

Komposisi Bakteri Fungsional pada Tanah Supresif dan Kondusif Layu Fusarium pada Tanaman Cabai

Composition of Functional Bacteria on Suppressive and Conducive Soil for Fusarium Wilt on Chilli

Khansa Amara¹, Giyanto¹, Widodo^{1*}, I Made Sudiana²

¹Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680

²Pusat Penelitian Biologi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)
Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46, Bogor, 16911

(diterima Juli 2023, disetujui November 2023)

ABSTRAK

Fenomena tanah supresif telah banyak dikaji sebagai metode pengendalian penyakit tanaman alami di lapangan dan dicirikan dengan banyaknya sejumlah mikrob fungsional yang mampu menekan populasi patogen. Penelitian ini bertujuan mengetahui dan membandingkan komposisi bakteri fungsional pada tanah supresif dan kondusif layu fusarium. Metode penelitian terdiri atas pengambilan sampel tanah di lapangan, isolasi bakteri fungsional dari sampel tanah supresif (TS) dan kondusif (TK), penghitungan populasi dan jenis bakteri, penapisan berdasarkan keamanan hayati, dan karakterisasi bakteri fungsional dalam menekan *Fusarium oxysporum*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi bakteri pada TS lebih tinggi dibandingkan TK, khususnya bakteri toleran panas dan *Pseudomonas* kelompok fluorescent. Hal ini didukung dengan tingginya nilai keanekaragaman bakteri fungsional pada TS ($H' 3.70 > 3$) dibandingkan TK yang tergolong sedang ($1 < H' 2.07 < 3$), dengan sebaran bakteri fungsional tergolong hampir merata dan tidak ditemukan adanya dominansi jenis tertentu pada TS maupun TK. Persentase bakteri nonpatogenik pada TS lebih tinggi dibandingkan TK, masing-masing 51% dan 23%. Bakteri tersebut berpotensi sebagai *plant growth promoting bacteria* (PGPB) dengan memproduksi IAA atau melarutkan fosfat saja, masing-masing 24% dan 10% pada TS, sedangkan pada TK masing-masing 14% dan 29%. Hanya bakteri yang berasal dari tanah supresif yang mampu memproduksi IAA sekaligus melarutkan fosfat dengan persentase sebanyak 48%.

Kata kunci: IAA, keanekaragaman bakteri, pelarut fosfat, populasi bakteri, perkecambahan benih

ABSTRACT

The phenomenon of suppressive soil has been widely studied to control plant diseases in the field. Suppressive soil is characterized by its contain of functional microbes that can suppress pathogen populations. This study aims to determine and compare the composition of functional bacteria on suppressive and conducive soil of fusarium wilt. The research method consists of soil sampling in the field, isolation of functional bacteria from suppressive soil (SS) and conducive soil (CS) samples, calculation of bacterial population and type, biosafety screening, and characterization of functional

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper. Kampus IPB Dramaga. Bogor 16680.
Telp: 0251-8629364. Email: widodo@apps.ipb.ac.id.

bacteria in suppressing of *Fusarium oxysporum*. The results showed that the bacterial population in SS was higher than those in CS, especially for heat-tolerant bacteria and the fluorescent *Pseudomonads*. The high population of bacteria is supported by the high value of functional bacterial diversity in SS ($H' 3.70 > 3$) compared to CS, which is classified as medium ($1 < H' 2.07 < 3$), with the distribution of functional bacteria classified as almost evenly distributed and no dominance of certain types in SS and CS. The percentage of nonpathogenic bacteria in SS is higher than in CS, i.e. 51% and 23%, respectively. These bacteria have potential as *plant growth promoting bacteria* (PGPB) by producing IAA or dissolving phosphate alone of 24% and 10%, respectively in suppressive soils; and of 14% and 29%, respectively in conducive soils. Only bacteria derived from suppressive soils were able to produce IAA while dissolving phosphate with a percentage of as much as 48%.

Keywords: bacterial diversity, bacterial population, IAA, phosphate solvent, seed germination

PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annum*) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang sering dibudidayakan oleh petani karena memiliki nilai ekonomis tinggi. Produksi tanaman cabai nasional pada tahun 2021 mampu mencapai 1.4 juta ton dengan rincian 1.36 juta ton cabai besar dan 1.38 juta ton cabai rawit (BPS 2021). Namun, tingginya produksi tanaman tersebut belum mampu memenuhi permintaan pasar, baik dalam skala rumah tangga maupun industri.

Upaya pemenuhan kebutuhan pasar terhadap cabai tidak terlepas dari praktik budi daya di lapangan. Kegiatan budi daya tanaman cabai masih didominasi oleh pemanfaatan agrokimia sintetis, salah satunya adalah aplikasi pestisida sintentik yang berpengaruh terhadap keragaman mikrob tanah, ketidakcukupan, dan ketidakseimbangan asupan nutrisi antara aplikasi pestisida sintentik dan pupuk anorganik. Ketidakseimbangan tersebut mampu menurunkan kandungan C-organik tanah sehingga berakibat pada penurunan kesehatan tanah. Somala *et al.* (2019) melaporkan bahwa meningkatnya kadar bahan organik tanah mampu menekan indeks perkembangan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* pada tanaman pisang. Bahan organik berperan sebagai sumber energi bagi mikrob tanah untuk menjalankan aktivitas metabolismenya. Kesehatan tanah yang rendah berpotensi dalam meningkatkan insidensi penyakit pada tanaman.

