

Potensi Bakteri Filosfer pada Daun Kubis untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak oleh *Pectobacterium carotovorum* pada Sawi Putih

The Potentials of Cabbage Phyllospheric Bacteria as Biocontrol Agents of Soft Rot Disease Caused by *Pectobacterium carotovorum* on Chinese Cabbage

Af'idzatuttama, Abdjad Asih Nawangsih*, Kikin Hamzah Mutaqin
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Busuk lunak yang disebabkan oleh *Pectobacterium carotovorum* (Syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman sawi putih. Bakteri ini menghasilkan enzim pektinase yang dapat menguraikan pektin pada dinding sel tanaman bagian lamela tengah. Salah satu alternatif pengendalian penyakit busuk lunak ialah menggunakan agens biokontrol dari filosfer. Penelitian ini bertujuan menyeleksi dan menguji bakteri filosfer dari daun kubis yang berpotensi menghambat penyakit busuk lunak *P. carotovorum* pada sawi putih. Bakteri filosfer diisolasi dari wilayah Cianjur, Tegal, dan Bogor. Bakteri filosfer diuji keamanan hayati berdasarkan pada reaksi hipersensitivitas dan kemampuan lisis pada agar-agar darah, serta diuji kemampuan penghambatannya terhadap *P. carotovorum* berdasarkan pada uji antagonis secara *in vitro* dan uji penghambatan penyakit secara *in vivo*. Bakteri filosfer dikarakterisasi berdasarkan pada morfologi koloni dan sifat Gram. Dua galur bakteri filosfer paling berpotensi mengendalikan penyakit busuk lunak pada sawi putih diidentifikasi sebagai *Chryseobacterium* sp.

Kata kunci: agens biokontrol, *Brassica rapa* subsp. *pekinensis*, *Chryseobacterium* sp., *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, pengendalian hama terpadu

ABSTRACT

Soft rot disease caused by *Pectobacterium carotovorum* (Syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) is one of the important diseases on chinese cabbage. The bacteria produce pectinase enzyme which decompose pectin on the central lamella of plant cell wall. The infected chinese cabbage become rotted, watery, and slimy. One of the alternatives controls to overcome the disease is the application of biocontrol agent isolated from the phyllosphere of chinese cabbage. This study aims to evaluate and to select the potential phyllospheric bacteria from cabbage as biocontrol agents of soft rot disease caused by *P. carotovorum* on Chinese cabbage. The phyllosphere bacteria were isolated from Cianjur, Tegal, and Bogor Districts. Phyllosphere bacteria were tested for their safety by the hypersensitive reaction and hemolysis type on blood agar. They were tested for their inhibition capability to the growth of *P. carotovorum* *in vitro* and to control the soft rot disease *in vivo*. Two isolates with potential control activity to the soft rot disease in chinese cabbage are TG11 and TG20. Based on the sequence of the 16S rRNA gene, isolates TG11 and TG 12 were identified as *Chryseobacterium* sp.

Keywords: biocontrol agents, *Brassica rapa* subsp. *pekinensis*, *Chryseobacterium* sp., *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, integrated pest management

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680.
Tel: (+62251) 8629364, Surel: asnawangsih@yahoo.com.

PENDAHULUAN

Sawi putih (*Brassica rapa subsp. pekinensis*) merupakan sayuran yang sangat penting di negara Cina, Korea, Taiwan, dan Jepang, serta dikenal dengan nama: *napa*, *napa cabbage*, *petsai*, *wongbok*, atau *chihli* (Fahey 2016). Sawi putih sangat mudah terinfeksi oleh bakteri penyebab penyakit busuk lunak, *Pectobacterium carotovorum* (Portier *et al.* 2019). Bakteri ini dapat berkembang biak pada suhu 5.22–37.00 °C, sedangkan pada suhu 50 °C bakteri akan mati. Bakteri dapat bertahan hidup pada sisa-sisa tanaman dalam tanah, kisaran inangnnya luas, dan memiliki variasi genetik yang tinggi (Alvarado *et al.* 2011). *Pectobacterium carotovorum* antara lain menghasilkan enzim pektinase yang termasuk dalam kelompok *plant cell-wall-degrading enzymes* dan berfungsi menguraikan pektin pada dinding sel tumbuhan sehingga sel-sel akan lepas satu sama lain (Lee *et al.* 2013).

Usaha pengendalian penyakit yang sudah dilakukan ialah antara lain: aplikasi agens biokontrol (Raoul des Essarts *et al.* 2015; Kang *et al.* 2016; Gerayeli *et al.* 2017; Cui *et al.* 2019), penggunaan kalsium nitrat (Da Silva *et al.* 2016), dan pestisida botani (Barbin *et al.* 2018; Benitez dan Benitez 2018). Mandang *et al.* (2016) melaporkan bahwa pemberian perlakuan kombinasi antara *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) yang belum diidentifikasi dan *Pseudomonas fluorescens* memberikan penekanan yang signifikan terhadap penyakit busuk lunak di lapangan, yaitu sebesar 27.95%. Pengendalian penyakit secara biologi pada tanaman sawi putih belum banyak dilakukan, khususnya pemanfaatan bakteri filosfer untuk mengendalikan *P. carotovorum* tersebut.

