

PROSIDING Seminar Nasional Bioteknologi VII Universitas Gadjah Mada

“Bioteknologi untuk Mitigasi Perubahan Iklim dan Pemanasan Global”

Yogyakarta, 23 Oktober 2021

Diselenggarakan oleh:

 UNIVERSITAS GADJAH MADA
SEKOLAH PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI

 UNIVERSITAS GADJAH MADA
PUSAT STUDI BIOTEKNOLOGI

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI VII UNIVERSITAS GADJAH MADA

Bioteknologi untuk Mitigasi Perubahan Iklim dan Pemanasan
Global

Program Studi Bioteknologi Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta, 23 Oktober 2021

KEYNOTE SPEAKERS

Prof. Siti Subandiyah

(Pusat Studi Bioteknologi, UGM)

Prof. Chi-Ying F. Huang

(National Yang Ming Chiao Tung University, Taiwan)

Prof. Michael Sauer

(Universität für Bodenkultur Wien, Austria)

Prof. Wilfried Schwab

(Technische Universität München, Germany)

Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknika Utara, Kocoran, Sleman 55281,

Telp : 0274-544975, 555881, 564239

E-mail : sps@ugm.ac.id

<http://pasca.ugm.ac.id>

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI VII UNIVERSITAS GADJAH MADA

Bioteknologi untuk Mitigasi Perubahan Iklim dan Pemanasan
Global

Program Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada
23 Oktober 2021

Keynote Speaker : - Prof. Siti Subandiyah (Pusat Studi Bioteknologi,
UGM)
- Prof. Chi-Ying F. Huang (National Yang Ming
Chiao Tung University, Taiwan)
- Prof. Michael Sauer (Universität für Bodenkultur
Wien, Austria)
- Prof. Wilfried Schwab (Technische Universität
München, Germany)

Reviewer : - Dr. Dini Wahyu Kartika Sari, S.Pi., M.Si.
- Indah Istiqomah, S.Pi., M.Si., Ph.D.
- Dr. Tri Rini Nuringtyas, S.Si., M.Sc.
- Muhammad Saifur Rohman, SP, M.Si., M. Eng.,
Ph.D.
- Prof. Dr. Endang Semiarti, MS, M.Sc.
- Dr. Yekti Asih Purwestri, S.Si., M.Si.
- Dr.Ir. Siwi Indarti, M.P.
- Ahmad Suparmin, SP, M.AgrSc.,Ph.D.
- Ir. Donny Widiyanto, Ph.D.
- Dr. drh. Asmarani Kusumawati, M.P.
- Prof. Dr. drh. Wayan Tunas Artama
- Widhi Dyah Sawitri, S.Si., M.Agr., Ph.D.
- Prof. Dr. Ir. Siti Subandiyah, M.Agr.Sc.
- Dr. Ir. Arif Wibowo, M.Agr.Sc.
- Dr.biol.hom. Nastiti Wijayanti, S.Si., M.Si.
- Nur Akbar Arrofatullah, SP, M.Biotech. Ph.D.

- Dr. Wahyu Aristyaning Putri, M.Sc.
- Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc.
- Dr. Endah Retnaningrum, M.Eng.
- Dr. Diah Rachmawati, M.Si.
- Prof. Dr. Ir. Lies Mira Yusiati, SU., IPU.
- Dr. Muthi' Ikawati, M.Sc., Apt.
- Dr. Maryani, M.Sc.
- Dr.rer.nat. Lucia Dhiantika Witasari, S. Farm.,
Apt., M. Biotech.

Editor : - Yoga Sampurna Aji, S.Pi.
- Safira Medina, S.Si.
- Adhestya Alfiani, S.Si.
- Nurul Hidayah, S.Si.
- Dini Cahyani, S.Si.
- Meri Handayani, S.Pd.

Cover Design dan Lay Out : Nor Chamidah Fatumi, S.P.
Cetakan I : Agustus 2022
Publisher : Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada
Alamat : Jl. Teknika Utara, Pogung, Sleman, Yogyakarta
55281
Email : sps@ugm.ac.id; biotech.ugm.ac.id
Website : pasca.ugm.ac.id; biotech.ugm.ac.id

ISSN 2962-8377

All right reserved

No part of this publication may be reproduced without written
permission of the publisher

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa sehingga penyusunan proseding seminar dapat terselesaikan. Proseding ini merupakan media komunikasi hasil penelitian yang telah disajikan dalam Seminar Nasional Bioteknologi Universitas Gadjah Mada ke-VII tahun 2021. Semoga selanjutnya terwujud komunikasi yang bersinergi antara peneliti untuk memberikan sumbangsih dalam mewujudkan masa depan Indonesia yang lebih baik.

Kami mengucapkan terima kasih kepada para peneliti yang menyatakan kesediaannya agar artikel hasil penelitiannya dipublikasikan dalam proseding seminar ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada para *reviewer* atas waktu, tenaga dan pikiran yang dicurahkan untuk menelaah artikel dari peneliti, serta tim penyusun atas jerih payahnya sehingga proseding ini terbit.

Apabila ada kekeliruan dalam proseding ini, kami mohon maaf yang sebesar-besarnya. Semoga informasi yang termuat dalam proseding ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu bioteknologi di Indonesia.

Ketua Panitia

Dr. Lucia Dhiantika Witasari

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
KEPANTITIAAN.....	viii
SUSUNAN ACARA.....	x
Karakteristik Kalsium Alginat Dari <i>Sargassum polycystum</i> Berdasarkan Bagian Talus Dan Jenis Larutan Perendam	1
<i>I Ketut Sumandiarsa*, Amalia Eli Irma Miranti, Joko Santoso, Uju, Subaryono</i>	
Pentingnya Metrologi Pada Biologi Molekuler dan Mikrobiologi dalam Menjamin Ketertelusuran.....	26
<i>Widia Citra Anggundari*, Bambang Prasetya, Auraga Dewantoro, Umi Nuraeni, Yopi</i>	
Potensi Metabolit <i>Trichoderma</i> spp. Sebagai Penghambat Daya Tetas Telur Nematoda <i>Meloidogyne</i> spp. Penyebab Puru Akar Pada Tanaman Tembakau.....	54
<i>Kristiana Sri Wijayanti*, Titeek Yulianti, Nurul Hidayah</i>	
Karakterisasi Dan Potensi Bakteri Rizosfer <i>Jatropha curcas</i> Sebagai Antagonis <i>Ralstonia</i> sp. Penyebab Penyakit Layu	62
<i>Faza Abdurahman Fiddin, Maftuchah*, And Erfan Dani Septia</i>	
Infeksi <i>Staphylococcus</i> sp. dan Sensitivitas Terhadap Doksisisiklin pada Kucing Dermatitis	79
<i>Tazkia Salsabila, Soedarmanto Indarjulianto*, Sitarina Widyarini, Gede Bayu Suparta, Alfariisa Nururrozi, Yanuartono, Slamet Raharjo, Yeremia Yobelanno Sitompul</i>	
Improvement of Rice Yield on Tidal Swampland in South Kalimantan by Application of Bio-Silicic-Acid.....	90
<i>D N Kalbuadi*, Mukhlis, L P Santi, and D H Goenadi</i>	