Fenomena tanah supresif telah lama dikenal sebagai mekanisme pengendalian penyakit tular tanah alamiah di lapangan. Tanah supresif layu fusarium dicirikan dengan tanah yang didominasi sejumlah mikrob fungsional melalui mekanisme tertentu yang menjadikan tanah sehat (*healthy soils*) dan menopang kehidupan tanaman (Yuan *et al.* 2021). Bakteri fungsional merupakan salah satu kelompok mikrob tanah dengan populasi paling beragam dan melimpah yang bertindak sebagai indikator kesehatan tanah, baik itu menguntungkan (*beneficial microbes*) maupun merugikan (*deleterious microbes*) (Gans *et al.* 2005).

Kelompok bakteri menguntungkan di antaranya memiliki kemampuan sebagai penambat N_2 , pelarut fosfat, pengkhelat Fe^{2+} , dan penghasil fitohormon, seperti IAA, giberelin, sitokinin, dan etilen (Salamat *et al.* 2021). Selain itu, beberapa bakteri juga berperan sebagai antagonis penyakit layu fusarium maupun sebagai penginduksi sistem ketahanan. Informasi terkait komposisi dan karakter fungsional bakteri tanah melalui beberapa mekanisme tersebut penting diketahui terkait potensinya sebagai antagonis maupun pemacu pertumbuhan tanaman/PGPB (*plant growth promoting bacteria*).

PGPB mendukung pertumbuhan tanaman secara langsung melalui sekresi berbagai jenis metabolit dan hormon, melarutkan mineral, serta meningkatkan penyerapan hara makro maupun mikro yang diperlukan tanaman; sedangkan melalui mekanisme tidak langsung PGPB melindungi tanaman dari infeksi

patogen (Poria *et al.* 2022). Dengan diketahuinya peran bakteri fungsional pada tanah supresif maupun kondusif dapat meningkatkan efektivitas penggunaan pupuk, baik organik maupun anorganik, karena bakteri memiliki mekanisme yang mampu menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman. Penelitian ini bertujuan mengetahui komposisi bakteri fungsional pada tanah supresif dan kondusif, beserta kemampuannya dalam menekan insidensi penyakit layu fusarium pada tanaman cabai.

BAHAN DAN METODE

Penelitian terdiri atas 2 tahap, yaitu pengambilan sampel tanah supresif (Dusun Gentor, Candirejo, Kec. Ponggok) dan kondusif (Dusun Kalicilik, Candirejo, Kec. Ponggok) pada lahan cabai milik petani di Kabupaten Blitar, Jawa Timur dan analisis komposisi bakteri pada masing-masing sampel tanah di Laboratorium Mikologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor.

Pengambilan Sampel Tanah di Lapangan

Sampel tanah supresif (TS) diambil di lahan cabai yang menunjukkan gejala keparahan penyakit layu fusarium rendah, sedangkan sampel tanah kondusif (TK) diambil di lahan tanaman cabai dengan gejala keparahan penyakit cenderung berat. Sampel tanah diambil secara *purposive sampling* mengikuti Turrini *et al.* (2017) yang dimodifikasi pada bagian kedalaman pengambilan sampel, yaitu 0-20 cm. Setiap lahan TS dan TK diwakili oleh lima titik tanah kemudian dikompositkan yang dibedakan berdasarkan kategori supresif dan kondusif. Selanjutnya, sampel tanah dimasukkan ke dalam *cool box* untuk menjaga kelembapannya hingga dapat dianalisis di laboratorium.

Isolasi Bakteri Tanah pada Berbagai Medium Tumbuh

Isolasi bakteri tanah pada medium AN (agar-agar nutrien), TSA (*tryptic soy agar*), King's B, dan WYE (*water yeast extract*) bertujuan mengetahui populasi dan jenis

bakteri universal, toleran panas, *Pseudomonas* kelompok *fluorescent*, dan aktinomisetes yang terdapat pada tanah supresif dan kondusif. Beberapa kelompok bakteri yang diisolasi dari tanah supresif dan kondusif tersebut, diharapkan dapat diketahui peran fungsionalnya sebagai agens hayati penyakit layu fusarium tanaman cabai. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran berseri untuk mempermudah pengamatan dan penghitungan koloni bakteri. Suspensi hasil pengenceran kemudian ditumbuhkan pada masing-masing jenis medium tumbuh menggunakan metode cawan sebar dan dilakukan secara "duplo" pada setiap pengenceran.

Sampel tanah dari masing-masing lokasi ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer berisi air destilata steril 100 mL (10^0 atau biang), kemudian dihomogenkan menggunakan *shaker* selama 15 menit. Sebanyak 1 mL suspensi sebelumnya diambil menggunakan mikropipet dan dipindahkan pada tabung reaksi steril berisi air destilata steril 9 mL (10^{-1}) kemudian dihomogenkan menggunakan vortek. Langkah tersebut dilakukan hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Suspensi hasil pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-6} diambil sebanyak 100 μ L (Arana *et al.* 2013), kemudian disebar secara merata dengan *L spreader* pada medium AN, King's B, dan WYE, sedangkan suspensi yang ditumbuhkan pada medium TSA dipanaskan terlebih dahulu menggunakan *water bath* pada suhu 80 °C selama 15 menit (Nawangsih *et al.* 2014; Giyanto *et al.* 2016).