Turner *et al.* (2013) menyatakan bahwa sebanyak 10^7 mikroorganisme dapat mengolonisasi per cm^2 permukaan daun. Mikroorganisme filosfer, terutama bakteri dan cendawan, bermanfaat dalam memacu pertumbuhan tanaman dan meningkatkan toleransi terhadap stres lingkungan (Stone *et al.* 2018). Pengaruh positif lain ialah memproduksi

hormon pertumbuhan dan menghasilkan senyawa volatil yang memberikan perlindungan terhadap berbagai patogen daun tanaman (Penuelas dan Terradas 2014).

Penelitian ini bertujuan menyeleksi galur-galur bakteri filosfer dari tanaman kubis yang berpotensi menghambat penyakit busuk lunak *P. carotovorum* pada sawi putih.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan dengan mengisolasi bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada kubis dan bakteri filosfer pada daun kubis sehat menggunakan medium agar-agar nutrisi (AN). Bakteri penyebab busuk lunak dikarakterisasi dan yang diduga sebagai penyebab penyakit diidentifikasi secara molekuler. Bakteri filosfer diisolasi dengan metode penempelan dan pengenceran, selanjutnya semua bakteri yang diperoleh diuji keamanan hayatinya. Galur bakteri filosfer terpilih diuji antagonismenya terhadap bakteri penyebab busuk lunak secara *in vitro* pada medium AN. Uji ini disusun dalam rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Galur bakteri filosfer yang menghasilkan zona hambatan diuji lanjut terhadap bakteri penyebab busuk lunak secara *in vivo* pada daun sawi putih yang disusun dalam rancangan acak lengkap dengan empat ulangan. Data dianalisis menggunakan Microsoft Office Excel 2010, SAS versi 9.0. Perlakuan yang berpengaruh nyata dianalisis dengan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Bakteri Penyebab Busuk Lunak pada Kubis

Bakteri diisolasi dari tanaman kubis yang bergejala busuk lunak menggunakan metode Schaad *et al.* (2001). Sebanyak 36 isolat yang sudah murni (selanjutnya disebut galur bakteri penyebab busuk lunak kubis). Galur bakteri ini dikarakterisasi berdasarkan reaksi Gram menggunakan KOH 3%, kemampuan membusukkan kentang, serta reaksi hipersensitivitas (Schaad *et al.* 2001). Sebanyak 10 galur yang diduga patogen penyebab busuk lunak pada sawi putih terpilih

diuji karakter molekulnya dengan teknik PCR menggunakan sepasang primer spesifik untuk *P. carotovorum*, yaitu: (Ec001) F (5' - CGG TTA CGA TCA GCG TCT CG - 3') dan R (5' - GAT GTG CCG ATG CCG ATA C - 3') dengan produk PCR berukuran 312 pb (Mohammed dan Selman 2013). Bakteri yang diidentifikasi sebagai *P. carotovorum* disimpan sebagai koleksi biakan dan satu galur digunakan dalam uji lanjut untuk memperoleh bakteri filosfer yang dapat menghambat pertumbuhannya.

Bakteri Filosfer

Bakteri filosfer diisolasi dari daun kubis sehat yang diambil dari wilayah pertanian kubis di Kabupaten Cianjur (Desa Ciherang/Segunung, Kecamatan Pacet), Tegal (Desa Tuwel, Kecamatan Bojong), dan Bogor (Desa Cipayung, Kecamatan Megamendung). Bakteri filosfer diisolasi menggunakan dua metode, yaitu penempelan dan pengenceran. Metode penempelan dilakukan dengan cara daun kubis sehat ditempelkan pada medium AN (Schaad *et al.* 2001) dan diinkubasikan selama 48 jam. Metode pengenceran dilakukan dengan cara merendam daun kubis sehat dalam akuades steril selama 10 menit, kemudian 10 mL suspensi diencerkan berseri sampai dengan 10^{-5} dan sebanyak 0.1 mL dari masing-masing pengenceran disebarkan pada medium AN, dan diinkubasikan selama 48 jam. Masing-masing koloni bakteri filosfer yang tumbuh dimurnikan dan disimpan sebagai koleksi biakan untuk uji lanjut.