Pengembangan <i>Microbial Fungicide Remediation Agent</i> dari Lahan Tanaman Kentang untuk Menghambat Serangan Jamur Patogen <i>Phytophthora infestans</i> Dan Mengurangi Residu Fungisida Kimia	105
<i>Zellin Maylinda Rizki Islami, Maftuchah*, Erfan Dani Septia</i>	
Studi Jenis Kristaluria, Nilai <i>Blood Urea Nitrogen</i> dan Kreatinin Pada Kucing Penderita Obstruksi Uretra	127
<i>Heldiar Soedarmanto, Yanuartono, Alfarisa Nururrozi, Soedarmanto Indarjulianto*, Dhasia Ramandani</i>	
Penggunaan <i>Macaca fascicularis</i> Sebagai Hewan Model Pengembangan Vaksin Selama Kurun Waktu 2011-2021: <i>A Mini-Review</i>	137
<i>Rosyid Ridlo Al Hakim*, Erie Kolya Nasution, Siti Rukayah</i>	
Platform Yang Digunakan Dalam Pengembangan Vaksin COVID-19	148
<i>Khariri*, Fauzul Muna</i>	
Pemanfaatan Sel Punca Sebagai Alternatif Pengobatan Pada Infeksi COVID-19	168
<i>Ariyani Noviantari*, Khariri Khariri</i>	
Efek Variasi Pemupukan Terhadap Emisi Gas Rumah Kaca dan Hasil Padi Varietas Amfibi di Lahan Sawah Tadah Hujan	183
<i>Ika Ferry Yunianti*, Rina Kartikawati, Anggri Hervani</i>	
Use Of Dark Septate Endophyte (DSE) For True Shallot Seed (TSS) Germination	196
<i>Chotimatul Azmi*, Astiti Rahayu, Imas Rita Saadah, Astri Windia Wulandari, Juniarti P. Sahat, Hadis Jayanti, Dwi Ningsih Susilowati, Surono</i>	

Evaluation Of API 20E System For Identification Of Bacterial Gram-Negative Isolates From Kawakawa Brine Salting.....	223
<i>Purwaningtyas Kusumaningsih*, I Gede Mustika, Rai Riska Resty Wasita</i>	
Sintesis Dan Karakterisasi Morfologi Selulosa Nano Dari Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (<i>Elaeis guinensis</i>).....	234
<i>Ratih Resti Astarti*, Didit Nur Rahman, Bambang Sunendar Purwasasmita</i>	
Real Time PCR Untuk Deteksi Virus African Swine Fever Pada Babi Di Sumatera Utara.....	245
<i>Atik Ratnawati*, Ni Luh Putu Indi Dharmayanti, I Wayan Teguh Wibawan, Indrawati Sendow, Ni Luh Putu Ika Mayasari, Muharam Saepulloh</i>	
Keragaman Bakteri Metilotrof Pada Mulut Manusia: Studi Pustakaan dan Analisis <i>In Silico</i>	260
<i>Nur Hasanah, Jumailatus Solihah*</i>	
Identifikasi Morfologi Bakteri <i>Azotobacter</i> Pada Tanaman <i>Arachis pintoii</i> Di Areal Perkebunan Kaka.....	277
<i>Niken Puspita Sari*, Laudy Arrisa Arumsari Sahana, Abied Khafidhan, Fahrizal Hazra</i>	
Virtual Screening Quercetin Dan Analognya Sebagai Inhibitor 3clpro Pada Sars-Cov-2.....	290
<i>Elly Widyarni Eka Purnamasari, Rita Maliza*</i>	

Karakterisasi dan Potensi Bakteri Rizosfer *Jatropha curcas* sebagai Antagonis *Ralstonia* sp. Penyebab Penyakit Layu

Faza Abdurahman Fiddin¹, Maftuchah^{1,2,*}, Erfan Dani Septia^{1,2}

¹Departemen Agroteknologi, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia

²Pusat Pengembangan Bioteknologi, Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia

*Email korespondensi: maftuchah@umm.ac.id

Abstrak

Jatropha curcas merupakan tanaman penghasil biodiesel potensial untuk dikembangkan, tanaman ini dapat tumbuh di lahan marjinal. Potensi kandungan minyakbiji *J. curcas* dapat mencapai 59,32% di Etiopia dan 47,58% di Indonesia. Namun, dalam budidaya di perkebunan terdapat kendala penyakit layu pada tanaman yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia* sp. Kerugian hasil panen serangan bakteri ini mencapai 20–30%, dan jika tidak ditangani dengan baik dapat mencapai 60%. Maka perlu dilakukan pengendalian yang ramah lingkungan terhadap bakteri ini dengan menggunakan agen hayati. Mikroba dapat menjadi agen hayati dikarenakan mampu menghasilkan antibiotik, siderofor, toksin, enzim, dan metabolit sekunder lain. Tujuan penelitian ini untuk melakukan eksplorasi dan karakterisasi bakteri rizosfer *J. curcas* dan melihat adanya potensi antagonis terhadap bakteri *Ralstonia* sp. secara *in vitro*. Metode yang digunakan yaitu eksplorasi dan deskriptif kualitatif dengan analisis data analisis karakterisasi bakteri rizosfer menggunakan *Dissimilarity Gower Clustering average linkage* di website PBSTAT-CL 2.1.1, selanjutnya analisis korelasi person menggunakan *software* IBM SPSS Statistics 26,

pada data kuantitatif. Hasil penelitian diperoleh 46 isolat bakteri rizosfer *J. curcas*, yang terbagi dalam 6 kelompok karakterisasi, dengan jarak *cophenetic distance* maksimal 0,61. Isolat bakteri G1B5 memiliki hasil terbaik pada uji antagonis dengan diameter zona hambat mencapai 19,03mm.