Analisis Populasi Bakteri

Kelimpahan bakteri yang terdapat pada tanah supresif dan kondusif dihitung dari banyaknya populasi dan jenis bakteri yang tumbuh pada masing-masing medium. Perhitungan kelimpahan bakteri dilakukan pada koloni bakteri berumur 24 jam yang tumbuh pada setiap medium menggunakan metode *total plate count* (TPC). Populasi yang tumbuh pada masing-masing medium kemudian dihitung reratanya untuk mengetahui rataan populasi bakteri pada tanah supresif dan kondusif.

Komposisi bakteri pada tanah supresif dan kondusif dilakukan dengan analisis keanekaragaman berdasarkan karakter morfologi makroskopis yang tumbuh pada masing-masing medium tumbuh, kemudian juga dilakukan analisis pemerataan, dan dominansi. Dengan begitu, dapat diketahui apakah terdapat atau tidaknya dominansi dari bakteri jenis tertentu yang menempati relung tanah supresif dan kondusif. Komposisi bakteri berdasarkan keanekaragaman morfologi makroskopis, pemerataan, dan dominansi ditentukan menggunakan indeks Shannon-Wiener (Shannon dan Weaver 1949), Pielou (Pielou 1977), dan Simpson (Simpson 1949). Setelah didapatkan nilai masing-masing indeks, kemudian dikategorikan berdasarkan rendah, sedang, dan tinggi. Berikut rumus masing-masing perhitungan indeks bakteri dan kategorinya:

$$H' = - \sum_{i=1}^n \left[\frac{n_i}{N} \times \ln \left(\frac{n_i}{N} \right) \right], \text{ dengan}$$

H' , indeks keanekaragaman Shannon-Wiener; n_i , jumlah individu bakteri ke- i ; N , jumlah total individu bakteri. Nilai H' dapat digolongkan berdasarkan kriteria berikut: $H' > 3$, keanekaragaman tinggi; $1 < H' < 3$, keanekaragaman sedang; $H' < 1$, keanekaragaman rendah.

$$E = \frac{H'}{\ln(S)}, \text{ dengan}$$

E , indeks pemerataan Pielou; H' , indeks keanekaragaman; S , jumlah jenis bakteri. Nilai E dapat digolongkan berdasarkan kategori sebagai berikut: 0.00–0.25, tidak merata; 0.26–0.50, kurang merata; 0.51–0.75, cukup merata; 0.76–0.95, hampir merata; 0.96–1.00, merata.

$$C = \sum_{i=1}^n \left(\frac{n_i}{N} \right)^2, \text{ dengan}$$

C , indeks dominansi Simpson; n_i , jumlah individu jenis bakteri ke- i ; N , jumlah total individu. Kategori indeks dominansi Simpson (C) adalah sebagai berikut: $0 < C \leq 0.5$, dominansi rendah; $0.5 < C \leq 0.75$, dominansi sedang; $0.75 < C \leq 1$, dominansi tinggi.

Penapisan Berdasarkan Keamanan Hayati

Uji keamanan hayati dilakukan untuk mengetahui komposisi bakteri patogen maupun non patogen pada tanaman dan mamalia yang menempati relung tanah supresif dan kondusif. Bakteri hasil isolasi tanah supresif dan kondusif yang menunjukkan karakter makroskopis berbeda pada masing-masing medium tumbuh, dimurnikan pada medium AN, kemudian dilakukan uji penapisan keamanan hayati. Adapun metode pengujian-nya berupa uji aktivitas hemolisis pada medium agar-agar darah dan uji hipersensitifitas pada daun tembakau.

Uji hemolisis. Isolat bakteri berumur 24 jam digoreskan pada medium agar-agar darah (agar darah 40 g L⁻¹ dan darah kambing steril 70 mL L⁻¹). Masing-masing cawan petri kemudian diinkubasikan selama 24–48 jam pada suhu 37 °C. Pengamatan dilakukan terhadap aktivitas hemolisis yang ditandai dengan pembentukan zona bening di sekitar isolat. Zimbro *et al.* (2009) melaporkan bahwa terdapat 3 tipe aktivitas hemolisis suatu mikroba, yaitu hemolisis alfa (α), beta (β), dan gamma (γ). Alfa (α) hemolisis ditandai dengan diskolorisasi medium menjadi kehijauan di sekitar koloni karena adanya aktivitas lisis parsial oleh hemolisin sehingga terjadi reduksi hemoglobin menjadi met hemoglobin. Beta (β) hemolisis ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni sebagai akibat hemolisis total sel darah merah oleh hemolisin. Berbeda dengan tipe hemolisis sebelumnya, gamma (γ) hemolisis tidak ditemukan adanya zona bening pada medium agar-agar darah, karena tidak terdapat aktivitas destruktif sel darah merah oleh hemolisin sehingga tidak terdapat perubahan warna pada medium. Isolat dengan aktivitas hemolisis negatif/hemolisis gamma digunakan untuk pengujian lebih lanjut (Badriyah dan Ardyati 2013).

Uji hipersensitifitas. Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium nutrisi cair dan diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Suspensi bakteri dalam medium cair tersebut diambil sebanyak 1 mL menggunakan jarum suntik steril, kemudian

diinjeksikan ke bagian abaksial daun tembakau secara perlahan. Reaksi hipersensitif diamati pada 24–48 jam setelah inokulasi dan diamati ada tidaknya gejala nekrosis. Isolat yang menunjukkan gejala nekrosis tidak digunakan untuk pengujian selanjutnya (Schaad *et al.* 2001).