Uji Keamanan Hayati Galur Bakteri Filosfer

Sebanyak 166 galur bakteri filosfer diuji sifat keamanan hayatinya berdasarkan sifat hemolisis pada agar-agar darah (Bernal *et al.* 2015) dan reaksi hipersensitivitas pada daun tembakau (Schaad *et al.* 2001). Bakteri filosfer yang memiliki tipe gamma (γ) atau yang tidak menyebabkan lisis pada sel darah (Sharma dan Gupta 2014) dan tidak menunjukkan reaksi hipersensitif pada daun tembakau selanjutnya digunakan sebagai kandidat agens biokontrol untuk diuji kemampuan antagonismenya terhadap bakteri penyebab busuk lunak kubis.

Uji Antagonisme Bakteri Filosfer terhadap *P. carotovorum* *in vitro*

Sebanyak 57 galur bakteri filosfer diuji aktivitas antagonismenya menggunakan metode *plate diffusion* (Putra dan Giyanto 2014) dengan modifikasi menggunakan medium AN dan kerapatan bakteri penyebab busuk lunak serta bakteri filosfer masing-masing 10^7 – 10^8 cfu mL⁻¹. Bakteri filosfer dan patogen ditumbuhkan secara terpisah pada 1.5 mL medium nutrisi cair (3 g ekstrak daging, 5 g pepton, 1000 mL akuades) (Schaad *et al.* 2001) sambil digoyang pada kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Sebanyak 10 μ L suspensi masing-masing bakteri filosfer dengan kerapatan 10^7 – 10^8 cfu mL⁻¹ diteteskan pada kertas saring steril berbentuk bulat berdiameter 5 mm dan diletakkan pada medium AN yang telah diinokulasi dengan 100 μ L bakteri patogen (10^7 – 10^8 cfu mL⁻¹) dan disebar merata menggunakan *glass beads*. Zona bening (zona hambatan pertumbuhan) yang terbentuk mengindikasikan adanya reaksi antagonisme antara isolat bakteri filosfer dan bakteri patogen. Pengamatan dan pengukuran zona bening dilakukan setelah 48 jam masa inkubasi. Lebar zona hambatan (LZH) yang terbentuk dihitung menggunakan rumus berikut:

$$LZH = D_1 - D_2, \text{ dengan}$$

D_1 , diameter zona bening (mm); dan D_2 , diameter koloni bakteri filosfer (mm).

Galur-galur bakteri filosfer yang menghasilkan zona hambatan kemudian dikarakterisasi berdasarkan morfologi koloni (Zarpelon *et al.* 2016). Galur bakteri ini digunakan untuk uji *in vivo*.

Uji Antagonisme Bakteri Filosfer terhadap *P. carotovorum* *in Vivo*

Uji ini menggunakan enam galur bakteri filosfer dengan zona hambatan paling lebar (TG11, TG12, TG16, TG20, S33, dan BG7) dan daun sawi putih sebagai inang uji mengikuti metode Lee *et al.* (2021) dengan modifikasi pada jenis agens biokontrol dan patogen serta cara aplikasinya dicampur

antara agens biokontrol dan patogen. Agens biokontrol yang digunakan ialah bakteri filosfer dengan kerapatan 10^8 – 10^9 cfu mL⁻¹, sedangkan kerapatan *P. carotovorum* ialah 10^7 – 10^8 cfu mL⁻¹. Suspensi bakteri filosfer dan *P. carotovorum* dicampur dengan perbandingan (1:1). Inokulasi dilakukan dengan membuat goresan melintang secara steril sepanjang 1 cm pada daun sawi putih. Selanjutnya, sebanyak 10 µL suspensi campuran bakteri filosfer dan *P. carotovorum* diteteskan pada daun sawi putih yang telah digores tadi. Daun sawi putih yang telah diinokulasi disimpan di dalam nampan dan dibungkus dengan kantong plastik transparan serta diinkubasikan dalam suhu ruang. Lebar dan panjang pembusukan diukur pada 24, 48, dan 72 jam setelah inokulasi (JSI). Penghambatan relatif (PR) lebar atau panjang gejala busuk lunak (L/Pgb) dihitung dengan rumus berikut:

$$PR (L/P) = \frac{L/Pgb \text{ kontrol} - L/Pgb \text{ perlakuan}}{L/Pgb \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Uji ini disusun dalam rancangan acak lengkap dengan delapan perlakuan, yakni 6 galur bakteri filosfer, 1 galur bakteri *P. carotovorum* sebagai kontrol positif, dan 1 perlakuan antibiotik streptomisin sebagai kontrol. Pengujian diulang sebanyak empat kali dengan setiap ulangannya terdiri atas enam unit daun sawi putih.

