). Isolation and Identification of Actinomycetes with Anticandida Activity from Mangrove Soil. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. *16*(3): 611–615.

Shi, N., Lu, C., Ho, C. C. & Shen, Y. (2013). Kitasatodine and Kitasatopenoid from *Kitasatospora* sp. H6549, a New Strain from Malaysia. *Records of Natural Products*. *7*(1): 1.

Shin, G. Y., Schachterle, J. K., Shyntum, D. Y., Moleleki, L. N., Coutinho, T. A., & Sundin, G. W. (2019). Functional Characterization of a Global Virulence Regulator Hfq and Identification of Hfq-Dependent sRNAs in the Plant Pathogen *Pantoea ananatis*. *Frontiers in Microbiology*, 10(2075), 1-19.

Silva, G. da C., Kitano, I. T., Ribeiro, I. A. de F., & Lacava, P. T. (2022). The Potential Use of Actinomycetes as Microbial Inoculants and Biopesticides in Agriculture. *Frontiers in Soil Science*, *2*(2), 1–20.

Siswanto, N., Bintoro, N., Karyadi, J. N. W., & Rahayoe, S. (2022). Effect of Postharvest Handling of Shallots in Supporting the Sustainability of the Availability of Shallot Seeds. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1059, No. 1, p. 012072). IOP Publishing.

Soumare, A., Boubekri, K., Lyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., & Kouisni, L. (2021). Efficacy of Phosphate Solubilizing Actinobacteria to Improve Rock Phosphate Agronomic Effectiveness and Plant Growth Promotion. *Rhizosphere*, *17*, 100284.

Suryaminarsih, P., Saadah, F. L., Prasetyawati, E. T., & Farida, N. (2025). Effectiveness of *Streptomyces* spp. as Biological Control Agents of Bacterial Wilt (*Ralstonia* sp.) in Chili Pepper. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1494*(1): 012032. IOP Publishing.

Sutriana, S., Ulpah, S., & Nur, M. (2021). Aplikasi Trichokompos dan Pupuk Grand-K Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Pada Lahan Gambut Rawan Terendam. *Jurnal Agroteknologi*, *12*(1), 1-8.

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, *38*(7), 3022-3027.

Thapa, S., & Prasanna, R. (2018). Prospecting the Characteristics and Significance of the Phyllosphere Microbiome. *Annals of Microbiology*, *68*(5), 229–245.

Tho, K. E., Brisco-McCann, E., Wiriyajitsomboon, P., & Hausbeck, M. K. (2019). Effects of Temperature, Relative Humidity, and Plant Age on Bacterial Disease of Onion Plants. *Plant Health Progress*, *20*(4), 200-206.

Tian, X., Hu, L., Jia, R., Cao, S., Sun, Y., Dong, X., & Wang, Y. (2024). *Streptomyces pratensis* S10 Promotes Wheat Plant Growth and Induces Resistance in Wheat Seedlings against *Fusarium graminearum*. *Journal of Fungi*, *10*(8), 578.

Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T. & Singh, B. K. (2020). Plant–Microbiome Interactions: From Community Assembly to Plant Health. *Nature Reviews Microbiology*. *18*(11): 607–621.

Tsuji, M. & Fuji, S. I. (2021). First Report of Bacterial Streak and Rot of Onion Caused by *Pseudomonas viridiflava* in Japan. *Plant Disease*. *105*(10): 3288.

Upe, A. & Asrijal (2022). Optimum Produktivitas Bawang Merah Varietas Bima. *Jurnal Ilmiah Agrotani*. *3*(2): 83–88.

Vahling-Armstrong, C., Dung, J. K. S., Humann, J. L. & Schroeder, B. K. (2016). Effects of Postharvest Onion Curing Parameters on Bulb Rot Caused by *Pantoea agglomerans*, *Pantoea ananatis* and *Pantoea allii* in Storage. *Plant Pathology*. *65*(4): 536–544.

Vesuna, A. P. & Nerurkar, A. S. (2020). Biocontrol Impact of AHL Degrading Actinobacteria on Quorum Sensing Regulated Virulence of Phytopathogen *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* BR1. *Plant and Soil*. *453*: 371–388.

Wahyudi, A. T., Priyanto, J. A., Fijrina, H. N., Mariastuti, H. D. & Nawangsih, A. A. (2019). *Streptomyces* spp. from Rhizosphere Soil of Maize with Potential as Plant Growth Promoter. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. *20*(9): halaman tidak tercantum.

Wang, M. & Ma, Q. (2011). Antagonistic Actinomycete XN-1 From Phyllosphere Microorganisms of Cucumber to Control *Corynespora cassiicola*. *Cucurbit Genet Coop Rep*. *33*: 17–21.

Wati, C., Nawangsih, A. A., Wahyudi, A. T., Wiyono, S. & Munif, A. (2023). Diversity of Phyllosphere Actinomycetes in Liliaceae Plants and Their Potential as Growth Inhibitors of *Alternaria porri*. *Biodiversitas*. *24*(10): 5234–5242.

Wati, C., Nawangsih, A. A., Wahyudi, A. T., Wiyono, S. & Munif, A. (2024). The Effectiveness of Liliaceae Phyllosphere Actinomycetes as Biocontrol Agent of Purple Blotch Disease (Alternaria porri Ell. Cif) on Shallot. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. *24*(2): 194–202.

Wibowo, R. H., Sipriyadi, S., Mubarik, N. R., Rusmana, I. & Suhartono, M. T. (2020). Isolation and Screening of Soil Chitinolytic Actinobacteria as the Anti-Fungal Producer of Plant Pathogens. *Elkawnie Journal of Islamic Science and Technology*. *6*(2): 273–286.

Xu, T., Cui, K., Chen, J., Wang, R., Wang, X., Chen, L. & Chen, Y. (2021). Biodiversity of Culturable Endophytic Actinobacteria Isolated from High Yield *Camellia oleifera* and Their Plant Growth Promotion Potential. *Agriculture*. *11*(11): 1150.

Yanti, Y., Hamid, H. & Khairul, U. (2023). Sebaran Penyakit Hawar Daun Bakteri oleh *Pantoea ananatis* pada Bawang Merah di Sumatera Barat, Indonesia. *Seminar Nasional LPPM UMMAT*. *Vol. 2*: 903–907.

Yanti, Y., Hamid, H., Nurbailis, N., Yaherwandi, Y., Liswarni, Y., Wibowo, I. & Selviana, S. (2024). Exploration of Actinobacteria Indigenus as Biological Control Agent of Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) and Increasing Production of Shallot. *Pakistan Journal of Phytopathology*. *36*(1): 210–224.

Yanti, Y., Khairul, U. & Fadil, M. (2023). Seleksi Aktinobakteria Indigenous untuk Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) serta Peningkatan Pertumbuhan Padi. *Agrohita*. *8*(1): 93–105.

Zailan, A. F., Samad, M. A. A., Ab Wahab, A. F. F., Kamaruddin, S., Xia, D. Q. H., Ramzi, A. B. & Bharudin, I. (2024). Three Isolate of Actinomycetes as Biological Control Against *Magnaporthe orzyae* and *Fusarium solani*. *Malaysian Applied Biology*. *53*(5): 75–85.

Zhai, X., Yan, X., Zenda, T., Wang, N., Dong, A., Yang, Q. & Duan, H. (2024). Overexpression of the Peroxidase Gene Zmprx1 Increases Maize Seedling Drought Tolerance by Promoting Root Development and Lignification. *The Crop Journal*. *12*(3): 753–765.

Zhang, J. W., Jinxiu, M., Lu, L. & Tong, S. (2022). First Report of Onion (*Allium cepa* L.) Bulb Rot Caused by *Pantoea agglomerans* in China. *Plant Disease*. *106*(6): 1–2.

Zhang, Q., Yong, D., Zhang, Y., Shi, X., Li, B., Li, G., Liang, W. & Wang, C. (2016). *Streptomyces rochei* A-1 Induces Resistance and Defense-Related Responses Against *Botryosphaeria dothidea* in Apple Fruit During Storage. *Postharvest Biology and Technology*. *115*: 30–37.