Karakterisasi Bakteri berdasarkan Kemampuan Fungsional dalam Menekan Penyakit Layu Fusarium

Karakterisasi kemampuan fungsional bakteri pada masing-masing tanah supresif dan kondusif dinilai berdasarkan kemampuan secara langsung maupun tidak langsung dalam menekan infeksi *F. oxysporum* sebagai penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman cabai. Mekanisme langsung diwakili dengan ada tidaknya aktivitas antibiosis bakteri terhadap *F. oxysporum*; sedangkan mekanisme tidak langsung berupa kemampuannya dalam memproduksi hormon IAA, pelarutan fosfat, dan pereduksi mangan dioksida. Bakteri dengan karakter fungsional tersebut dihitung persentasenya untuk mengetahui komposisi bakteri fungsional yang terdapat pada tanah supresif dan kondusif.

Uji kemampuan memproduksi hormon IAA. Penilaian karakter bakteri dalam memproduksi IAA dilakukan secara kualitatif menggunakan metode Glickmann dan Dessaux (1995). Biakan bakteri hasil isolasi dari tanah perakaran diinokulasikan ke dalam medium nutrisi cair yang mengandung 0.5 g L⁻¹ L-Tryptophan kemudian diinkubasi menggunakan inkubator bergoyang (*shaker*) selama 24–48 jam pada kecepatan 100 rpm. Biakan bakteri berumur 24–48 jam selanjutnya dipindahkan pada tabung mikro kemudian disentrifugasi menggunakan *microcentrifuge* pada kecepatan 10 000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung mikro yang telah berisi reagen Salkowski dengan perbandingan 1:1, kemudian ditempatkan pada ruang gelap selama 30 menit pada suhu ruang. Reagen Salkowski terdiri atas 1 mL 0.5 M FeCl₃ dan 50 mL HClO₄ 50% (v/v). Selanjutnya, suspensi tersebut disimpan dalam botol tidak tembus cahaya

atau dibungkus dengan *aluminium foil* (Gordon dan Weber 1951). Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna medium uji dan dikategorikan berdasarkan kepekatan warnanya. Penilaian kualitatif dilakukan dengan memberikan skoring 0, 1, 2, dan 3 masing-masing untuk suspensi yang tidak mengalami perubahan warna, jingga, merah muda, dan merah.

Uji kemampuan mereduksi Mangan (MnO₂). Uji ini mengikuti metode Ijaz *et al.* (2021) yang dimodifikasi menggunakan medium AN yang diperkaya dengan 0.125 M MnO₂. Kemampuan bakteri dalam melarutkan MnO₂ ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri.

Uji kemampuan melarutkan fosfat. Pengujian dilakukan mengikuti cara Agustiyani (2016) dengan menggoreskan biakan bakteri berumur 24–48 jam pada cawan petri yang telah berisi medium agar Pikovskaya (PVK), kemudian diinkubasi pada suhu ruang (± 25 °C) selama 24–120 jam. Reaksi positif ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni bakteri yang digoreskan pada medium.

Uji potensi pemacuan pertumbuhan tanaman. Uji ini dilakukan secara “duplo” menggunakan benih cabai yang diberi perlakuan suspensi bakteri hasil penapisan berdasarkan keamanan hayati. Sebanyak 50 benih cabai setiap perlakuan disterilisasi permukaan menggunakan alkohol 70% dan NaOCl 3% selama 1 menit, kemudian dibilas air steril dan dikeringkan menggunakan tisu steril. Selanjutnya, benih cabai direndam dalam suspensi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator bergoyang. Sebagai kontrol, benih cabai direndam dalam medium nutrisi cair tanpa isolat bakteri. Selanjutnya, benih tersebut diamati daya berkecambah dan kemampuan tumbuh (indeks vigor) menggunakan uji kertas digulung dan didirikan dalam plastik (UKDdp) dengan tiap unit perlakuan terdiri atas 25 benih cabai sehingga setiap isolat bakteri diwakili oleh 50 benih cabai, begitu juga dengan kontrol (ISTA 2018).

Nilai indeks vigor dihitung berdasarkan jumlah benih cabai yang berkecambah pada

umur 2 hari setelah semai (HSS) (P1), sedangkan daya berkecambah benih dihitung berdasarkan total benih berkecambah pada umur 2, 4, 6, 8, dan 10 HSS. Rumus penghitungan indeks vigor dan daya berkecambah benih merujuk pada ISTA (2018):

$$\text{Indeks vigor} = \frac{\sum P1 + P2 + P3 + P4 + P5}{N} \times 100\%$$

$$\text{Daya berkecambah} = \frac{\sum P1}{N} \times 100\%, \text{ dengan}$$

P1, pengamatan pertama (umur 2 HSS); P2, pengamatan ke-2 (umur 4 HSS); P3, pengamatan ke-3 (umur 6 HSS); P4, pengamatan ke-4 (umur 8 HSS); P5, pengamatan ke-5 (umur 10 HSS); dan N, jumlah benih yang diamati setiap unit percobaan.

Uji aktivitas antibiosis. Pengujian aktivitas ini dilakukan menggunakan metode biakan ganda antara isolat bakteri dan cendawan patogen *F. oxysporum* pada medium agar dekstroza kentang (ADK) dan AN. Pengujian pada medium ADK:AN dengan perbandingan 1:1 (v/v) bertujuan menyediakan sumber nutrisi yang sesuai untuk cendawan dan bakteri. Biakan uji diamati setiap hari selama 7 hari setelah inkubasi (HSI) berupa ada tidaknya zona bening yang muncul di sekitar bakteri uji.

Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2016 kemudian dideskripsikan menggunakan Microsoft Word 2016.