Kata kunci: *Jatropha curcas*; *Ralstonia* sp.; bakteri rizosfer; agen hayati; antagonis

Pendahuluan

Sumber energi alternatif menjadi fokus setiap bangsa di dunia untuk menghadapi defisit energi fosil. Pengembangan tanaman *Jatropha curcas* hibrida saat ini gencar dilakukan, dikarenakan biji tanaman ini memiliki potensi sebagai penghasil biodiesel (Septia *et al.* 2021). Hasilminyak mentah *J. curcas* di Indonesia dapat mencapai 47,58% (Maftuchah *et al.* 2020) sedangkan di Etiopia 59,32% (Erwunie *et al.* 2021). Tanaman ini masuk ke dalam jenis tanaman perdu yang dapat tumbuh di tanah marginal atau kering (Maftuchah *et al.* 2020). Namun, pengembangan dalam skala industri tetap mendapat kendala dari organisme pengganggu tanaman, salah satunya adalah penyakit layu yang disebabkan bakteri patogen *Ralstonia* sp.

Serangan dari *Ralstonia* sp. terhadap inangnya dapat menyebabkan tanaman mati. Kerugian yang disebabkan oleh patogen ini dapat mencapai 20–30%, jika tidak ditangani dengan baik dapat mencapai 60% (Rahayu 2014). Hal ini sangat berdampak pada kondisi perusahaan jika tidak ditangani dengan tepat. *Ralstonia* sp. cukup sulit untuk dikendalikan dikarenakan perkembangan bakteri ini berada di area tanah dan dapat tersebar dengan mudah melalui saluran irigasi perkebunan (Arwiyanto 2014). Selama ini pengendalian dilakukan pada saat pengolahan lahan untuk menekan jumlah dari mikroba patogen yang ada dan dilakukan penyemprotan pestisida kimia pada saat ada serangan penyakit layu pada tanaman (Saputra *et al.* 2019).

Pengendalian menggunakan pestisida kimia jika digunakan pada perkebunan cukup berbahaya bagi lingkungan perkebunan

dan sekitarnya, dikarenakan umumnya perkebunan memiliki areal yang cukup luas. Hal ini akan merusak ekologi tanah yang bermanfaat bagi tanaman, selain itu biodeversitas yang dibutuhkan tanaman untuk melakukan produksi juga akan hilang jika pengendalian pestisida kimia dilakukan secara tidak bijak. Pengembangan bakteri antagonis saat ini banyak dilakukan dalam upaya menangani permasalahan dari bakteri patogen (Hannen *et al.* 2018). Bakteri antagonis yang umum dikembangkan berasal dari kelompok bakteri rizosfer (Majeed *et al.* 2015).

Bakteri rizosfer merupakan salah satu organisme dari kelompok ekologi tanah yang memiliki kemampuan berinteraksi pada pertumbuhan tanaman salah satunya yaitu yang mampu membantu fiksasi nutrisi dalam mempercepat distribusi kepada tanaman (Hannen *et al.* 2018; Sanjaya *et al.* 2016), hingga mampu membantu membentuk kekebalan tanaman dari patogen. Bakteri rizosfer umumnya mampu menghasilkan antibiotik, siderofor, toksin, enzim, dan metabolit sekunder lain (Naveed *et al.* 2014; Elsayed *et al.* 2020), yang bermanfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga tanaman terlindungi (Hannen *et al.* 2018). Atas dasar tersebut, perlu dilakukan eksplorasi bakteri rizosfer dari tanaman *J. curcas* untuk mengetahui karakteristik dari keanekaragaman bakteri yang ada dan potensinya terhadap pengendalian bakteri patogen *Ralstonia* sp. dalam lingkup penelitian *in vitro*.

Bahan dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2019 sampai Januari 2020 di kebun percobaan *J. curcas* Desa Kedung Pengaron, Kecamatan Kejayan, Kabupaten Pasuruan, dengan lokasi tapak 7°45'54,3'' Lintang Selatan, 112°50'37,7'' Bujur Timur, dan Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Pengembangan Bioteknologi, Universitas Muhammadiyah Malang, Indonesia.

Eksplorasi dan isolasi bakteri rizosfer

Eksplorasi bakteri rizosfer *J. curcas* dilakukan dengan mengambil 3 titik tanah areal perakaran pada kedalaman 20-30 cm dari setiap tanaman (Hanirah *et al.* 2015), terdapat enam genotipe persilangan *J. curcas* yang diambil sampel tanah, yaitu JC5, JC6, JC7, JC18, IP3A, dan IP3P. Selanjutnya isolasi dilakukan dengan mengambil 10 g sampel tanah rizosfer untuk pengenceran seri (10^{-1} sampai 10^{-7}) dengan menggunakan akuades steril. Bakteri diisolasi dengan teknik langsung pada media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang 37°C (Parshionikar *et al.* 2009). Koloni yang berkembang dimurnikan dengan cara digoreskan pada NA untuk identifikasi bakteri menurut koloni dan karakteristik seluler.

Karakterisasi bakteri rizosfer

Identifikasi morfologi koloni berdasarkan *configuration*, *elevation*, *edge shape*, *colour*, dan *margin*. Koloni morfologi dilihat dan ditentukan dengan mikroskop cahaya binokuler. Karakteristik morfologi sel dilakukan dengan pewarnaan gram dan dilihat di bawah mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran $1000\times$. Untuk melengkapi karakteristik dilakukan uji respirasi pada isolat murni (Parshionikar *et al.* 2009; Vos *et al.* 2011; Hanirah *et al.* 2015).

Persiapan bakteri patogen

Isolat bakteri patogen *Ralstonia* sp. diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Pengembangan Bioteknologi, Universitas Muhammadiyah Malang, yang berasal dari tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens*). Isolat kemudian diperbanyak pada media NA dan media *Nutrient Bort* (NB) sebagai kultur cair untuk pengujian.