Zhang, S. Wen, Yang, Y., Wu, Z. Ming & Li, K. Tai. (2020). Induced Defense Responses Against *Rhizoctonia solani* in Rice Seedling by a Novel Antifungalmycin N2 from *Streptomyces* sp. N2. *Australasian Plant Pathology*. *49*(3): 267–276.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal pelaksanaan penelitian tahun 2024-2025

No.	Kegiatan	Bulan/Minggu ke-																											
		Desember				Januari				Februari				Maret				April				Mei				Juni				Juli			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Persiapan aktinobakteria filosfer indigenos																																
2.	Persiapan bakteri *Pantoea ananatis*																																
3.	Perbanyakan aktinobakteria filosfer indigenos																																
4.	Persiapan media tanam																																
5.	Penanaman																																
6.	Introduksi aktinobakteria filosfer indigenos																																

7.	Inokulasi bakteri *Pantoea ananatis*																														
8.	Pemeliharaan dan aktivitas enzim pertahanan tanaman bawang merah																														
9.	Pengamatan perkembangan penyakit																														
10.	Panen																														
11.	Analisis data Tahap 1																														
12.	Karakterisasi aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol																														
13.	aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biofertilizer																														

15.	Analisis data Tahap 2																													
16.	Persiapan aktinobakteria filosfer indigenos terseleksi																													
17.	Identifikasi aktinobakteria filosfer indigenos secara molekuler																													
18.	Analisis data Tahap 3																													
19.	Penulisan tesis																													

Lampiran 2. Deskripsi karakteristik bawang merah kultivar Bima Brebes

Karakteristik	Keterangan
Asal	: Lokal Brebes
Umur	: Berbunga umur 50 hst dan panen umur 70-80 hst
Tinggi tanaman	: 35 cm
Kemampuan berbunga	: Agak sukar
Jumlah anakan/rumpun	: 7-12 rumpun
Bentuk daun	: Silindris dan berlubang
Warna daun	: Hijau
Jumlah daun	:14-20 helai
Bentuk bunga	: Berbentuk seperti payung
Warna bunga	: Putih
Jumlah umbi/tangkai	: 60-83
Jumlah bunga/tangkai	: 120-143
Jumlah tangkai/rumpun	: 2-4 tangkai
Bentuk biji	: Bulat, gepeng, dan keriput
Warna biji	: Hitam
Bentuk umbi	: Bulat oval
Warna umbi	: Merah keunguan
Produksi umbi/ha	: 10 ton/ha
Susut bobot umbi	: 21,50%
Resistensi penyakit	: Busuk umbi (*Botrytis allii*)
Kerentanan penyakit	: Bercak ungu (*Alternaria porri*) dan hawar daun bakteri (*Pantoea ananatis*)
Keterangan	: Cocok dibudidayakan di dataran rendah dan tinggi
Peneliti	: Hendro Sunarjono, Prasodjo, Darliah, Nasran Horizon, dan Asrul.

UNIVERSITAS ANDALAS
EDJAJAAN
UNTUK BANGSA

Lampiran 3. Pembuatan larutan standar *McFarland*

Skala *McFarland*	Perbandingan bahan		*CFU* /ml
	$BaCl_2$ 1%	H_2SO_4 1%	
1	0,1 ml	9,9 ml	3
2	0,2 ml	9,8 ml	6
3	0,3 ml	9,7 ml	9
4	0,4 ml	9,6 ml	12
5	0,5 ml	9,5 ml	15
6	0,6 ml	9,4 ml	16
7	0,7 ml	9,3 ml	21
8	0,8 ml	9,2 ml	24
9	0,9 ml	9,1 ml	27
10	1,0 ml	9,0 ml	30

Cara kerja:

Larutan standar *McFarland* dibuat dengan cara melarutkan BaCl2 1% dan H2SO4 1% dalam perbandingan tertentu sesuai dengan skala larutan yang akan digunakan. Kekeruhan larutan *McFarland* setara dengan kepadatan sel bakteri dalam jumlah tertentu. Dalam penelitian ini digunakan larutan standar *McFarland* No. 3 dan 5 untuk tahap pengujian aktivitas antimikroba.

Sumber : Utamy *et al.* (2021).

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Lampiran 4. Komposisi medium

1. Medium *Starch Casein Agar* (SCA)

Bahan	g/ml
Starch potato	10,00
Yeast extract	4,00
Casein	2,00
Agar Bacteriological	20,00
Aquadest	1,000

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

2. Medium *International Streptomyces Project* 2 (ISP2)

Bahan	g/ml
Yeast extract	4,00
Malt extract Agar	10,00
Dextorose	4,00
Agar Bacteriological	20,00
Aquadest	1,000

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

3. Medium *Glucose Yeast Peptone Agar* (GYPA)

Bahan	g/ml
Yeast extract	3,00
Peptone	10,00
Glucose	7,00
Agar Bacteriological	15,00
Aquadest	1,000

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

4. Medium *Skim Milk Agar* (SMA)

Bahan	g/ml
Nutrient Broth	10,00
Skim Milk	20,00
Agar Bacteriological	20,00
Aquadest	1,000

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

5. Medium *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA)

Bahan	g/ml
MRS	52,20
Starch	10,00
Agar Bacteriological	20,00
Aquadest	1,000

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

6. Medium Hidrogen Sianida (HCN)

Bahan	g/ml
Picric Acid	2,00
Natrium Carbonate	8,00
Aquadest	200,00

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 200,00 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

7. Medium *Pikovskaya Agar* (PKVA)

Bahan	g/ml
Yeast Extract	0,50
Dextrose	10,00
Calcium Phosphate	5,00
Ammonium Suphate	0,50
Potassium Chloride	0,20
Magnesium Sulphate	0,10
Manganese Sulphate	0,10
Ferrous Sulphate	0,10
Agar Bacteriological	20,00
Aquadest	1,000

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam

8. Medium *Ashby's Mannitol Agar* (AMA)

Bahan	g/ml
Mannitol	20,00
Dipotassium Phosphate	0,20
Magnesium Sulphate	0,20
Sodium Chloride	0,20
Potassium Sulphate	0,10
Calcium Carbonate	5,00
Agar Bacteriological	20,00
Aquadest	1,000

UNIVERSITAS ANDALAS
KEDJAJAAN
UNTUK BANGSA

Cara kerja:

Seluruh bahan-bahan ditimbang dengan timbangan analitik sesuai komposisi, lalu dimasukkan ke *Beaker glass* berisi 1,000 ml akuades dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih, lalu diaduk merata dengan dengan *magnetic stirrer* hingga seluruh bahan terlarut dalam akuades, setelah medium larut dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke botol kultur. Kemudian medium disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 kPa dan suhu 121 °C selama 2 jam.

Lampiran 5. Persiapan larutan untuk isolasi DNA aktinobakteria filosfer indigenos

a. Penyiapan larutan *Lysozyme Digestion Buffer*

Bahan: - Larutan Stock 1 M Tris-HCl pH 8.0
- Larutan Stock 0.5 M EDTA
- Triton X-100
- Lysozyme

Cara penyiapan:

Sebanyak 2,5 ml Tris-HCl dimasukkan ke Erlenmeyer, ditambahkan 0,25 ml 0,5 M EDTA, dan tambahkan 1 ml Triton X-100. Cukupkan larutan dengan akuadest sampai volume 100 ml, lalu dihomogenkan. Tambahkan Lysozyme dengan konsentrasi 20,00 mg/mL sebelum larutan digunakan untuk isolasi DNA.

b. Penyiapan larutan *Wash Buffer Kit*

- **Wash Buffer I**

  Tambahkan 15,00 ml ethanol ke botol *Wash Buffer* I sebelum digunakan.

- **Wash Buffer II**

  Tambahkan 17,50 ml ethanol ke botol *Wash Buffer* II sebelum digunakan.

c. Penyiapan larutan Buffer TAE 1 X

Bahan : - Buffer TAE 10x
- *Aquadest*.