HASIL

Kelimpahan, Kemerataan, Dominansi, dan Keanekaragaman Bakteri Tanah

Populasi bakteri toleran panas dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescent* pada tanah supresif ditemukan lebih tinggi daripada tanah kondusif. Populasi bakteri toleran panas pada tanah supresif mencapai 6.20×10^8 cfu g⁻¹, sedangkan pada tanah kondusif 7.55×10^7 cfu g⁻¹. Begitu pula dengan populasi bakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescent* pada tanah supresif mencapai

1.01×10^9 cfu g⁻¹, sedangkan pada tanah kondusif hanya 2.25×10^7 cfu g⁻¹ (Tabel 1).

Keanekaragaman bakteri hasil isolasi tanah supresif berdasarkan karakter morfologi makroskopis yang tumbuh pada masing-masing medium lebih tinggi dibandingkan bakteri pada tanah kondusif. Hal ini ditunjukkan dengan tingginya nilai indeks keanekaragaman pada tanah supresif dibandingkan tanah kondusif (Tabel 2). Nilai indeks kemerataan, baik pada tanah supresif dan kondusif tergolong hampir merata, dengan indeks dominansi yang tergolong dalam kategori rendah (Tabel 2). Tingginya keanekaragaman bakteri yang terdapat pada tanah supresif dengan populasi bakteri yang hampir merata, berbanding terbalik dengan indeks dominansinya. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya dominansi dari jenis bakteri tertentu yang menempati relung tanah supresif. Haq *et al.* (2021) memperkuat bahwa nilai dominansi berbanding terbalik dengan nilai keanekaragaman. Semakin rendah nilai indeks keanekaragaman dan kemerataan populasi yang terdapat pada suatu ekosistem, maka semakin tinggi dominansi dari suatu jenis organisme pada ekosistem tersebut. Ditemukannya keanekaragaman bakteri yang terdapat pada tanah supresif, diharapkan terdapat beberapa jenis bakteri fungsional yang berperan sebagai agens hayati penyakit layu fusarium.

Hasil Penapisan Berdasarkan Keamanan Hayati

Sebanyak 28 dari 72 isolat bakteri dari hasil isolasi tanah supresif dan kondusif lolos uji penapisan berdasarkan keamanan hayati. Persentase isolat bakteri patogenik mamalia dan tumbuhan pada tanah kondusif lebih tinggi daripada tanah supresif, masing-masing 77% dan 49% (Tabel 3). Berbeda dengan tanah kondusif, bakteri yang mendominasi tanah supresif adalah bakteri nonpatogenik dengan persentase sebanyak 51%, sedangkan bakteri nonpatogenik pada tanah kondusif hanya mencapai 23%.

Isolat-isolat tersebut tidak menunjukkan adanya aktivitas lisis atau umumnya disebut

Tabel 1 Perbandingan kepadatan populasi mikrob pada tanah supresif dan kondusif layu fusarium

Sampel	Populasi bakteri tanah pada media (log cfu g ⁻¹)				Populasi bakteri (log cfu g ⁻¹)
	AN	TSA	King's B	WYE	
Tanah supresif	2.84×10 ¹¹	6.20×10 ⁸	1.01×10 ⁹	4.85×10 ⁷	7.14×10 ¹⁰
Tanah kondusif	2.02×10 ¹¹	7.55×10 ⁷	2.25×10 ⁷	1.03×10 ⁷	5.04×10 ¹⁰

Tabel 2 Kategori indeks kemerataan, dominansi, dan keanekaragaman bakteri pada tanah supresif dan kondusif

Sampel	Indeks kemerataan (E)	Kategori	Indeks dominansi (C)	Kategori	Indeks keanekaragaman (H')	Kategori
	Tanah supresif	0.91	hampir merata	0.03	rendah	3.70
Tanah kondusif	0.87	hampir merata	0.14	rendah	2.07	sedang

Tabel 3 Persentase bakteri patogenik pada tanah supresif dan kondusif layu fusarium

Asal isolat bakteri	Jumlah sampel bakteri n (%)	Bakteri patogenik n (%)	Bakteri nonpatogenik n (%)
Tanah supresif	41 (100)	20 (49)	21 (51)
Tanah kondusif	31 (100)	24 (77)	7 (23)

sebagai hemolisis gamma (γ) (Gambar 1a), sedangkan isolat yang menunjukkan aktivitas lisis, baik hemolisis alfa (α) maupun beta (β), pada medium agar darah tidak digunakan untuk pengujian selanjutnya (Gambar 1b-c) karena berpotensi sebagai patogen pada hewan dan mamalia. Selain itu, 28 isolat tersebut juga lulus uji hipersensitifitas sehingga tidak berpotensi sebagai patogen pada tanaman. Hasil negatif ditunjukkan pada Gambar 2a, sedangkan hasil positif ditunjukkan pada Gambar 2b. Isolat yang menunjukkan hasil negatif, atau tidak ditemukan adanya gejala nekrosis, digunakan untuk pengujian selanjutnya.