Uji pertumbuhan bakteri rizosfer

Uji pertumbuhan isolat bakteri dilakukan pada media NB selama 24 jam, dimulai dari pengamatan jam ke-0 sampai ke-24, yang diamati setiap 2 jam sekali. Pengamatan dilakukan dengan

spektrofotometer dengan panjang gelombang optimum 570 μm (Parshionikar *et al.* 2009).

Uji antibiotik bakteri rizosfer

Uji antibiotik dilakukan menggunakan kultur bakteri isolat pada media NB umur 24 jam, untuk diinokulasikan pada media NA dengan metode *spread* (Dian dan Budiarmo 2015). Selanjutnya disiapkan kertas cakram berdiameter 0,5 cm sebagai media peletakan antibiotik *chloramphenicol*. Uji antibiotik menggunakan 4 konsentrasi yaitu: 100%, 75%, 50%, dan 25% *chloramphenicol* dan 1 kontrol menggunakan akuades steril. Diamati reaksi antibiotik dari isolat bakteri dengan melakukan pengukuran lebar diameter 4 sisi zona bening yang terjadi setelah 24 jam, dihitung rata-rata sebagai data lebar diameter antibiotik yang terjadi. Berdasarkan kemampuan bakteri rizosfer dalam menghasilkan daya hambat yang terjadi digolongkan dengan batas resistensi dari *chloramphenicol* dengan diameter zona hambat ≥ 18 mm tergolong sensitif, diameter sebesar 13–17 mm tergolong intermediet dan ≤ 12 mm tergolong resisten (Mukhtar *et al.* 2019).

Uji antagonis bakteri rizosfer terhadap Ralstonia sp.

Pengujian dilakukan dengan mengambil 0,05 ml suspensi *Ralstonia sp.* pada kerapatan 10^7 CFU/ml untuk diinokulasikan pada media NA dengan metode *spread* (Parshionikar *et al.* 2009). Selanjutnya disiapkan kertas cakram berdiameter 0,5 cm sebagai media peletakan isolat bakteri rizosfer *J. curcas*. Diamati reaksi antibiotik dari isolat bakteri dengan melakukan pengukuran lebar diameter 4 sisi zona bening yang terjadi setelah 24 jam, dihitung rata-rata sebagai data lebar diameter antibiotik yang terjadi (Mukhtar *et al.* 2019; Cao *et al.* 2018).

Analisis data

Analisis karakterisasi bakteri rizosfer *J. curcas* diambil dari data pengamatan makroskopis koloni dan mikroskopis seluler bakteri. Selanjutnya data diubah ke dalam data kode biner

dan dianalisis karakterisasi menggunakan *Dissimilarity Gower Clustering average linkage* di website PBSTAT-CL 2.1.1 (Septia *et al.* 2021), selanjutnya analisis korelasi person menggunakan *software IBM SPSS Statistics 26*, pada data kuantitatif untuk mengetahui apakah ada interaksi hasil.

Hasil dan Pembahasan

Eksplorasi dan Karakterisasi bakteri rizosfer

Tabel 1. Morfologi koloni dan morfologi sel bakteri rizosfer *J. curcas*

Iso- late Code	Colony Morphology					Cell Morphology		
	Configuration	Elevation	Edge Shape	Colour	Margin	Type of respiration	Cell Shape	Gram Reaction
G1B1	Circular	Low Convex	Flat	Clear White	Coarse grained	Aerobe	Bacillus	Positive
G1B2	Circular	Low Convex	Flat	White	Coarse grained	Aerobe	Bacillus	Positive
G1B3	Circular	Low Convex	Flat	Glossy White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G1B4	Circular	Low Convex	Flat	Light Orange	Smooth	Aerobe	Coccus	Negative
G1B5	Irregular	Low Convex	Choppy	Glossy White	Smooth	Anaerobe	Coccus	Negative
G1B6	Circular	Low Convex	Flat	Glossy Yellowish White	Coarse grained	Anaerobe	Diplobacillus	Negative
G1B7	Circular	Low Convex	Flat	Dark Pink	Smooth	Aerobe	Sarcina Coccus	Negative
G1B8	Amoeboid	Effuse	Choppy	Glossy White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G1B9	Circular	Low Convex	Flat	Yellowish White	Opaque	Aerobe	Diplococcus	Negative
G1B10	Circular	Low Convex	Flat	White	Smooth	Aerobe	Bacillus	Negative
G2B1	Circular	Convex	Choppy	Pink	Smooth	Aerobe	Bacillus	Negative
G2B2	Circular	Low Convex	Flat	Orange	Coarse grained	Anaerobe	Coccus	Positive
G2B3	Circular	Convex	Flat	Milky White	Smooth	Anaerobe	Coccus	Negative
G2B4	Curled	Low Convex	Flat	White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G2B5	Circular	Low Convex	Flat	Dark Pink	Smooth	Aerobe	Bacillus	Negative
G2B6	Rhizoid	Low Convex	Irregular	White	Filamentous	Anaerobe	Coccus	Positive
G2B7	Irregular	Low Convex	Irregular	Glossy White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G2B8	Irregular	Low Convex	Irregular	Clear White	Smooth	Aerobe	Diplobacillus	Negative
G2B9	Circular	Low Convex	Flat	Grayish White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G2B10	Circular	Low Convex	Flat	Yellowish White	Smooth	Aerobe	Coccus	Negative