Pengolahan data menggunakan Microsoft Office Excel 2010. Uji perlakuan terhadap respons yang diamati dilakukan dengan analisis ragam SAS versi 9.0. Perlakuan yang berpengaruh nyata dianalisis dengan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Identifikasi Bakteri Filosfer Potensial secara Molekul

Dua galur bakteri filosfer paling potensial sebagai agens hayati dari uji *in vivo*, galur TG11 dan TG20, diidentifikasi secara molekul menggunakan teknik PCR. Galur bakteri filosfer diekstraksi DNA-nya. Fragmen DNA diamplifikasi menggunakan mesin PCR (GeneAmp PCR system 9700) dengan sepasang primer universal 16S rRNA, yaitu:

27F (5' - AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG - 3') dan 1492R (5' - ACC TTG TTA GGA CTT - 3') sesuai metode Frank *et al.* (2008). Sebanyak 40 µL produk PCR dikirimkan ke Laboratorium First Base Asia, Malaysia melalui PT. Genetika Science untuk disikuen nukleotidanya. Hasil perunutan nukleotida diolah menggunakan aplikasi Bioedit versi 7.2.6.1. Sikuen DNA dibandingkan dengan nukleotida lain pada Genbank database, menggunakan program BLAST.

HASIL

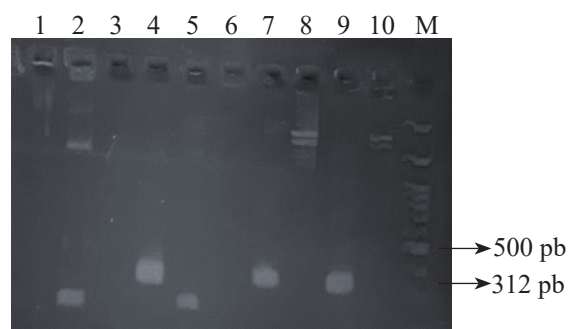
Bakteri Patogen *Pectobacterium carotovorum*

Karakterisasi terhadap 10 galur bakteri penyebab busuk lunak pada kubis menunjukkan bahwa galur PCC05 dan PCC10 memiliki karakter sesuai dengan bakteri *P. carotovorum* (Tabel 1).

Visualisasi hasil PCR menunjukkan bahwa produk yang teramplifikasi dengan primer Ec001 berukuran 312 pb (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Mohammed dan Selman (2013), yang melakukan uji konfirmasi terhadap 10 galur *P. carotovorum* menggunakan primer Ec001.

Galur Bakteri Filosfer

Bakteri filosfer yang berhasil diisolasi dengan metode penempelan dan pengenceran ialah sebanyak 166 galur yang terdiri atas 136



Gambar 1 Amplifikasi DNA dengan primer spesifik Ec001 untuk *Pectobacterium carotovorum*. M, Penanda 100 pb; 1, PCC17; 2, PCC16; 3, PCC 12; 4, PCC10; 5, PCC08; 6, PCC06; 7, PCC05; 8, PCC04; 9, PCC03; dan 10, PCC02.

Tabel 1 Karakterisasi bakteri penyebab penyakit busuk lunak dari kubis sakit

Galur	Pembusukan kentang	Reaksi hipersensitivitas	Sifat Gram (KOH 3%)	Amplifikasi primer spesifik
PCC17	-	+	negatif	Na
PCC16	+	-	negatif	Na
PCC12	-	-	negatif	Na
PCC10	++	+	negatif	A
PCC08	-	+	negatif	Na
PCC06	++	+	negatif	Na
PCC05	++	+	negatif	A
PCC04	++	+	negatif	Na
PCC03	+	-	negatif	A
PCC02	+	-	negatif	Na

Keterangan: Na (tidak teramplifikasi); A (teramplifikasi)

galur dari Cianjur (S1–S136), 20 galur dari Tegal (TG1–TG20), dan 10 galur dari Bogor (BG1–BG10). Masing-masing galur tersebut berbeda warna dan/atau bentuk, tepian, serta elevasi koloninya. Sebanyak 57 galur bakteri filofser tersebut aman untuk digunakan sebagian kandidat agens biokontrol, yaitu memiliki sifat hipersensitivitas negatif dan sifat hemolisisnya ialah γ atau tidak menyebabkan hemolisis.

Aktivitas Antagonisme Bakteri Filofser terhadap *P. carotovorum*

Dari 57 galur bakteri filofser yang telah diuji, didapatkan enam galur bakteri filofser yang bersifat antagonis terhadap bakteri *P. carotovorum*. Semakin lebar zona bening yang terbentuk menandakan semakin besar penghambatan yang terjadi. Galur yang berpotensi sebagai agens hayati ialah galur BG7, S33, TG11, TG12, TG16, dan TG20. Agens hayati TG12 memiliki daya hambat yang berbeda dengan empat galur lainnya, namun antagonismenya sama dengan galur TG11 (Tabel 2).