Cara penyiapan:

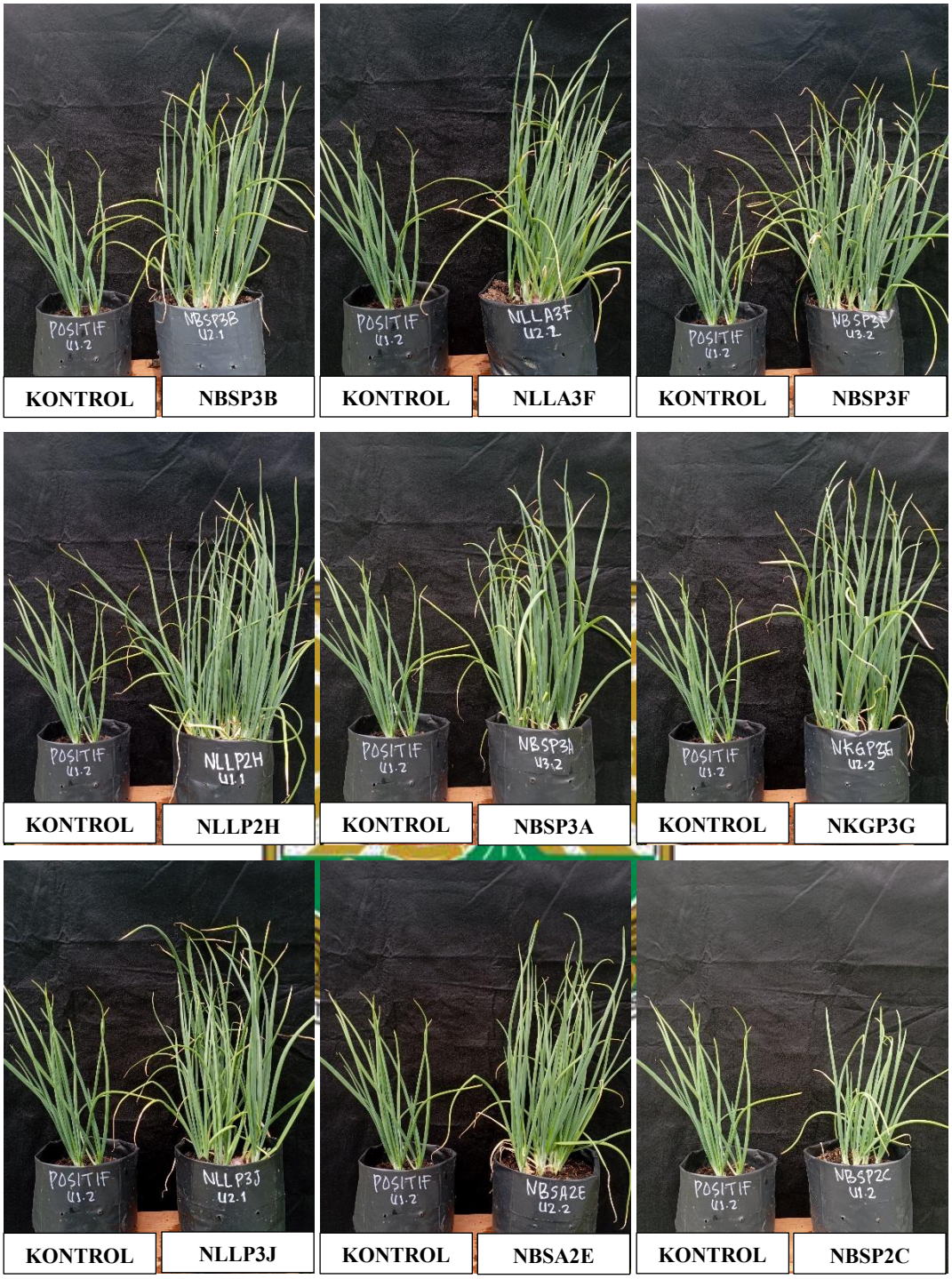
Untuk mendapatkan volume akhir TAE 1x 1L, 100 Ml Buffer TAE 10x dilarutkan dalam 900,00 ml *aquadest* dan dihomogenkan dengan *stirrer*.

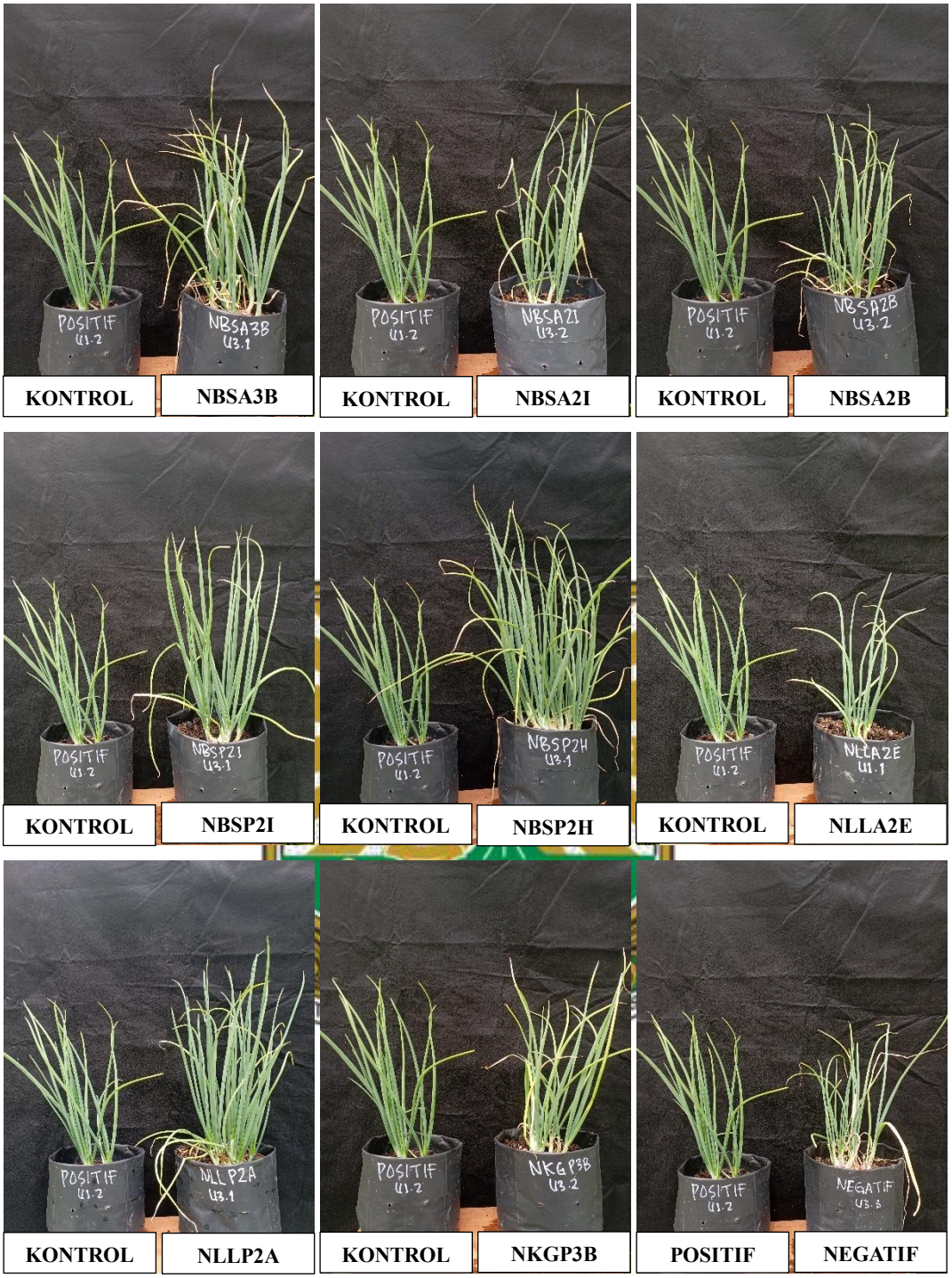
Lampiran 6. Pertumbuhan tanaman dan produksi bawang merah yang diintroduksi dengan aktinobakteria filosfer indigenos