G3B1	Irregular	Convex	Irregular	Glossy White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G3B2	Irregular	Convex	Flat	Clear White	Smooth	Aerobe	Coccus	Negative
G3B3	Irregular	Low Convex	Irregular	White	Smooth	Anaerobe	Coccus	Positive
G3B4	Circular	Low Convex	Flat	White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G3B5	Circular	Low Convex	Flat	Clear White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G3B6	Irregular	Effuse	Choppy	Glossy White	Smooth	Aerobe	Coccus	Negative
G3B7	Irregular	Effuse	Choppy	White	Smooth	Aerobe	Diplococcus	Negative
G4B1	Amoeboid	Low Convex	Irregular	Glossy White	Smooth	Anaerobe	Staphylococcus	Negative
G4B2	Circular	Effuse	Flat	Cream	Smooth	Aerobe	bacillus	Negative
G4B3	Circular	Low Convex	Choppy	pink	Smooth	Aerobe	Streptococcus	Positive
G4B4	Irregular	Low Convex	Irregular	Light yellow	Coarse grained	Aerobe	Coccus	Negative
G4B5	Circular	Effuse	Irregular	Dark yellow	Coarse grained	Aerobe	Coccus	Positive
G4B6	Irregular	Effuse	Choppy	White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G4B7	Irregular	Effuse	Irregular	Yellowish White	Smooth	Aerobe	Diplococcus	Positive
G4B8	Irregular	Effuse	Irregular	Light yellow	Smooth	Aerobe	Streptococcus	Positive
G4B9	Irregular	Effuse	Irregular	Yellowish White	Smooth	Aerobe	Streptococcus	Negative
G5B1	Irregular	Low convex	Irregular	White	smooth	Anaerobe	Coccus	Positive
G5B2	Irregular	Low convex	Flat	Yellowish White	Smooth	Aerobe	Bacillus	Negative
G5B3	Irregular	convex	Flat	White	Smooth	Aerobe	Streptobacillus	Negative
G5B4	Irregular	Effuse	Like Tassel	White Cream	Filamentous	Anaerobe	Diplobacillus	Negative
G5B5	Irregular	Low Convex	Irregular	Yellowish White	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G6B1	Circular	Low Convex	Flat	Red	Smooth	Aerobe	Staphylococcus	Negative
G6B2	Circular	Low Convex	Flat	Yellowish White	Smooth	Anaerobe	Diplococcus	Positive
G6B3	Circular	Convex	Flat	Red	Smooth	Aerobe	Coccus	Positive
G6B4	Irregular	Convex	Flat	White	Smooth	Aerobe	Diplococcus	Negative
G6B5	Irregular	Effuse	Irregular	White	Smooth	Anaerobe	Diplobacillus	Negative

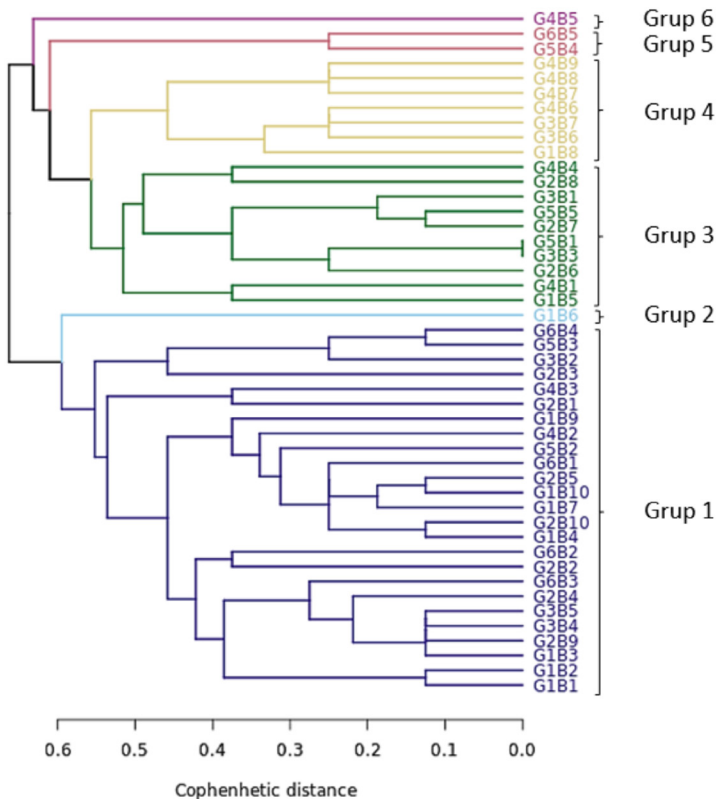
Keterangan: *Isolate code*: (G1: JC18, G2: JC6, G3: JC5, G4: JC7, G4: IP3P, G6: IP3A, dan B: Bakteri). *Configuration*: circular, irregular, curled, amoeboid, dan rhizoid. *Elevation*: low convex, convex, dan effuse. *Edge shape*: irregular, flat, like tassel, dan choppy. *Colour*: margin: smooth, filamentous, and coarse grained. *Type of respiration*: aerob dan anaerob. *Cell shape*: Bacillus, Diplobacillus, Coccus, Diplococcus, Staphylococcus, Streptobacillus, dan Sarcina coccus. *Gram reaction*: positif dan negatif (Vos et al. 2011; Parshionikar et al. 2009; Hanirah et al. 2015).

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni dan morfologi

seluler bakteri rizosfer *J. curcas*, diperoleh hasil eksplorasi sebanyak 46 isolat murni bakteri rizosfer. Dalam hasil ini nama kode isolasi bakteri rizosfer *J. curcas* berdasarkan penamaan sampel tanah rizosfer dengan kode G1: JC18, G2: JC6, G3: JC5, G4: JC7, G4: IP3P, G6: IP3A, dan B: Bakteri. Berdasarkan hasil (Tabel 1), morfologi koloni bakteri didominasi konfigurasi *circular* dan *irregular*. Elevasi yang muncul didominasi *low convex*. Sedangkan dari struktur dalam koloni didominasi *flat*, kemudian bentuk margin dari koloni rata-rata *smooth*. Jika dari warnanya didominasi warna putih dan kuning. Selanjutnya jika dilihat dari *type of respiration* sangat dominan bakteri rizosfer yang aerob, yang berarti dalam dominasi bakteri rizosfer *J. curcas* dalam respirasinya membutuhkan oksigen (Vos *et al.* 2011).

Morfologi sel bakteri rizosfer yang diperoleh didominasi dengan bentuk sel *coccus*, sedangkan untuk reaksi gram cenderung banyak yang negatif namun yang memiliki reaksi gram positif cukup banyak (Hanirah *et al.* 2015). Dari hasil karakterisasi ini dapat dilihat jumlah keanekaragaman dari jenis bakteri rizosfer yang merupakan bagian dari anggota biota tanah yang berfungsi untuk membantu pertumbuhan tanaman dari spesifikasi kemampuan bakteri untuk mendukung ekologi tanah yang baik (Hannan *et al.* 2018).