Kemampuan Bakteri Filofser Menghambat Penyakit Busuk Lunak Sawi Putih

Pengaruh galur bakteri filofser terhadap perkembangan panjang dan lebar gejala busuk lunak pada sawi putih yang diamati pada 24, 48, dan 72 jam setelah inokulasi disajikan dalam Tabel 3 dan Gambar 2. Lebar dan panjang gejala busuk pada daun sawi putih yang

Tabel 2 Lebar zona hambatan yang dihasilkan oleh galur bakteri filofser terhadap *Pectobacterium carotovorum* dengan metode *plate diffusion*

Galur	Zona hambatan (mm)
TG12	9.2 a
TG11	6.3 ab
S33	4.6 b
BG7	4.6 b
TG20	3.4 bc
TG16	3.2 bc
Kontrol (air steril)	0.0 c

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada α 5%

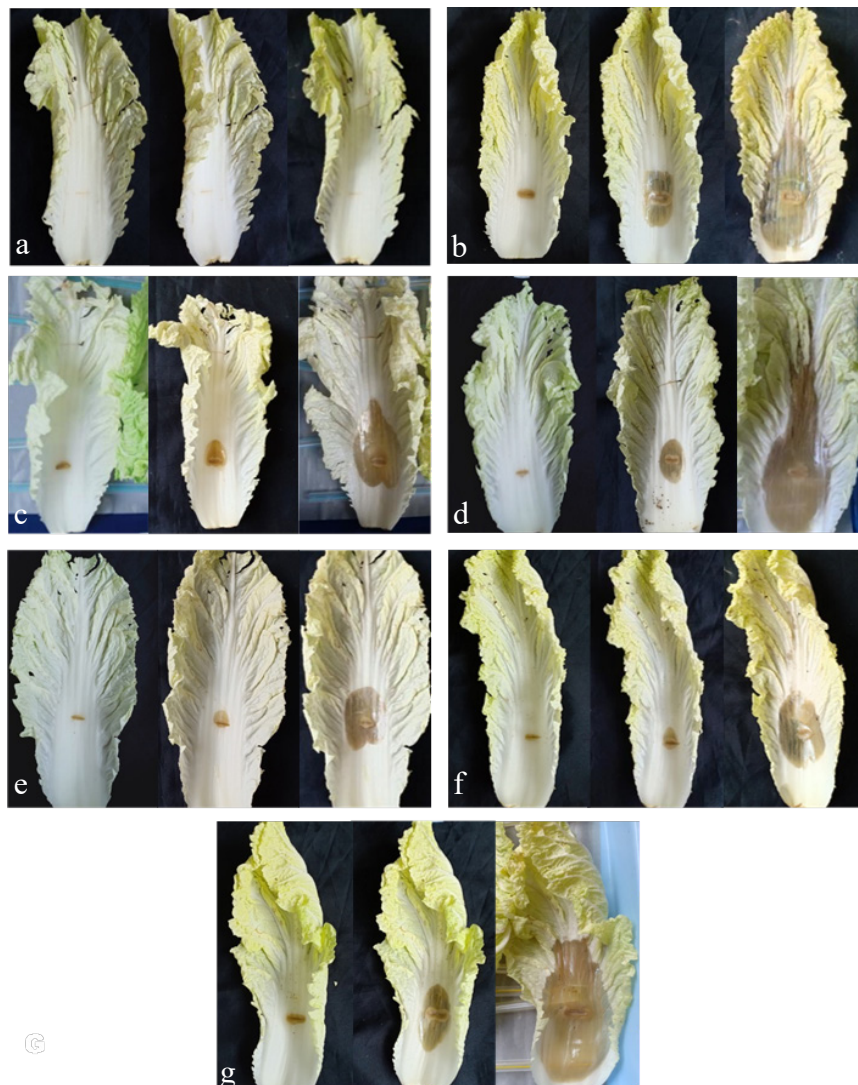
diberi galur bakteri filofser dan kontrol positif tidak berbeda nyata. Akan tetapi berdasarkan penghitungan tingkat penghambatan relatif terlihat bahwa galur TG20 menghasilkan penghambatan relatif paling tinggi terhadap lebar gejala busuk pada 24, 48, dan 72 JSI, berturut-turut 42.1%, 22.4%, dan 24.3%, sedangkan penghambatan relatif terhadap panjang gejala busuk paling tinggi dihasilkan oleh galur TG11 pada 48 dan 72 JSI, berturut-turut 45.1% dan 33.9%. Penghambatan relatif terhadap panjang gejala busuk paling tinggi dihasilkan oleh galur TG20 pada 24 JSI, yaitu sebesar 51.7%, tetapi mengalami penurunan pada 48 dan 72 JSI (Tabel 4).