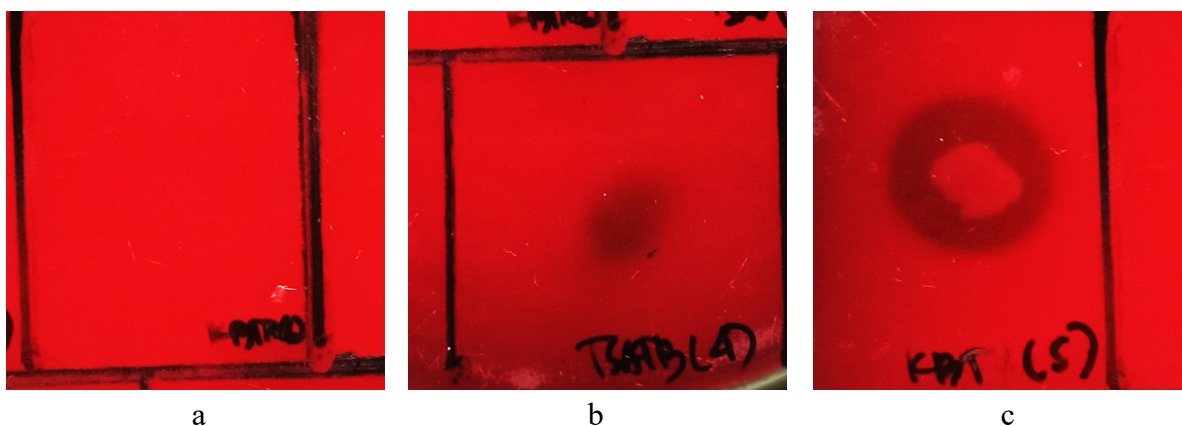
Kemampuan Bakteri sebagai Mikrob Fungsional dalam Menekan Penyakit Layu Fusarium

Sebanyak 28 isolat bakteri potensial, 21 isolat bakteri asal tanah supresif dan 7 isolat asal tanah kondusif, mampu memproduksi hormon IAA dan melarutkan fosfat saja, maupun keduanya, sedangkan tidak ditemukan adanya reaksi positif pada uji pereduksi mangan dan antibiosis. Lebih lanjut, hanya bakteri yang berasal dari tanah supresif yang memiliki kemampuan memproduksi IAA dan

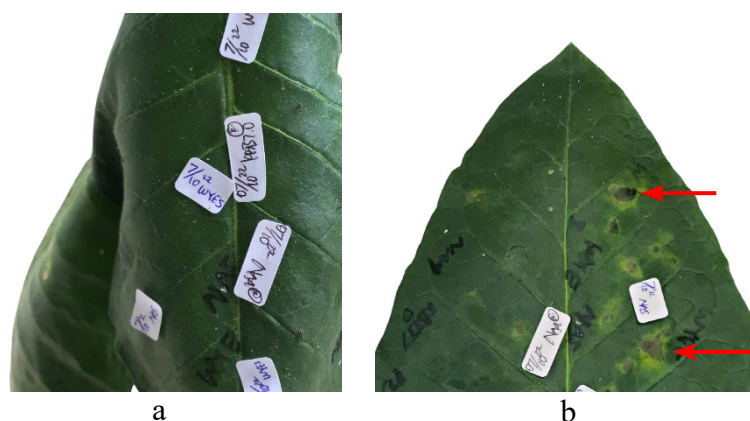
melarutkan fosfat, yaitu sebanyak 10 (48%) isolat bakteri (Tabel 4).

Sebanyak 6 isolat bakteri mampu memproduksi IAA saja pada kategori rendah dan sedang. Begitu pula dengan 4 isolat bakteri, yang terdiri atas 2 isolat tanah supresif dan 2 isolat kondusif, mampu melarutkan fosfat pada berbagai kategori. Meski begitu, tidak ditemukan kemampuan mereduksi MnO₂ dan aktivitas antibiosis oleh 28 bakteri uji (Tabel 5). Dengan tidak ditemukannya aktivitas antibiosis oleh bakteri uji dalam menekan pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* menunjukkan bahwa mekanisme bakteri sebagai mikrob fungsional dalam menekan penyakit layu fusarium didominasi dengan aktivitas tidak langsung, yaitu sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

Kemampuan bakteri dalam memacu pertumbuhan tanaman selain diuji secara *in vitro*, juga dilakukan pengujian secara *in planta* pada benih cabai untuk mengetahui kemampuannya terhadap kekuatan tumbuh benih (indeks vigor) dan daya berkecambah benih. Secara keseluruhan, semakin tinggi kemampuan bakteri sebagai agens *seed treatment* dalam memproduksi hormon IAA,



Gambar 1 Penapisan mikrob melalui uji hemolisis pada media agar darah. a, hemolisis gamma; b, alfa; dan c, beta.



Gambar 2 Penapisan mikrob melalui uji hipersensitif. a, reaksi negatif aktivitas hipersensitif, yaitu tidak terdapat gejala nekrosis dan b, reaksi positif aktivitas hipersensitif, berupa halo berwarna kuning.

Tabel 4 Peran fungsional bakteri sebagai agens hayati

Sampel	Jumlah sampel n (%)	IAA n (%)	Pelarat fosfat n (%)	IAA dan pelarat fosfat n (%)	Pereduksi MnO ₂ n (%)	Antibiosis n (%)	Tidak memiliki kelimanya* n (%)
Tanah supresif	21 (100)	5 (24)	2 (10)	10 (48)	0 (0)	0 (0)	4 (18)
Tanah kondusif	7 (100)	1 (14)	2 (29)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (57)

*Keterangan: Bakteri tidak memiliki kemampuan dalam memproduksi hormon IAA, melarutkan fosfat, IAA dan melarutkan fosfat, mereduksi MnO₂, dan aktivitas antibiosis.

maka semakin tinggi pula persentase indeks vigor dan viabilitas benih (Tabel 5).