Bakteri rizosfer yang berhasil dikarakterisasi kemudian dibuat dendrogram karakterisasi *phylophenotype* untuk mengetahui hasil pengelompokannya. Berdasarkan (Gambar 1), bakteri rizosfer *J. curcas* dikelompokkan ke dalam 6 kelompok, namun terdapat kelompok besar dan kecil, terdapat 3 kelompok besar yaitu grup 1 berjarak 0,55; grup 3 berjarak 0,52; dan grup 4 berjarak 0,46. Sedangkan grup kecil terdiri dari grup 2 berjarak 0,60; grup 5 berjarak 0,25; dan grup 6 berjarak 0,61. Dari hasil ini dapat diketahui dominasi dari karakterisasi morfologi dan sel bakteri berpengaruh terhadap pengelompokan yang terjadi dan dapat dilihat jika dari setiap jenis genotip tanaman *J. curcas* memiliki cukup persamaan dari keragaman bakteri rizosfernya.



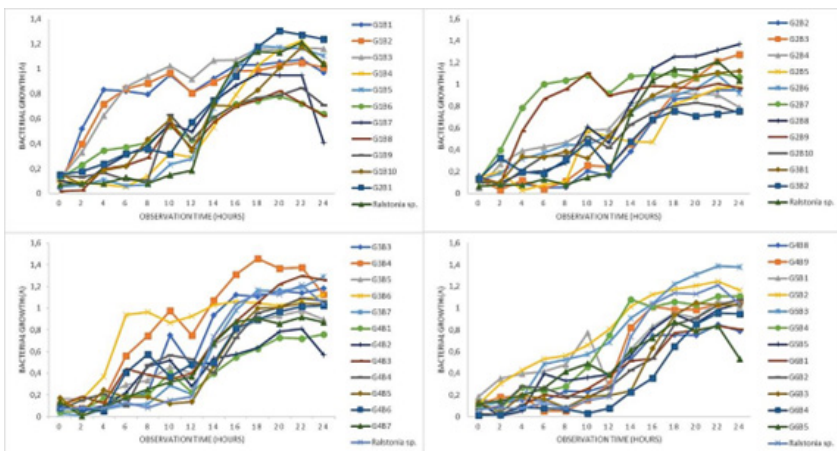
Gambar 1. Dendrogram *phylophenotype* karakterisasi bakteri rizosfer *J. curcas*

Hasil uji pertumbuhan bakteri rizosfer

Berdasarkan (Gambar 2) hasil grafik uji pertumbuhan bakteri rizosfer *J. curcas* selama 24 jam yang dibandingkan dengan bakteri patogen *Ralstonia* sp. dapat dilihat dari fase lag bakteri rizosfer hampir seluruhnya mampu mencapai fase eksponensial lebih cepat jika dibandingkan *Ralstonia* sp. pada fase stasioner bakteri rizosfer lebih cepat mencapai fase tersebut namun di waktu yang sama *Ralstonia* sp. masih mengalami fase eksponensial. Sehingga jika dilihat dari grafiknya hanya beberapa bakteri rizosfer saja yang mampu menunjukkan pertumbuhan bakteri

di atas *Ralstonia* sp.

Hal ini dapat diduga dikarenakan pertumbuhan bakteri rizosfer yang cepat dalam memakan nutrisi pada media NB yang mengakibatkan proses pembuatan energi untuk menghasilkan ATP (Cao *et al.* 2018; Hannen *et al.* 2018), dengan jumlah mitokondria yang banyak dari proses metabolisme yang cepat (Hammami *et al.* 2013), sehingga merangsang untuk bakteri melakukan pembelahan sel, yang mengakibatkan lebih cepat bakteri rizosfer *J. curcas* untuk mencapai fase stasioner. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji antagonis untuk mengetahui lebih jauh potensi isolat bakteri yang berhasil dieksplorasi.



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri rizosfer

Hasil uji antibiotik bakteri rizosfer

Uji antibiotik yang dilakukan terhadap isolat bakteri rizosfer *J. curcas* menggunakan antibiotik *chloramphenicol*. Penggunaan antibiotik ini dikarenakan *chloramphenicol* memiliki kemampuan menghadapi bakteri bersifat gram negatif dan positif (Irfanti *et al.* 2021). Kemudian antibiotik ini umum digunakan untuk melakukan uji antibiotik. Berdasarkan hasil (Tabel 2) diketahui semakin tinggi konsentrasi yang diberikan kepada bakteri rizosfer menunjukkan semakin meningkatnya jumlah sensitifitasnya.

Gambaran contoh hasil uji seperti pada (Gambar 4A).

Tabel 2. Persentase jumlah bakteri rizosfer dalam kategori resistensi terhadap *chloramphenicol*

<i>Inhibition resistance class (mm)</i>	<i>Concentration of chloramphenicol antibiotic (%)</i>			
	25	50	75	100
<i>Resistance (≤ 12)</i>	65,22%	41,30%	23,91%	17,39%
<i>Intermediate (13–17)</i>	21,74%	30,43%	21,74%	23,91%
<i>Sensitive (≥ 18)</i>	13,04%	28,26%	54,35%	58,70%

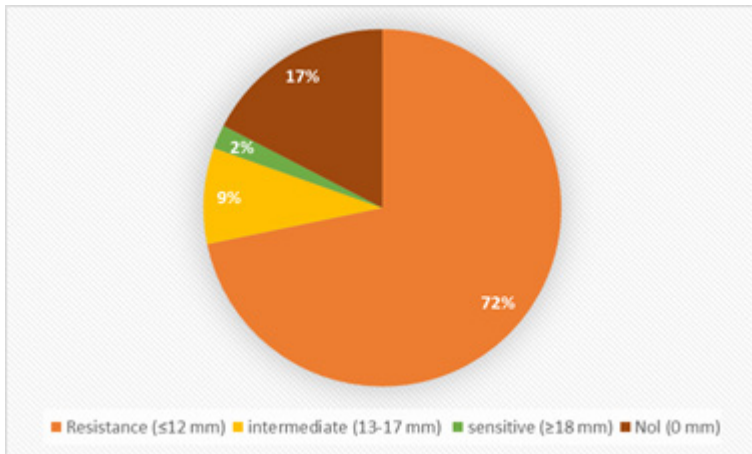
Catatan: Hasil pengujian pada tabel berasal dari 46 jumlah isolat bakteri rizosfer *J. curcas*.