A. Hari muncul tunas bawang merah

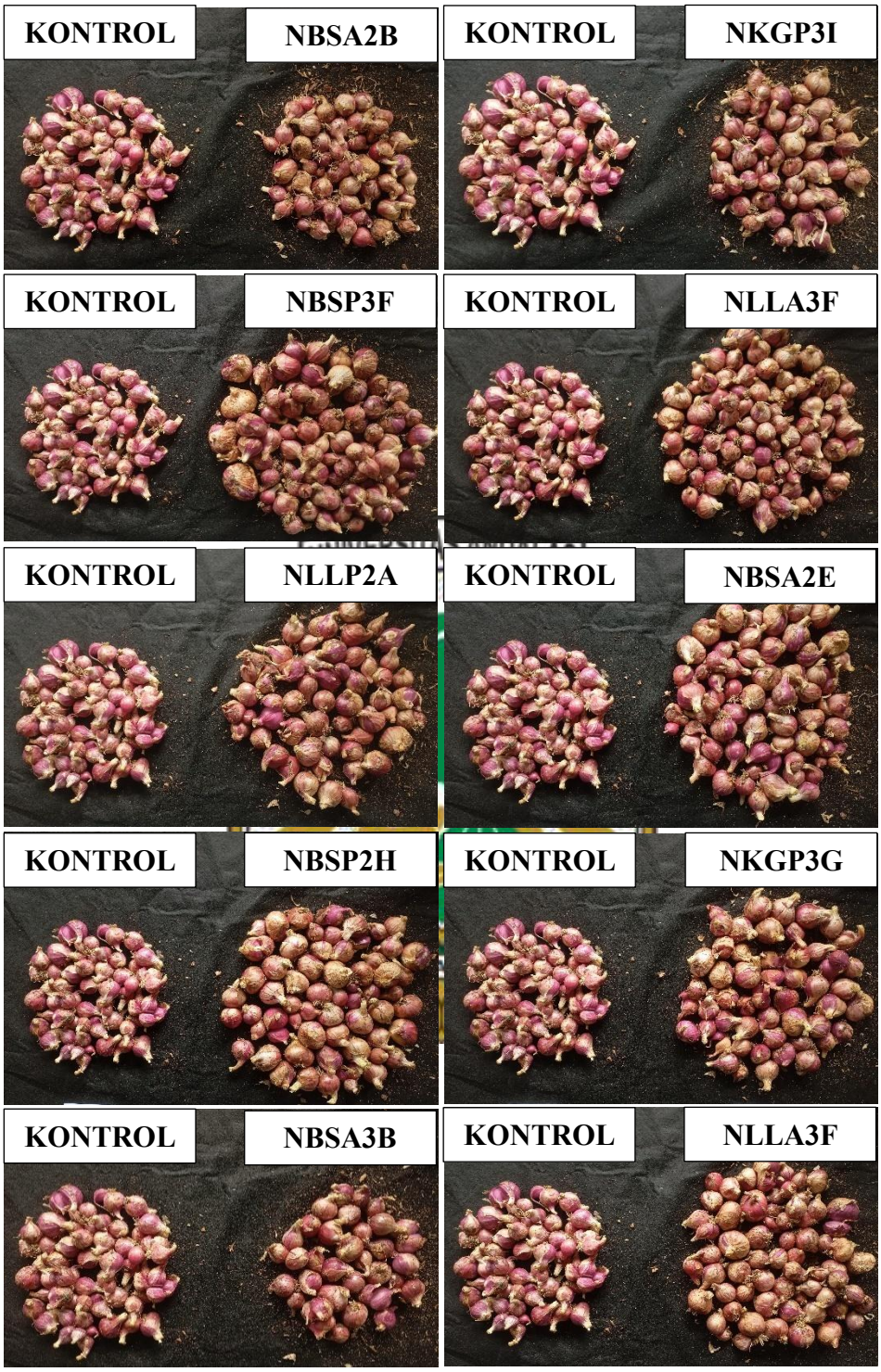
KEDJAJAAN UNTUK BANGSA

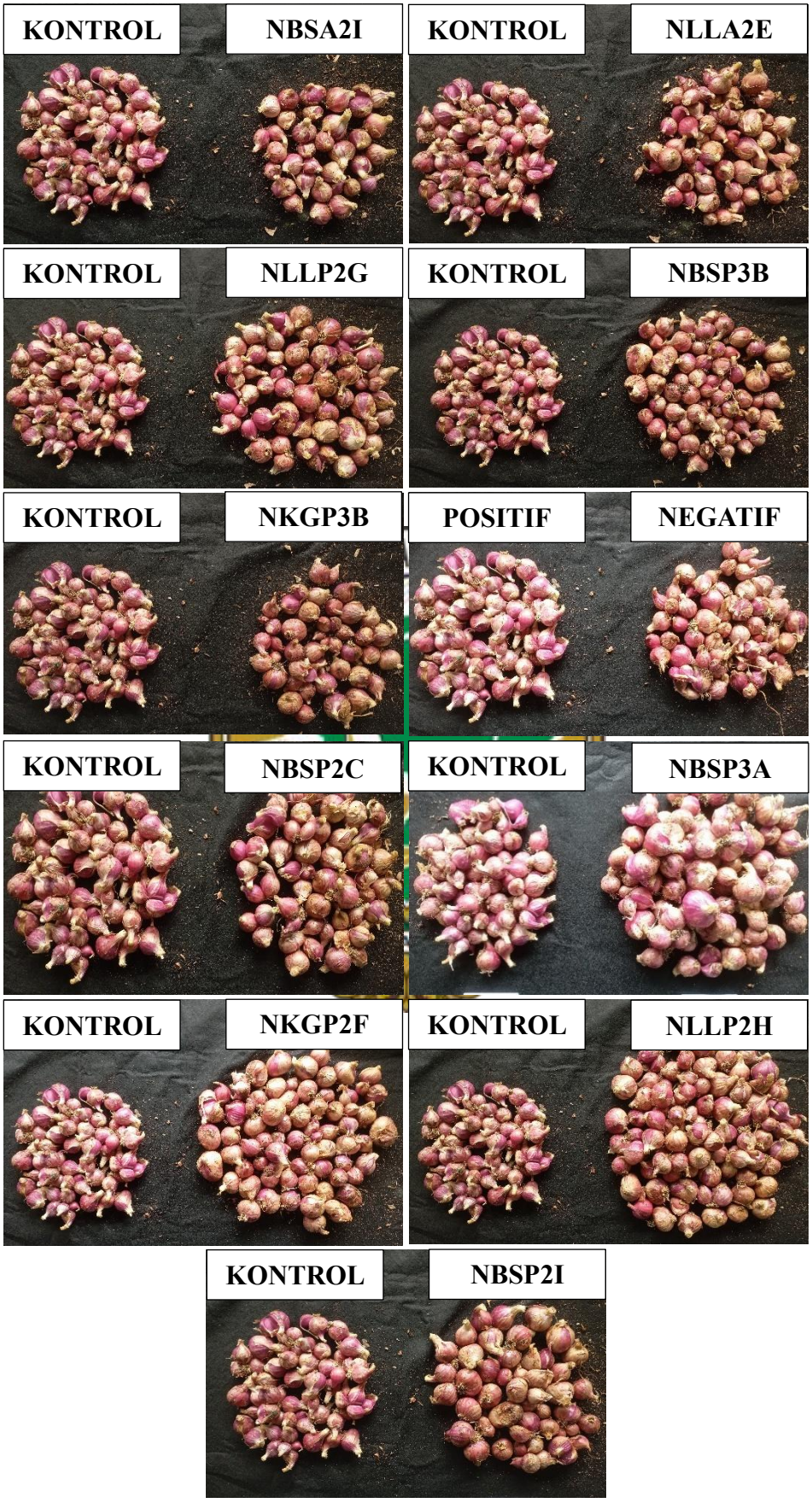
B. Tinggi dan jumlah daun tanaman bawang merah


POSITIF U1.2
NBSP3B U2.1
KONTROL
NBSP3B
POSITIF U1.2
NLLA3F U2.2
KONTROL
NLLA3F
POSITIF U1.2
NBSP3F U3.2
KONTROL
NBSP3F
POSITIF U1.2
NLLP2H U1.1
KONTROL
NLLP2H
POSITIF U1.2
NBSP3A U3.2
KONTROL
NBSP3A
POSITIF U1.2
NKGP3G U2.2
KONTROL
NKGP3G
POSITIF U1.2
NLLP3J U2.1
KONTROL
NLLP3J
POSITIF U1.2
NBSA2E U2.2
KONTROL
NBSA2E
POSITIF U1.2
NBSP2C U1.2
KONTROL
NBSP2C


POSITIF U1.2
NBSA3B U3.1
KONTROL
NBSA3B
POSITIF U1.2
NBSA2I U3.2
KONTROL
NBSA2I
POSITIF U1.2
NBSA2B U3.2
KONTROL
NBSA2B
POSITIF U1.2
NBSP2I U3.1
KONTROL
NBSP2I
POSITIF U1.2
NBSP2H U3.1
KONTROL
NBSP2H
POSITIF U1.2
NLLA2E U1.1
KONTROL
NLLA2E
POSITIF U1.2
NLLP2A U3.1
KONTROL
NLLP2A
POSITIF U1.2
NKGP3B U3.2
KONTROL
NKGP3B
POSITIF U1.2
NEGATIF U3.3
POSITIF
NEGATIF