Penghambatan yang dihasilkan oleh galur bakteri filofser masih rendah dibandingkan dengan streptomisin yang mencapai 100% pada 72 JSI. Galur TG20 memiliki tingkat

Tabel 3 Perkembangan lebar dan panjang gejala busuk lunak *Pectobacterium carotovorum* pada sawi putih

Galur	Lebar gejala busuk (cm) pada jam setelah inokulasi			Panjang gejala busuk (cm) pada jam setelah inokulasi		
	24	48	72	24	48	72
TG12	0.90 ab	1.69 ab	2.79 b	0.55 bc	3.46 b	8.05 b
TG11	1.04 ab	1.44 ab	2.40 b	0.49 bc	1.90 ab	5.32 ab
S33	1.20 ab	2.05 ab	3.13 b	1.03 d	2.86 b	6.85 b
BG7	0.94 ab	1.54 ab	2.48 b	0.48 bc	2.45 ab	4.22 ab
TG20	0.70 ab	1.25 ab	1.84 ab	0.28 ab	1.78 ab	4.39 ab
TG16	1.22 ab	1.87 ab	3.45 b	0.74 cd	2.65ab	5.59 ab
Streptomisin	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
Kontrol + (patogen tanpa biokontrol)	1.21 ab	1.61 ab	2.43 b	0.58 bc	2.25 ab	4.64 ab

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada α 5%



Gambar 2 Perkembangan gejala busuk lunak *Pectobacterium carotovorum* pada daun sawi putih setelah 24, 48, dan 72 JSI. a, pembandingan streptomisin; b, kontrol positif bakteri *P. carotovorum*; c, isolat TG20; d, isolat TG12; e, isolat TG11; f, isolat BG7; dan g, isolat S33.

penghambatan relatif paling tinggi di antara galur-galur bakteri rizosfer terhadap perkembangan gejala busuk lunak hingga 72 JSI (Tabel 4).

bahwa galur TG11 dan TG20 memiliki tingkat kemiripan berturut-turut sebesar 86% dan 91% dengan bakteri *Chryseobacterium* sp. (Tabel 5).

Karakteristik dan Identitas Bakteri Filosfer Potensial

Berdasarkan tingkat penghambatan relatif maka galur TG11 dan TG20 merupakan galur yang potensial sebagai agens pengendali penyakit busuk lunak. Galur TG11 memiliki koloni berwarna kuning bening, bentuk bulat, tepi rata, dan elevasi timbul. Koloni galur TG20 berwarna kuning keputihan, bentuk menyebar tidak beraturan, tepi koloni bergelombang, dan elevasi datar. Penyejajaran urutan basa nukleotida hasil sikuensing gen 16S rRNA dengan data pada GeneBank menunjukkan

PEMBAHASAN

Bakteri filosfer kubis adalah kelompok bakteri yang potensial menjadi agens pengendali penyakit busuk lunak pada tanaman sawi putih. Bakteri filosfer yang digunakan dalam penelitian ini antara lain memiliki mekanisme antibiosis dalam menghambat *P. carotovorum*. Antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri berperan sebagai metabolit sekunder dan menghambat pertumbuhan atau aktivitas metabolisme mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah (Prihatiningsih *et al.* 2015).

Tabel 4 Penghambatan relatif bakteri rizosfer terhadap perkembangan gejala penyakit busuk lunak (*Pectobacterium carotovorum*) pada daun sawi putih

Galur	Penghambatan lebar gejala busuk (%) pada jam setelah inokulasi			Penghambatan panjang gejala busuk (%) pada jam setelah inokulasi		
	24	48	72	24	48	72
TG12	26.2	9.6	19.1	25.7	00.0	00.0
TG11	00.0	14.8	14.0	10.9	45.1	33.9
S33	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0
BG7	9.6	00.0	00.0	2.0	00.0	20.7
TG20	42.1	22.4	24.3	51.7	20.9	5.4
TG16	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0
Streptomisin	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Kontrol +	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0

Keterangan: kontrol +, bakteri *P. carotovorum*

Tabel 5 Hasil analisis homologi urutan nukleotida gen 16S rRNA isolat bakteri filosfer TG11 dan TG20 dengan data pada Genebank database

Galur	Spesies homolog	Quent query (%)	Kemiripan (%)	No akses
TG11	<i>Chryseobacterium</i> sp. E1771	99	91	KY270506.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. E1671	99	91	KY270505.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. E1571	99	91	KY270504.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. E1571	99	91	KY117480.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. TFB 16S	99	91	HQ895718.1
TG20	<i>Chryseobacterium</i> sp. CH4	99	86	GU353111.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. CP4D3-03	99	86	MK534064.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. CP4D3-02	99	86	MK534063.1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. G972	99	86	LT161886.1
	<i>Chryseobacterium indologenes</i> FDAARGOS 510	99	86	CP033828.1

Sebanyak enam galur bakteri filosfer menunjukkan aktivitas penghambatan dengan mekanisme antibiosis secara *in vitro*, tetapi hanya galur TG11 dan TG20 yang dapat menghambat perkembangan panjang dan lebar gejala busuk lunak secara *in vivo* hingga 72 JSI, sedangkan dua galur lain—TG12 dan BG7—hanya mampu menghambat perkembangan lebar atau panjang gejala saja. Kemampuan penghambatannya menurun sejalan dengan pertambahan waktu. Hal itu kemungkinan disebabkan oleh bakteri filosfer yang hanya bekerja di permukaan daun sawi putih, jika bakteri *P. carotovorum* sudah masuk ke dalam jaringan tanaman maka bakteri filosfer sudah tidak mampu menekan perkembangan patogen. Guna mengatasi keterbatasan tersebut, dapat dicoba untuk dilakukan kombinasi perlakuan di antara galur-galur bakteri filosfer tersebut atau kombinasi dengan bakteri lain yang bersifat endofit.