Bakteri rizosfer memiliki kemampuan dominansi resisten terhadap antibiotik *chloramphenicol* pada dosis rendah namun pada dosis tinggi akan menjadi sensitif. Berdasarkan dosis tertinggi ada 17,39% jumlah isolat rizosfer yang masih tergolong restensi terhadap antibiotik. Zona bening yang terjadi di sekitar kertas cakram dikarenakan terjadinya penghambatan pertumbuhan dari bakteri untuk melakukan pembelahan sel dikarenakan tingginya dosis antibiotik (Mukhtar *et al.* 2019; Saputra *et al.* 2019). Hasil ini dapat menunjukkan potensi dari terdapatnya jenis bakteri yang diduga mampu menjadi antagonis untuk menghambat bakteri patogen.

Hasil uji antagonis bakteri rizosfer terhadap Ralstonia sp.

Uji antagonis dilakukan menggunakan metode difusi pada 46 isolat bakteri. Berdasarkan Gambar 3, hanya 17% jumlah bakteri yang tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Ralstonia sp.* Hal ini menunjukkan hasil yang positif karena diduga di lingkungan perakaran *J. curcas* masih memiliki dominasi bakteri rizosfer yang baik. Namun, dari bakteri baik tersebut hanya 2% yang memiliki kemampuan sensitifitas tinggi dan 9% intermediet. Dapat dikatakan terdapat 11% bakteri rizosfer *J. curcas* yang memiliki potensi sebagai bakteri antagonis. Isolat

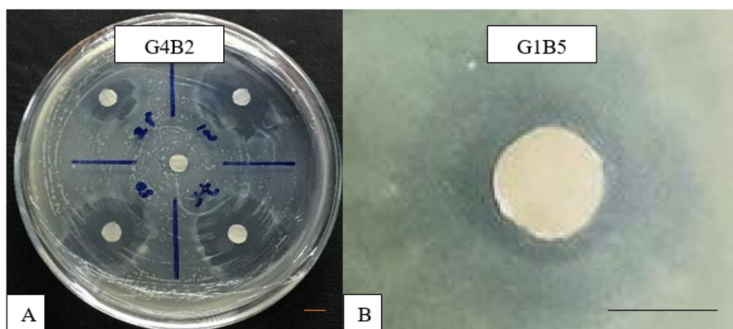
bakteri yang memiliki kemampuan terbaik yaitu G1B5 dengan diameter zona hambat 19,03 mm (Gambar 4B).



Gambar 3. Persentase jumlah bakteri rizosfer dalam kategori kemampuan resistensi terhadap penghambatan pertumbuhan *Ralstonia* sp.

Bakteri rizosfer umumnya mampu menghasilkan antibiotik, siderofor, toksin, enzim, dan metabolit sekunder lain (Heller dan Spance 2019). Beberapa penelitian menyebutkan aktivitas antagonis banyak terjadi dikarenakan mikroorganisme rizosfer menghasilkan siderofor, dan siderofor sendiri akan muncul ketika di lingkungan tumbuh bakteri atau mikroorganisme mengandung zat besi (Zhou *et al.* 2012). Zat-zat yang dihasilkan mikroorganisme dalam mengendalikan antagonis *Ralstonia* sp. untuk menghadapi senyawa 2,4-DAPG yang bersifat racun bagi tanaman dan mikroorganisme baik di area perakaran tanaman (Zhou *et al.* 2012). Kemampuan bakteri rizosfer dalam melarutkan nutrisi seperti fosfat menjadi stimulan pertumbuhan tanaman dan dapat membentuk biofilm selama bakteri berkoloni dengan akar tanaman (Kheirandish *et al.* 2015). Bakteri rizosfer tidak hanya dipengaruhi oleh faktor biotik dalam pertumbuhannya, namun juga dipengaruhi faktor abiotik seperti oksigen, suhu, karbon

spesifik, sumber nitrogen, dan elemen mikro (Irfanti *et al.* 2021). Hal tersebut telah diidentifikasi dapat mempengaruhi produksi antibiotik oleh mikroorganismen rizosfer.



Gambar 4. Deskripsi hasil tes antibiotik dan antagonis. (A) hasil tes antibiotik isolat bakteri G4B2 pada *chloramphenicol*. (B) hasil tes antagonis isolat bakteri G1B5 pada *Ralstonia* sp. (panjang garis ukur adalah 5 mm).

Tabel 3. Uji korelasi person berdasarkan hasil kemampuan bakteri rizosfer tiap parameter

	Rhizosphere Bacterial Growth Test	Antibiotic Test	Antagonist Test
Rhizosphere Bacterial Growth Test			
Antibiotic Test	-0,080		
Antagonist Test	0,034	-0,140	

Catatan: korelasi diuji signifikansi pada taraf 0.05 level (2-tailed).

Uji korelasi person dari hasil uji kemampuan bakteri rizosfer *J. curcas* tidak menghasilkan korelasi dari setiap parameter hasil. Hal ini menunjukkan belum terjadi hubungan antar variabel pengamatan. Di samping itu, pentingnya mengendalikan bakteri patogen *Ralstonia* sp. dalam perkebunan untuk menekan angka kerugian harus dilakukan dengan bijak (Djereng *et al.* 2017). Dari hasil uji sederhana antagonis untuk melihat potensi bakteri

rizosfer untuk mengendalikan patogen dapat dilakukan dan terbukti terdapat bakteri yang mampu menjadi antagonis dari hasil penelitian secara *in vitro* (Purnawati *et al.* 2019).

Perlindungan ekologi tanah dalam rangka menjaga biota tanah yang termasuk di dalamnya adalah bakteri rizosfer yang memiliki manfaat besar bagi tanaman (Hannen *et al.* 2018). Menjadi bijak bagi pihak perkebunan atau petani dapat melakukan pengendalian secara bijak dan direkomendasikan menggunakan pengendalian secara hayati menggunakan mikroorganisme. Agar tetap dapat menjaga ekologi tanah dan mempertahankan faktor-faktor abiotik dan biotik tanah.

Kesimpulan

Penelitian ini memperoleh 46 isolat bakteri rizosfer *J. curcas*, yang terbagi dalam 6 kelompok karakterisasi, dengan jarak *cophenetic distance* maksimal di 0,61. Kemudian isolat bakteri G1B5 memiliki hasil terbaik pada uji antagonis dengan diameter zona hambat mencapai 19,03 mm. Diperoleh sekitar 11% isolat bakteri yang memiliki kemampuan antagonis.