C. Bobot umbi bawang merah

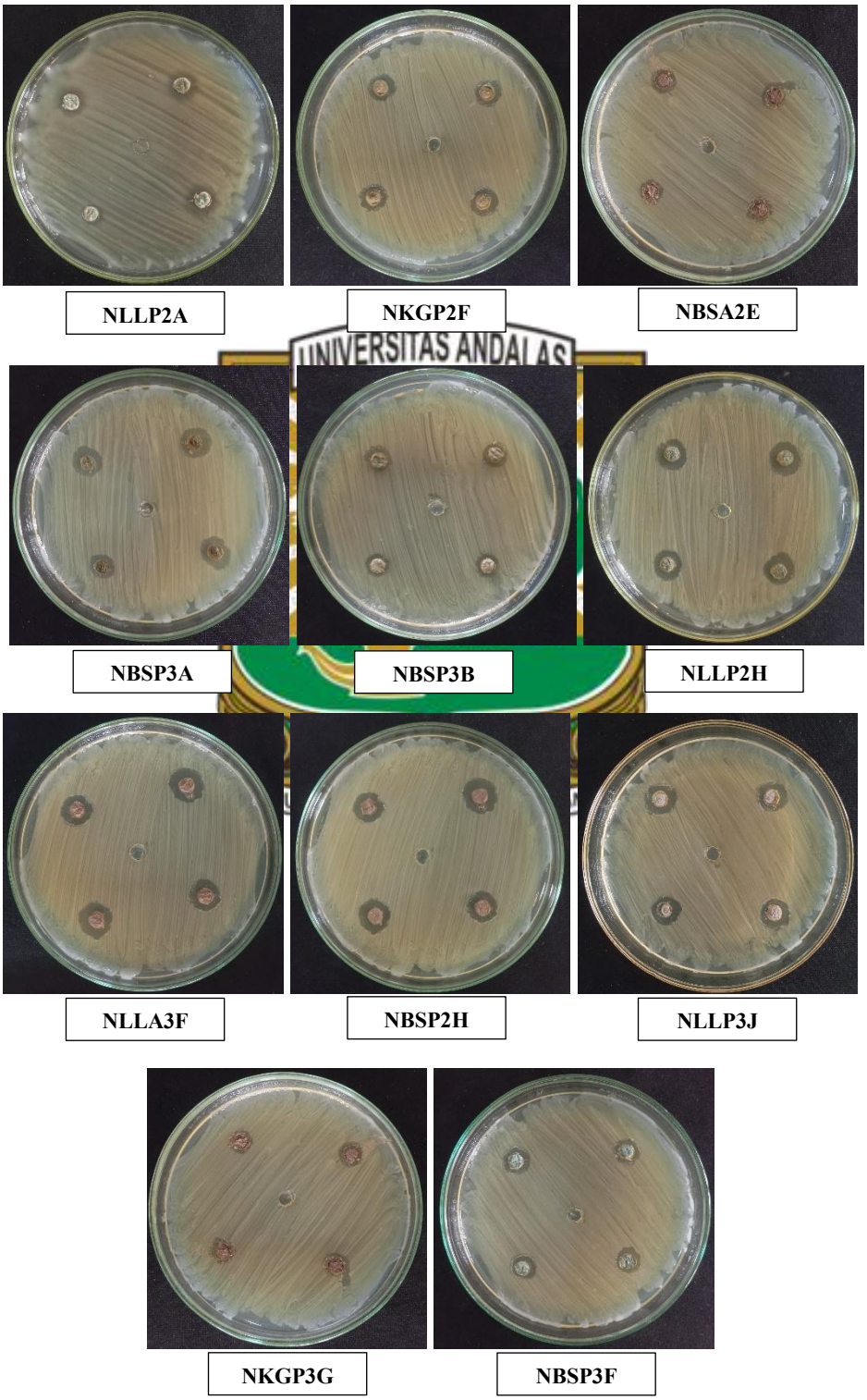



KONTROL
NBSA2I
KONTROL
NLLA2E
KONTROL
NLLP2G
KONTROL
NBSP3B
KONTROL
NKGP3B
POSITIF
NEGATIF
KONTROL
NBSP2C
KONTROL
NBSP3A
KONTROL
NKGP2F
KONTROL
NLLP2H
KONTROL
NBSP2I

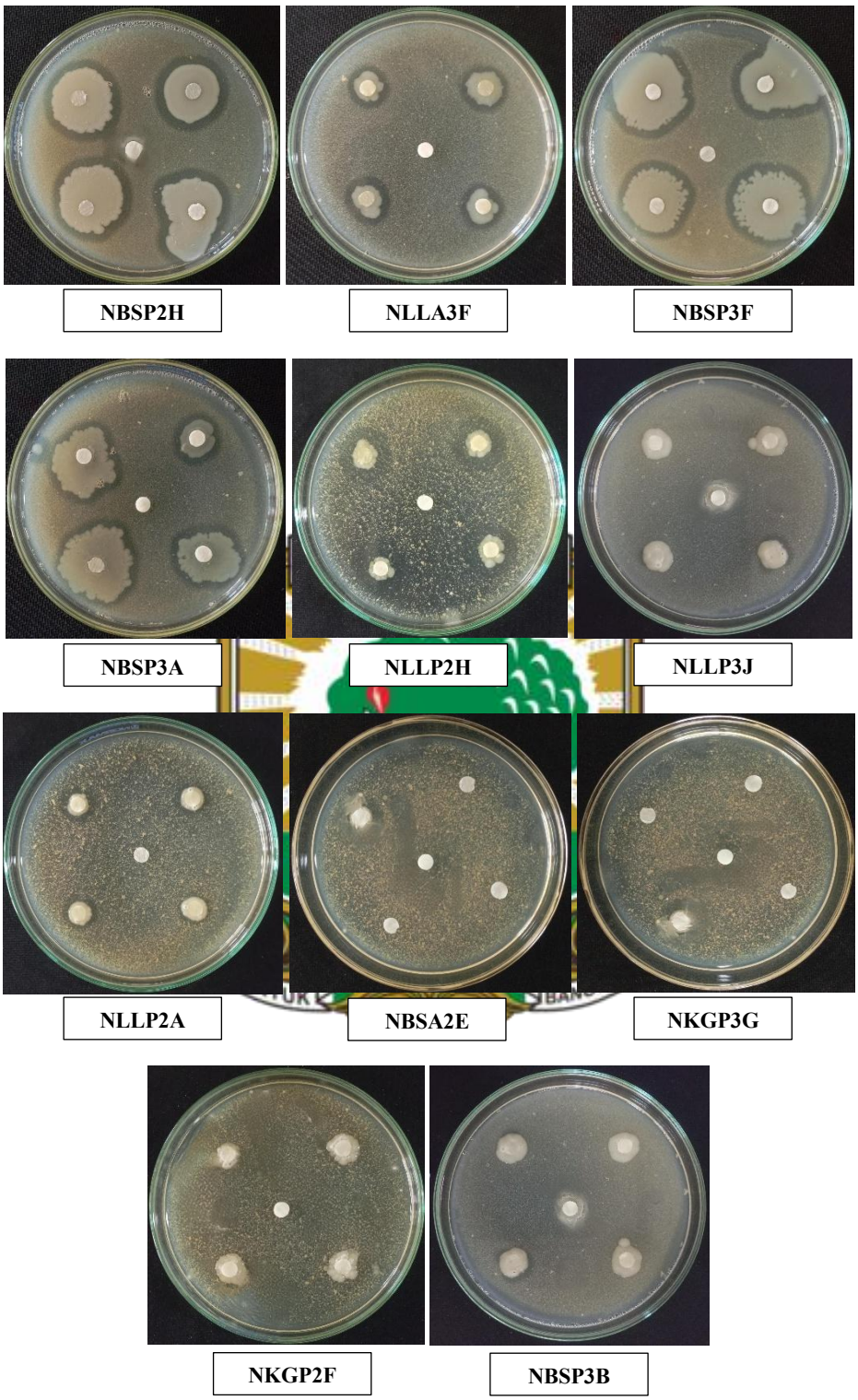
Lampiran 7. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol dan biofertilizer

A. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol

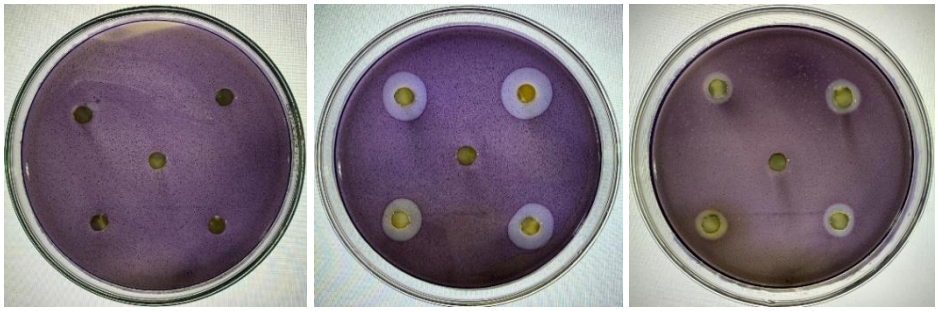
i. Kemampuan antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos terhadap bakteri *P. ananatis*