Hasil identifikasi secara molekuler menunjukkan bahwa galur TG11 dan TG20 menunjukkan kemiripan dengan *Chryseobacterium* sp.. Genus *Chryseobacterium* dapat ditemukan pada berbagai lingkungan, antara lain rizosfer (Montero-Calasanz *et al.* 2014) dan air tawar (Zhang *et al.* 2020). Saat ini dilaporkan bahwa genus *Chryseobacterium* memiliki galur yang berasosiasi dengan tanaman sebagai pemacu pertumbuhan (Montero-Calasanz *et al.* 2014; Sang *et al.* 2018; Yoo *et al.* 2020). Bakteri ini juga mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder *microbiol biological control agents*, seperti enzim 2,4-diacetylphloroglucinol, yang berfungsi sebagai antimikroorganisme terhadap suatu patogen *microbe-associated molecular pattern* (Pieterse *et al.* 2014).

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dua galur bakteri filosfer kubis memiliki potensi menghambat perkembangan penyakit busuk lunak pada sawi putih. Penghambatan relatif terhadap lebar dan panjang gejala busuk paling tinggi pada 24 JSI berturut-turut mencapai 42.1% dan 51.7% sedangkan pada 72 JSI berturut-turut mencapai 24.3% dan 33.9%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarado ICM, Michereff SJ, Mariano RLR, Souza EB, Quezado-Duval AM, Resende LV, Cardoso E, Mizubuti ESG. 2011. Characterization and variability of soft rot-causing bacteria in chinese cabbage in north eastern Brazil. *Journal of Plant Pathology*. 93(1):173–181.
- Barbin KB, Secretaria LB, Bayogan ERV, Lacap AT, Ekman JH. 2018. Efficacy of guava and mangosteen extracts in reducing soft rot (*Pectobacterium carotovorum*) in harvested Chinese cabbage. *Acta Horticulturae*. 1205:619–624. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1205.46>.
- Benitez M, Benitez JKM. 2018. Potential postharvest botanical extract on bacterial soft rot of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *Acta Horticulturae*. 1213:619–624. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1213.94>.
- Bernal GM, Cordova AI, Saucedo PE, Gonzalez CM, Medina MR, Suastegui JM. 2015. Isolation in vitro selection of actinomycetes strains as potential probiotics for aquaculture. *Veterinary World*. 8(2):170–176. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.170-176>.
- Cui W, He P, Munir S, He P, He Y, Li X, Yang L, Wang B, Wu Y, He P. 2019. Biocontrol of soft rot of Chinese cabbage using an endophytic bacterial strain. *Frontiers in Microbiology* 10:1–12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01471>.
- DaSilva Felix KC, daSilva CL, deOliveira WJ, de Lima Ramos Mariano R, de Souza EB. 2016. Calcium-mediated reduction of soft rot disease in Chinese cabbage. *European Journal of Plant Pathology* 147(1):73–84. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0980-0>.
- Fahey JW. 2016. Brassica: Characteristics and properties. *Encyclopedia of Food and Health*. 469–477. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00083-0>.
- Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaun JS, Wilson BA, Olsen GJ. 2008. Critical

- evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Applied Environmental Microbiology*. 74(8):2461–2470. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07>.
- Gerayeli N, Baghaee-Ravari S, Tarighi S. 2017. Evaluation of the antagonistic potential of *Bacillus* strains against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and their role in the induction of resistance to potato soft rot infection. *European Journal of Plant Pathology*. 150(4):1049–1063. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1344-0>.
- Kang JE, Han JW, Jeon BJ, Kim BS. 2016. Efficacies of quorum sensing inhibitors, piericidin A and glucopiericidin A, produced by *Streptomyces xanthocidicus* KPP01532 for the control of potato soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Microbiological Research*. 184:32–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.005>.
- Lee DH, Lim JA, Lee J, Roh E, Jung K, Choi M, Oh C, Ryu S, Yun J, Heu S. 2013. Characterization of genes required for the pathogenicity of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc21 in Chinese cabbage. *Microbiology*. 159(7):1487–1496. DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.067280-0>.
- Lee S, Vu NT, Oh EJ, Rahimi-Midani A, Thi TN, Song YR, Hwang IS, Choi TJ, Oh CS. 2021. Biocontrol of soft rot caused by *Pectobacterium odoriferum* with bacteriophage phippccp-1 in kimchi cabbage. *Microorganisms*. 9(4):779. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040779>.
- Mandang R, Assa B, Sualang DS. 2016. Efektivitas *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) dan *Pseudomonas fluorescens* dalam menghambat penyakit busuk lunak pada tanaman kubis bunga (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L). *Cocos*. 7(7):1–9. DOI: <https://doi.org/10.35791/cocos.v7i7.13930>.
- Mohammed MJ, Selman ED. 2013. Detection of local *Erwinia* isolated causing in potato by using DNA amplification by polymerase chain reaction technique (PCR). *Al-Nahrain Journal of Science*. 16(3):224–229. DOI: <https://doi.org/10.22401/JNUS.16.3.31>.
- Montero-Calasanz MC, Goker M, Rohde M, Sproer C, Schumann P, Busse HJ, Schmid M, Klenk HP, Tindall BJ, Camacho M. 2014. *Chryseobacterium oleae* sp. nov., an efficient plant growth promoting bacterium in the rooting induction of olive tree (*Olea europaea* L.) cuttings and emended descriptions of the genus *Chryseobacterium*, *C. daecheongense*, *C. gambrini*, *C. gleum*, *C. joostei*, *C. jejuense*, *C. luteum*, *C. shigense*, *C. taiwanense*, *C. ureilyticum* and *C. vrystaatense*. *Systematic and Applied Microbiology*. 37:342–350. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.04.004>.
- Penuelas J, Terradas J. 2014. The foliar microbiome. *Trends in Plant Science*. 19(5):278–280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.007>.
- Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, van Wees SCM, Bakker PAHM. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*. 52:347–375. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>.
- Portier P, Pedron J, Taghouti G, Fisher-Le Saux M, Caullireau E, Bertrand C, Laurent A, Chawki K, Oulgazi S, Moumni M, Andrivon D, Dutrieux C, Faure D, Helias V, Barny MA. 2019. Elevation of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* to species level as *Pectobacterium odoriferum* sp. nov., proposal of *Pectobacterium brasiliense* sp. nov. and *Pectobacterium actinidiae* sp. nov., emended description of *Pectobacterium carotovorum* and description of *Pectobacterium versatile* sp. nov., isolated from streams and symptoms on diverse plants. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*. 69:3207–3216. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003611>.
- Prihatiningsih N, Arwiyanto T, Hadisutrisno B, Widada J. 2015. Mekanisme antibiosis

- Bacillus subtilis* B315 untuk pengendalian penyakit layu bakteri kentang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 15(1):64–71. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.11564-71>.
- Putra C, Giyanto. 2014. Kompatibilitas *Bacillus* spp. dan aktinomiset sebagai agens hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan pemacu pertumbuhan padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10(5):160–169. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.10.5.160>.
- Raoul des Essarts Y, Cigna J, Quêtu-Laurent A, Caron A, Munier E, Beury-Cirou A, Helias V, Faure D. 2015. Biocontrol of the potato blackleg and soft rot diseases caused by *Dickeya dianthicola*. *Applied Environmental Microbiology*. 82(1):268–278. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02525-15>.
- Sang MK, Jeong JJ, Kim J, Kim KD. 2018. Growth promotion and root colonisation in pepper plants by phosphate-solubilising *Chryseobacterium* sp. strain ISE14 that suppresses Phytophthora blight. *Annals of Applied Biology*. 172(2):208–223. DOI: <https://doi.org/10.1111/aab.12413>.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Ed ke-3. Minnesota (US): The American Phytopathological Society.
- Sharma R, Gupta A. 2014. Differentiation of oral Streptococcal species by haemolysis in blood agar medium in vitro. *International Journal of Engineering and advanced Technology (IJEAT)*. 3(4):143–144. <https://www.ijeat.org/portfolio-item/d2934043414/> [diunduh 22 Juni 2022].
- Stone BWG, Weingarten EA, Jackson CR. 2018. The role of the phyllosphere microbiome in plant health and function. *Annual Plant Reviews Online*. 1(2):1–24. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0614>.
- Turner TR, James EK, Poole PS. 2013. The plant microbiome. *Genome Biology* 14(6):209. DOI: <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-209>.
- Yoo SJ, Weon HY, Song J, Sang MK. 2020. Effects of *Chryseobacterium soldanellicola* T16E-39 and *Bacillus siamensis* T20E-257 on biocontrol against phytophthora blight and bacterial wilt and growth promotion in tomato plants. *International Journal of Agriculture & Biology*. 23:534–540. DOI: [10.17957/IJAB/15.1320](https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1320).
- Zarpelon TG, Guimarães LMdaS, Alfenas-Zerbini P, Lopes ES, Mafia RG, Alfenas AC. 2016. Rhizobacterial characterization for quality control of eucalyptus biogrowth promoter products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 47(4):973–979. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.013>.
- Zhang J, Gao C, Yu XM, Lun HY, Du ZJ. 2020. *Chryseobacterium lacus* sp. nov. isolated from the surface water of two lakes with light-induced carotenoid production. *Frontiers in Microbiology* 11:251. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00251>.