Ucapan Terima Kasih

Penghargaan diberikan kepada pimpinan Universitas Muhammadiyah Malang yang telah memberikan sumber daya penelitian, melalui program Pengembangan *J. curcas* dengan nomor pendanaan: E.2.a/103.a/BAA-UMM/II/2020. Terima kasih kepada ketua dan seluruh staf di Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang, atas dukungan bantuan peralatan dan analisis.

Daftar Pustaka

- Arwiyanto, T. 2014. Biological control of bacterial wilt in South East Asia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 18(2): 55-64.
- Cao Y, Hualiang P, Pete C, Yongtao L, Yuqi W, Han Z, Hanqin X, John D, Helmann, Yanfei C. 2018. Antagonism of two

- plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. Scientific reports. 8(1): 1-14.
- Dian R, Budiarsa F. 2015. Uji resistensibakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan antibiotik kloramfenikol. eBiomedik. 3(1): 59-63.
- Djereng DK, Kawuri R, Ramona Y. 2017. Potensi *Bacillus* sp. B3 sebagai agen biokontrol penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia* sp. pada tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.). Metamorfosa: Journal of Biological Sciences. 4(2): 237.
- Elsayed TR, Jacquioud S, Nour EH, Sørensen S, Smalla K. 2020. Biocontrol of bacterial wilt disease through complex interaction between tomato plant, antagonists, the indigenous rhizosphere microbiota, and *Ralstonia solanacearum*. Frontiers in Microbiology. 10: 2835.
- Ewunie GA, Lekang OI, Morken J, Yigezu ZD. 2021. Characterizing the potential and suitability of Ethiopian variety *Jatropha curcas* for biodiesel production: Variation in yield and physicochemical properties of oil across different growing areas. Energy Reports. 7: 439-452.
- Hammami I, Hsouna AB, Hamdi N, Gdoura R, Triki MA. 2013. Isolation and characterization of rhizosphere bacteria for the biocontrol of the damping-off disease of tomatoes in Tunisia. Comptes Rendus Biologies. 336(11-12): 557-564.
- Hanirah R, Piakong MT, Syaafi L. 2015. March. Isolation, characterization and screening of rhizospheric bacteria of *Pittosferum resiniferum* Hemsl. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 78(1012036). IOP Publishing.
- Heinen R, Biere A, Harvey JA, Bezemer TM. 2018. Effects of soil organisms on aboveground plant-insect interactions in the field: patterns, mechanisms and the role of methodology. Frontiers in Ecology and Evolution. 6(106): 1-15.
- Heller AA, Spence DM. 2019. A rapid method for post-antibiotic

- bacterial susceptibility testing. *PLoS One*. 14(1): e0210534. 1–13.
- Irfanti DY, Marsuni Y, Liestiany E. 2021. Uji antagonis *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* berfluorescens asal rhizosfer bambu, rumput gajah dan putri malu untuk menekan bakteri *Ralstonia solanacearum* secara in-vitro. In *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS* 5(1):1051-1059.
- Kheirandish Z, Harighi B. 2015. Evaluation of bacterial antagonists of *Ralstonia solanacearum*, causal agent of bacterial wilt of potato. *Biological Control*. 86: 14–19.
- Maftuchah M, Zainudin A, Ikhwan A, Purnama A, Kuan LK. 2018. Production capacity of several hybrid genotypes of *Jatropha Curcas* Linn. for five years in Pasuruan, East Java-Indonesia. 1–6.
- Maftuchah, Zainudin A, Winaya A, Rahmadesi Y. 2020. Biodiesel generated from *Jatropha* (*Jatropha curcas* Linn.) seeds selected based on various genotypes crossbred. *Energy Reports*. 6: 345–350.
- Majeed A, Abbasi MK, Hameed S, Imran A, Rahim N. 2015. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*. 6(198): 1–10.
- Mukhtar S, Mehnaz S, Mirza MS, Malik KA. 2019. Isolation and characterization of bacteria associated with the rhizosphere of halophytes (*Salsola stocksii* and *Atriplex amnicola*) for production of hydrolytic enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology* 50(1): 85–97.
- Naveed M, Mubeen S, Ahmed I, Khalid N, Suleria HAR, Bano A, Mumtaz AS. 2014. Identification and characterization of rhizospheric microbial diversity by 16S ribosomal RNA gene sequencing. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45: 985–993.
- Parshionikar S, Richard AH, Orin S, Margo EH, Michele CAG, Fred G, Stephanie H, Robin KO, Andrew LSP, Mano S. 2009. Method validation of US Environmental Protection Agency

(EPA) microbiological methods of analysis.

- Purnawati A, Rahmadhini N, Syafriani E. 2019. Uji antagonisme bakteri endofitasal tanaman pertanian dataran rendah pada medium agar. *Plumula: Berkala Ilmiah Agroteknologi*. 7(1): 1–6.
- Rahayu M. 2014. Penyakit layu *Ralstoniasolanacearum* pada kacang tanah dan strategi pengendalian ramah lingkungan. *Buletin Palawija*. (24): 69–81.
- Sanjaya BRL, Wahyuni D, Asyiah IN. 2016. Differentiation inhibiting of *Pseudomonas diminuta*, *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* for the bacteria growing of *Ralstonia solanacearum*. *Berkala Sainstek*. 1(1): 1–5.
- Saputra R, Arwiyanto T, Wibowo A. 2019. *Streptomyces* sp.: Characterization, identification and its potential as a *Ralstonia solanacearum* biological control agent in vitro. *Indonesian Journal of Agricultural Research*. 2(3): 148–155.
- Septia ED, Rofidah S, Arief S, Maftuchah. 2021. Screening of hybrid *Jatropha curcas* L. Genotypes for drought tolerant abilities as a source of superior variety characteristics. *Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture*. 36(1): 188–200.
- Vos P, George MG, Dorothy J, Noel RK, Wolfgang L, Fred AR, Karl-Heinz S, William BW. 2011. *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*. Springer Science & Business Media.
- Zhou T, Chen D, Li C, Sun Q, Li L, Liu F, Lu Q, Shen B. 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas brassicacearum* J12 as an antagonist against *Ralstonia solanacearum* and identification of its antimicrobial components. *Microbiological research*. 167(7): 388–394.