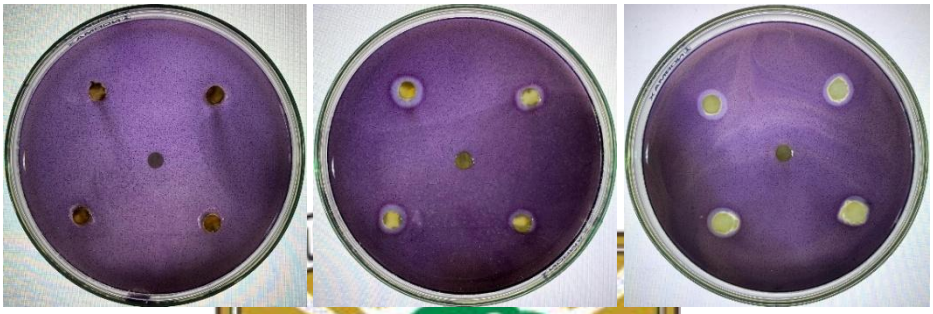
ii. Enzim protease



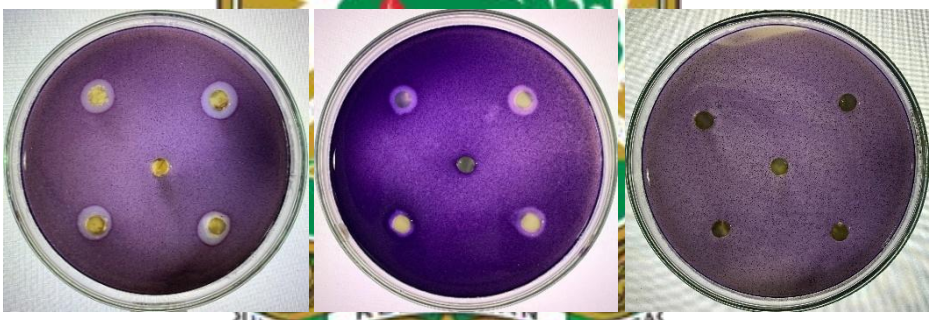
iii. Enzim amilase



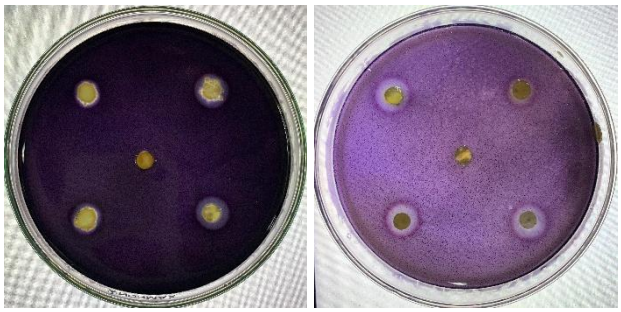
NLLP3J NLLP2H NBSP3F



NBSP3B NLLA3F NKGP2F

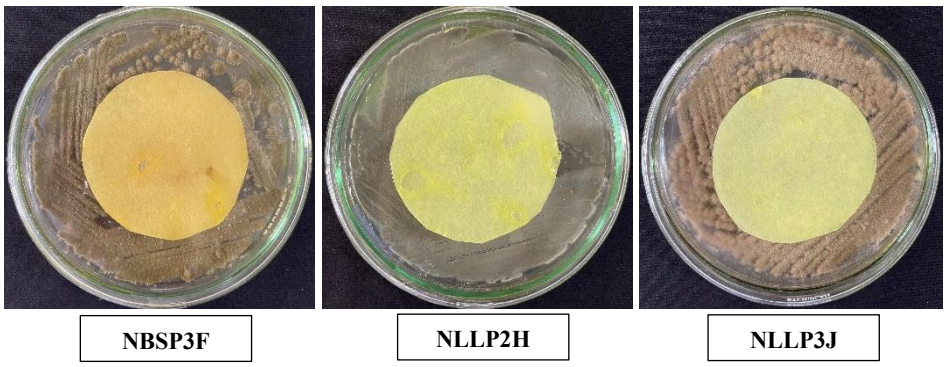


NBSP3A NBSP2H NLLP2A

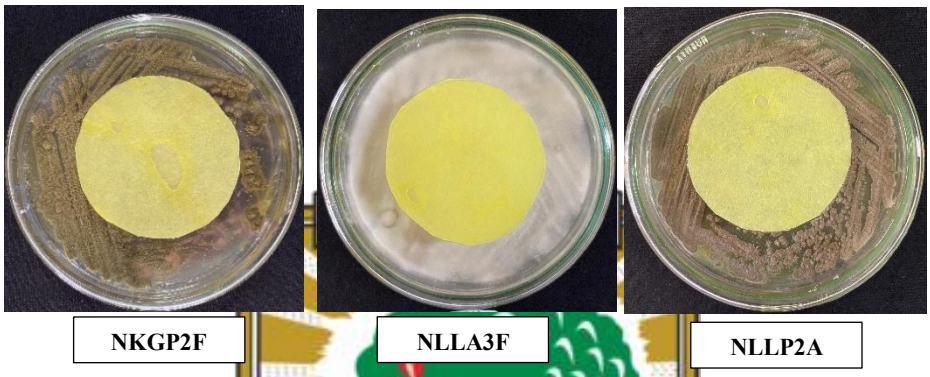


NKGP3G NBSA2E

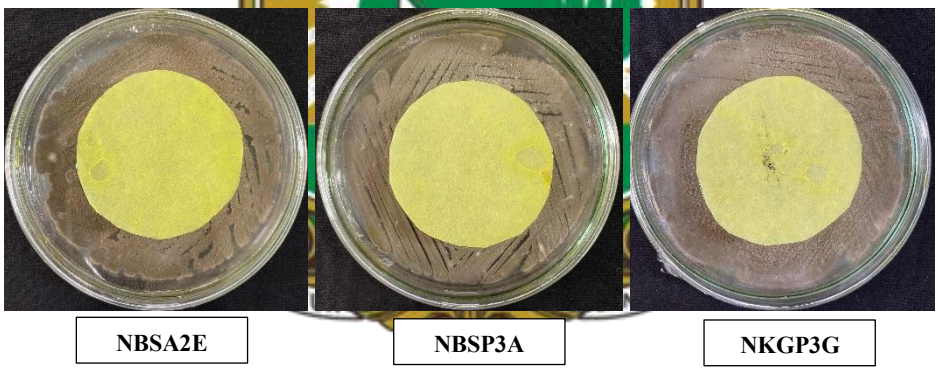
iv. Hidrogen sianida



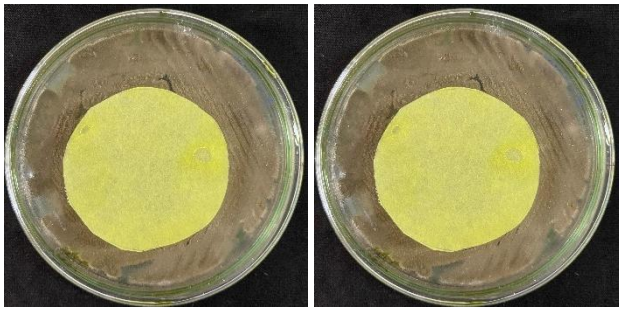
NBSP3F NLLP2H NLLP3J



NKGP2F NLLA3F NLLP2A



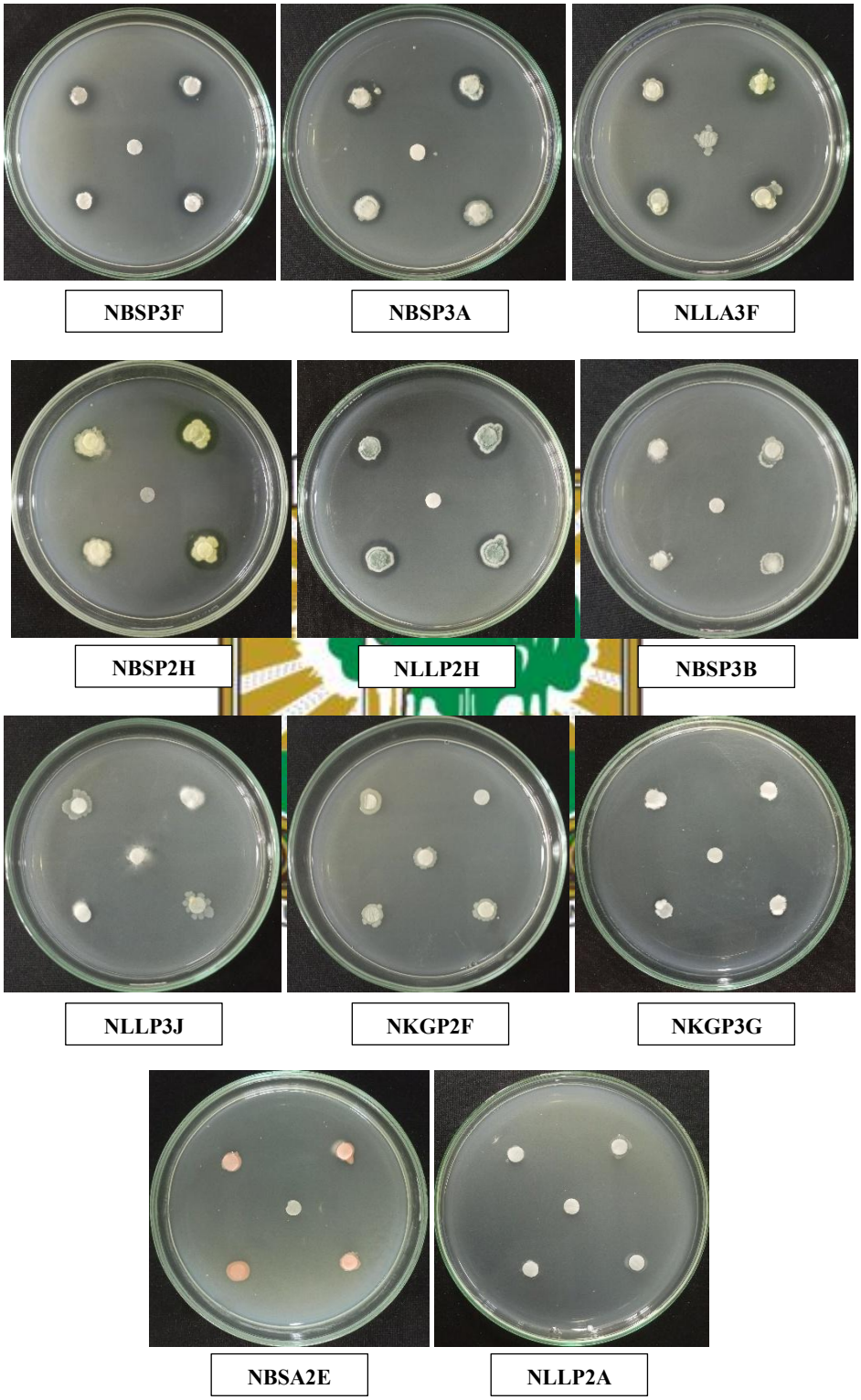
NBSA2E NBSP3A NKGP3G



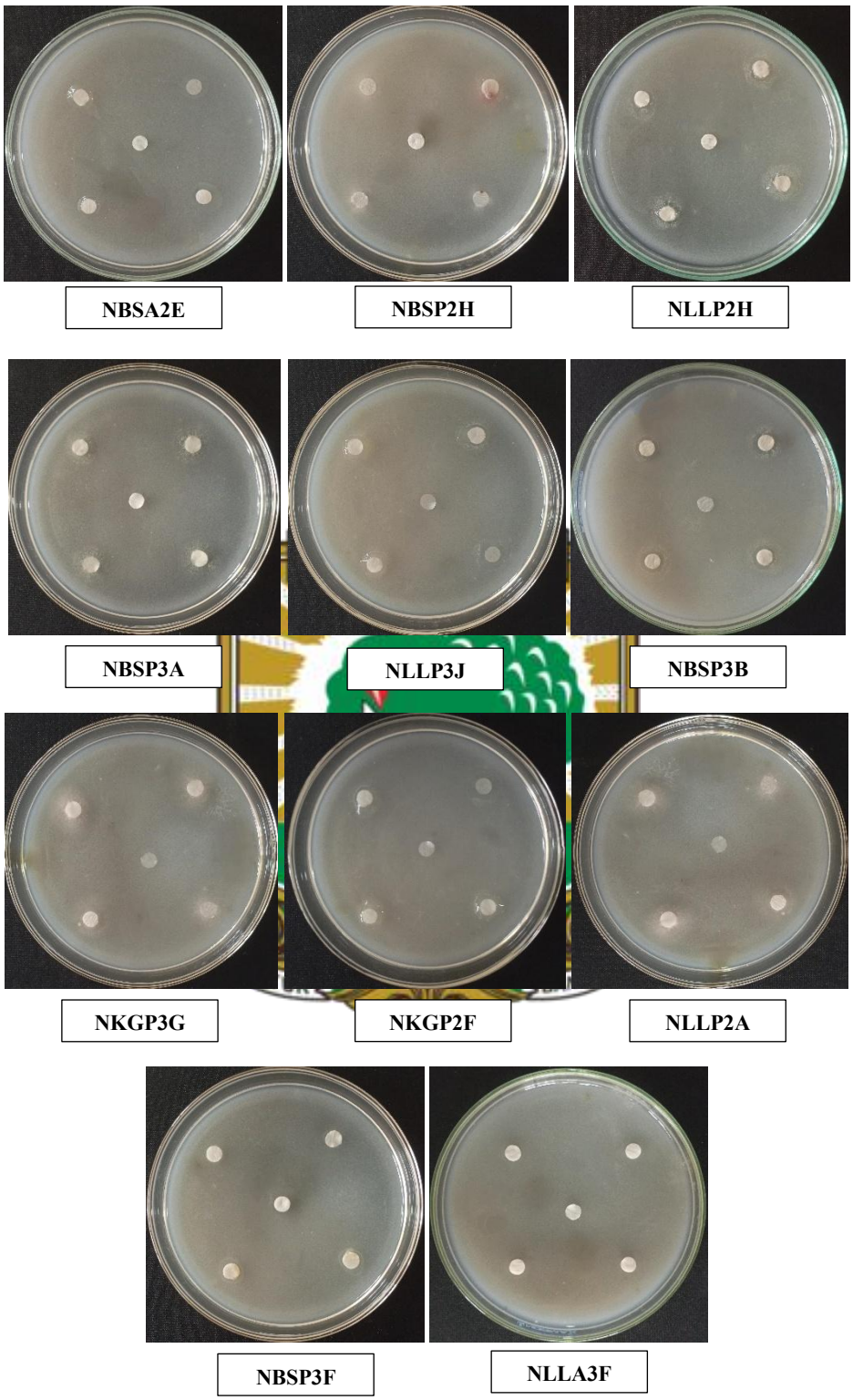
NBSP2H NBSP3B

B. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biofertilizer

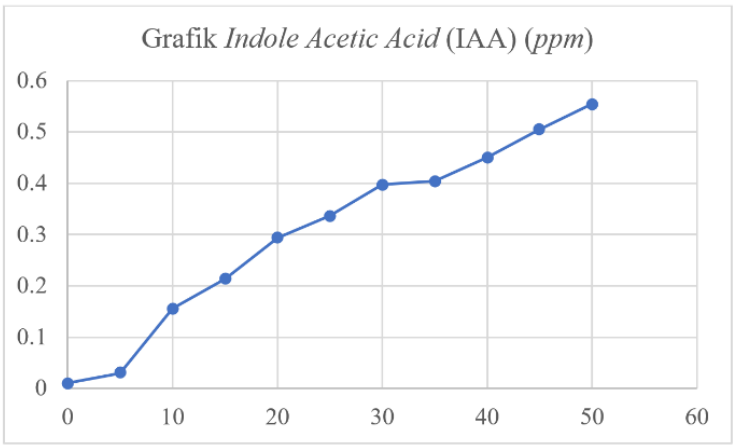
i. Pelarut fosfat



ii. Fiksasi nitrogen



iii. *Indole Acetic Acid* (IAA)



KEDJAJAAN
UNTUK
BANGSA

Lampiran 8. Sidik ragam *Analysis of Variance* (ANOVA)

A. Perkembangan penyakit hawar daun bakteri *P. ananatis*

1. Masa inkubasi penyakit

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	20	1978,099	98,905	159,31	1,82	*
Sisa	42	26,074	0,621			
Total	62	2004,173				
KK	7,19					

* Berbeda nyata

2. Insidensi penyakit

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	-	-	-	-	-	tn
Sisa	-	-	-			
Total	-	-				
KK	-					

tn: Berbeda tidak nyata

3. Severitas penyakit

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	20	6214,86	310,743	125,00	1,82	*
Sisa	42	104,44	2,487			
Total	62	6319,30				
KK	10,53					

* Berbeda nyata

B. Pertumbuhan tanaman bawang merah

1. Hari muncul tunas

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	21	1066,413	53,321	81,932	1,80	*
Sisa	44	27,333	0,651			
Total	65	1093,746				
KK	10,85					

* Berbeda nyata

UNIVERSITAS ANDALAS
KEDJAJAAN
UNTUK BANGSA

2. Tinggi tanaman

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	21	1135,33	54,0632	8,28	1,80	*
Sisa	44	287,33	6,5303			
Total	65	1422,66				
KK	6,65					

* Berbeda nyata

3. Jumlah daun

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	21	12584,3	599,252	15,60	1,80	*
Sisa	44	1687,6	38,354			
Total	65	14271,8				
KK	13,34					

* Berbeda nyata

4. Bobot segar umbi

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	21	63166,351	3007,921	30,02	1,80	*
Sisa	44	4407,592	100,173			
Total	65	67573,943				
KK	12,24					

*Berbeda nyata

5. Bobot kering umbi

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	21	64656,374	3078,875	32,20	1,80	*
Sisa	44	4193,927	95,317			
Total	65	68850,300				
KK	12,33					

* Berbeda nyata

C. Karakteristik aktinobakteria filosfer indigenos sebagai agens biokontrol

1. Aktivitas antagonisme aktinobakteria filosfer indigenos terhadap bakteri *P. ananatis* secara *in vitro*

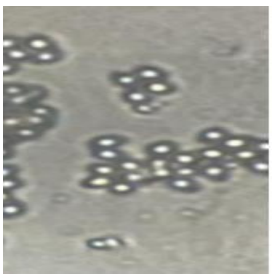
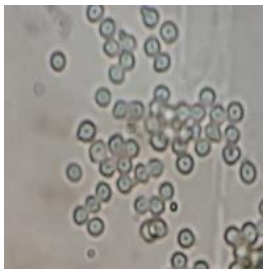
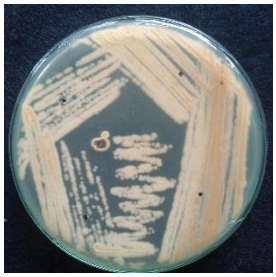
Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	Keterangan
Perlakuan	11	10,8167	0,98333	20,30	2,06	*
Sisa	36	1,7400	0,04833			
Total	47	12,5567				
KK	18,19					

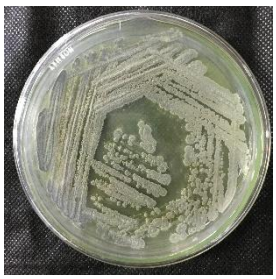
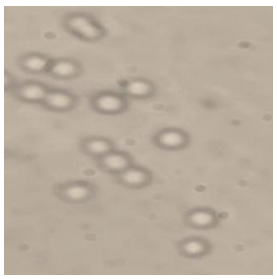
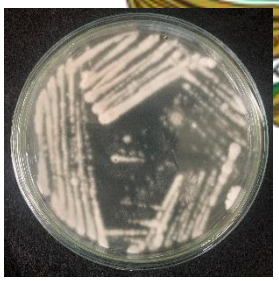
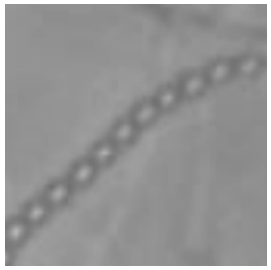
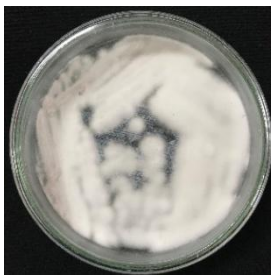
* Berbeda nyata

Lampiran 9. Konfirmasi aktinobakteria filosfer indigenos

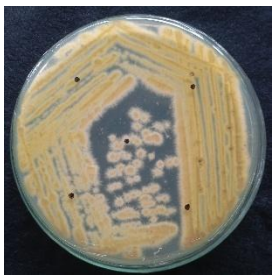
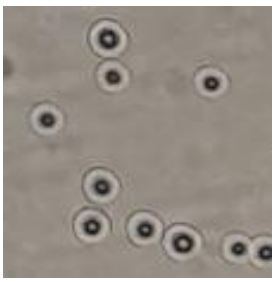
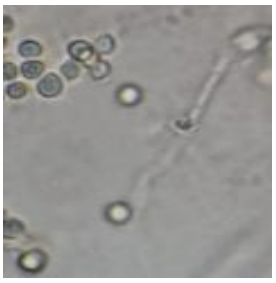
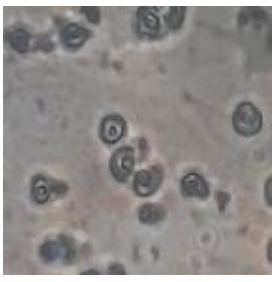
Perlakuan	Bentuk koloni	Bentuk elevasi	Warna miselium aerial	Warna miselium substrat
NLLP2H	Circular	Convex	Abu-abu	Abu-abu
NLLP2A	Filamentous	Flat	Hijau tua	Kuning
NLLP2G	Circular	Convex	Abu-abu	Krem
NLLP3J	Circular	Convex	Hijau tua	Kuning
NLLA2E	Filamentous	Convex	Putih	Krem
NLLA3F	Circular	Convex	Hijau tua	Kuning
NBSA2E	Filamentous	Umbonate	Hijau tua	Krem
NBSP3B	Circular	Convex	Hijau muda	Cokelat
NBSP3F	Circular	Convex	Hijau tua	Kuning
NBSA2B	Filamentous	Umbonate	Putih	Putih
NBSA3B	Circular	Flat	Putih	Putih
NBSP2C	Circular	Umbonate	Hijau muda	Cokelat
NBSP2I	Circular	Convex	Hijau muda	Krem
NBSA2I	Circular	Flat	Hijau muda	Krem
NBSP2H	Filamentous	Convex	Cokelat	Merah
NBSP3A	Circular	Flat	Abu-abu	Abu-abu
NKGP3B	Circular	Umbonate	Putih	Putih
NKGP2F	Circular	Umbonate	Hijau tua	Merah
NKGP3G	Circular	Flat	Hijau tua	Cokelat
NKGP3I	Circular	Convex	Hijau muda	Krem

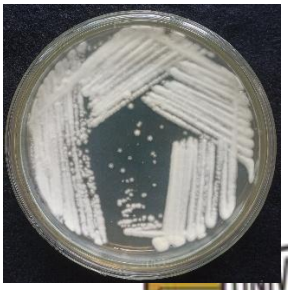
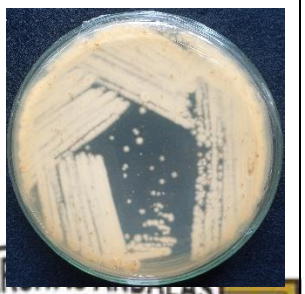
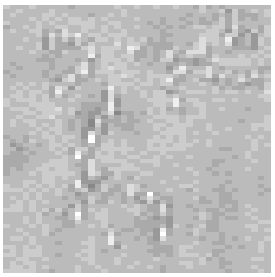
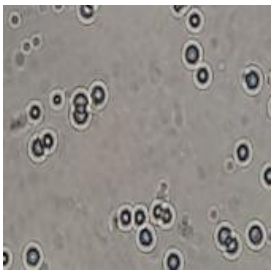
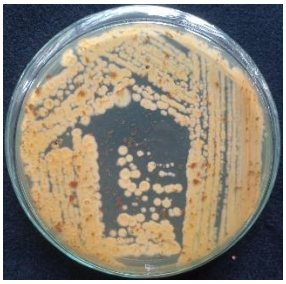
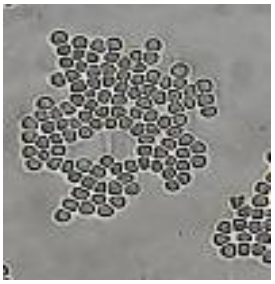
Kode Isolat perlakuan	Bakteri Gram	Reaksi hipersensitif	Respon patogenisitas	Keterangan tabel
NLLP2H	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NLLP2A	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NLLP2G	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NLLP3J	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NLLA2E	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NLLA3F	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSA2E	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSP3B	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSP3F	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSA2B	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSA3B	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSP2C	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSP2I	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSA2I	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSP2H	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NBSP3A	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NKGP3B	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NKGP2F	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NKGP3G	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi
NKGP3I	Positif	Tidak patogen	Tidak patogen	Sesuai koleksi

Kode isolat	Morfologi makroskopis		Morfologi mikroskopis
	Miselium aerial	Miselium substrat	
NLLP2H			
NLLP2A			
NLLP2G			
NLLP3J			
NLLA2E			

NLLA3F			
NBSA2E			
NBSP3B			
NBSA2B			
NBSA3B			

UNIVERSITAS ANDALAS

NBSP2C			
NBSP2I			
NBSA2I			
NBSP2H			
NBSP3F			

NBSP3A			
NKGP3B			
NKGP2F			
NKGP3G			
NKGP3I