Karakterisasi bakteri berdasarkan sifat morfologi koloni

Sebanyak 22 bakteri tergolong dalam Gram positif dan hanya 6 isolat yang tergolong dalam Gram negatif, yaitu P3, S16, KBTB1, TSATB2, WYE4, dan WYE8. Warna bakteri potensial tergolong beragam mulai dari putih, krem, kuning, oranye, hingga kuning

kehijauan. Bentuk koloni bakteri umumnya tidak beraturan hingga tampak seperti titik-titik dengan permukaan koloni rata hingga cembung, dan memiliki tepi berbentuk utuh hingga bergerigi (Tabel 6).

PEMBAHASAN

Tanah supresif telah banyak dilaporkan sebagai metode pengendalian penyakit tanaman, khususnya layu fusarium, yang

Tabel 5 Isolat bakteri asal tanah supresif dan kondusif beserta karakter fungsionalnya

No	Isolat	Asal isolat ¹	IAA ²	Pelarut fosfat ³	Pereduksi MnO ₂	Antibiosis	Indeks vigor (%)	Viabilitas benih (%)
1	KBTB1	TK	0	0	0	0	0	7.6
2	KBTB2	TK	0	4	0	0	6	36.4
3	KBTB6	TK	0	0	0	0	0	21.2
4	TSATB1	TK	0	0	0	0	18	22.8
5	TSATB2	TK	0	0	0	0	0	8.0
6	TSATB6	TK	0	4	0	0	0	9.2
7	WYETB2	TK	1	0	0	0	0	22.0
8	P0	TS	3	4	0	0	0	31.2
9	P1	TS	0	1	0	0	0	10.0
10	P2	TS	2	2	0	0	24	33.6
11	P3	TS	2	2	0	0	0	10.4
12	P4	TS	2	2	0	0	6	22.8
13	P5	TS	1	3	0	0	10	30.4
14	WYE3	TS	1	0	0	0	10	19.6
15	WYE4	TS	2	0	0	0	0	27.2
16	WYE5	TS	0	0	0	0	0	16.0
17	WYE8	TS	0	0	0	0	0	16.8
18	TSA2	TS	3	0	0	0	0	40.4
19	TSA3	TS	3	3	0	0	0	8.8
20	TSA5	TS	0	3	0	0	0	8.4
21	PDA2	TS	1	3	0	0	0	23.6
22	PDA6	TS	3	3	0	0	16	34.3
23	KB1	TS	0	0	0	0	14	20.8
24	KB7	TS	3	1	0	0	24	46.0
25	NA4	TS	0	0	0	0	2	20.2
26	NA5	TS	1	0	0	0	4	24.8
27	NA7	TS	1	3	0	0	10	31.6
28	S16	TS	1	0	0	0	8	18.0

¹Isolat bakteri asal TK merupakan isolat bakteri hasil isolasi tanah kondusif; TS merupakan isolat bakteri hasil isolasi tanah supresif

²Kategori produksi IAA: 0, tidak ada; 1, rendah; 2, moderat; 3, tinggi

³Kategori kemampuan melarutkan fosfat: 0, tidak ada; 1, rendah; 2, moderat; 3, tinggi; 4, sangat tinggi

terjadi secara alami. Umumnya setiap tanah memiliki kemampuan atau kapabilitas untuk bersifat supresif atau mampu menekan patogen tanaman, namun kemampuan tersebut sering kali dibatasi oleh beberapa faktor, salah satunya komposisi bakteri fungsional. Komposisi bakteri fungsional, baik keanekaragaman, pemerataan, dan dominansi, merupakan parameter penentu daya tekan tanah sebagai salah satu komponen biologi tanah.

Tingginya keanekaragaman bakteri fungsional pada tanah supresif, tidak hanya menekan populasi *F. oxysporum* yang ditunjukkan dengan rendahnya insidensi penyakit, tetapi juga mampu menekan populasi bakteri patogenik pada tanah. Berbeda dengan tanah kondusif yang didominasi oleh bakteri patogenik sehingga persentase bakteri potensial pada tanah tersebut tergolong rendah dan penyakit layu fusarium dapat terjadi.

Tabel 6 Karakterisasi bakteri hasil eksplorasi berdasarkan sifat Gram dan karakter morfologi koloni

No	Isolat ¹	Warna	Gram	Bentuk koloni	Permukaan koloni	Tepi koloni
1	P0	Kuning cerah	(+)	bulat	rata	berbenang
2	P1	Kuning	(+)	tidak beraturan	rata	berbelah
3	P2	Kuning-oranye	(+)	bulat	rata	utuh
4	P3	Hijau kekuningan	(-)	bulat	timbul-datar	berbelah
5	P4	Kuning	(+)	tidak beraturan	rata	berombak
6	P5	Oranye	(+)	tidak beraturan	timbul-datar	berombak
7	S16	Oranye	(-)	tidak beraturan	timbul-datar	utuh
8	KB1	Krem	(+)	titik titik	rata	utuh
9	KBTB1	Putih	(-)	tidak beraturan	timbul-datar	berombak
10	KBTB2	Krem	(+)	bulat	cembung	bergerigi
11	KBTB6	Krem	(+)	bulat	timbul-datar	berombak
12	TSATB1	Krem	(+)	bulat	cembung	utuh
13	TSATB2	Krem	(-)	bulat	rata	bergerigi
14	TSATB6	Krem	(+)	bulat	cembung	berombak
15	NA4	Oranye muda	(+)	titik titik	rata	berbenang
16	NA5	Oranye muda	(+)	titik titik	timbul-datar	berbenang
17	WYE3	Krem	(+)	bulat	melengkung	utuh
18	WYE4	Putih	(-)	kumpanan	timbul-datar	utuh
19	WYE5	Putih	(+)	bulat	cembung	utuh
20	WYE8	Putih	(-)	tidak beraturan	timbul-datar	berombak
21	TSA2	Putih	(+)	bulat	rata	bergerigi
22	TSA3	Putih	(+)	bulat	timbul-datar	berombak
23	TSA5	Krem	(+)	bulat	melengkung	berombak
24	KB7	Krem	(+)	bulat	rata	utuh
25	WYETB2	Putih	(+)	bulat	rata	utuh
26	PDA6	Kuning krem	(+)	bulat	rata	utuh
27	PDA2	Krem	(+)	tidak beraturan	rata	berombak
28	NA7	Putih	(+)	bulat	rata	berombak

Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya praktik budi daya di lapangan. Selain menggunakan pupuk kimia sintesis, petani cabai setempat juga menambahkan pupuk kandang ayam yang mampu menyediakan nutrisi makro (N, P, dan K) maupun mikro. Beberapa penelitian terdahulu membuktikan bahwa penambahan bahan organik seperti pupuk kandang ayam pada tanah budi daya berpengaruh terhadap keragaman mikrob tanah.

Sha *et al.* (2023) melaporkan bahwa lahan jagung yang diberi pupuk kandang ayam menunjukkan keragaman bakteri lebih tinggi dibandingkan kontrol, hal ini karena pupuk

kandang mampu menyediakan nitrogen, fosfat, dan nitrat yang dibutuhkan oleh bakteri dalam menjalankan aktivitas metabolismenya. Moosa *et al.* (2017) juga menambahkan bahwa kombinasi aplikasi pupuk kandang ayam dan *T. viridae* mampu meningkatkan keragaman bakteri tanah sehingga meningkatkan persentase penghambatan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan menurunkan insidensi penyakit layu fusarium pada tanaman tomat. Selain faktor budi daya di lapangan, juga terdapat faktor lain seperti umur tanaman dan kesuburan tanah. Purba (2018) melaporkan bahwa keanekaragaman dan kelimpahan bakteri pada tanah supresif lebih tinggi

daripada bakteri yang berhasil diisolasi dari tanah terinfestasi *Ganoderma boninense*, karena tanah supresif mampu menyediakan bahan organik yang dibutuhkan mikroba sebagai sumber energi pada proses dekomposisi, sedangkan tanah yang terinfestasi *G. boninense* tergolong tanaman berumur tua (generasi kedua) sehingga material organik lebih rendah dari pada tanaman berumur muda.

Penggunaan pupuk organik sebagai *input* nutrisi di lapangan dan tanah bertekstur liat cenderung meningkatkan diversitas dan kelimpahan bakteri pada lahan budi daya paprika (Qin *et al.* 2019). Perlakuan berupa aplikasi biofumigan tanaman Brassicaceae menyebabkan perubahan struktur komunitas mikroba tanah, perubahan struktur komunitas mikroba disebabkan meningkatnya populasi *Trichoderma* spp. sebagai salah satu cendawan antagonis *F. oxysporum* sehingga mampu menekan perkembangan patogen hingga 60% di rumah kaca. *Trichoderma* spp. dilaporkan sebagai salah satu cendawan yang juga berperan sebagai PGPF (*plant growth promoting fungi*) (Meng *et al.* 2018).

Kemampuan bakteri tanah sebagai PGPB (*plant growth promoting bacteria*) mampu menekan populasi patogen melalui mekanisme langsung dengan cara memproduksi senyawa yang dapat menginduksi pertumbuhan tanaman, maupun tidak langsung dengan memproduksi senyawa yang dapat menekan stress abiotik maupun biotik sehingga tanaman tetap mampu tumbuh dan berkembang secara optimal telah banyak dilaporkan. Menurut Olanrewaju *et al.* (2017), mekanisme langsung yang dimiliki PGPB dalam memacu pertumbuhan tanaman di antaranya adalah produksi auksin, ACC deaminase, sitokinin, giberelin, fiksasi nitrogen, pelarutan fosfor, dan pengkkelatan zat besi oleh bakteri siderofor; sedangkan mekanisme tidak langsung merujuk pada sifat bakteri yang menghambat fungsi satu atau lebih fitopatogen. Mekanisme tidak langsung dilakukan dengan cara produksi antibiotik, enzim pendegradasi dinding sel patogen, kompetisi, senyawa volatil organik, dan lain-lain. Ijaz *et al.* (2021) menambahkan bahwa inokulasi bakteri pereduksi MnO_2

mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung dengan cara mengubah ion-ion organik menjadi anorganik (Mn^{2+}) sehingga dapat diserap oleh tanaman. Salah satu jenis bakteri yang diketahui mampu mereduksi MnO_2 adalah *Bacillus* spp.

Isolat bakteri hasil penapisan mampu memproduksi IAA dan melarutkan fosfor meskipun tidak mampu melarutkan MnO_2 . Terdapat banyak laporan mengenai bakteri yang mampu memproduksi IAA dan menghasilkan fosfor, juga memiliki kemampuan dalam menekan penyakit layu fusarium (Khalil *et al.* 2021). Mekanisme penekanan penyakit oleh bakteri terjadi melalui perubahan fisiologi tanaman, seperti meningkatkan pemanjangan akar dan mampu menyediakan hara anorganik sehingga meningkatkan penyerapan nutrisi yang tersedia oleh akar tanaman. Selain itu, terdapat mekanisme lain dengan meningkatkan sistem ketahanan tanaman melalui produksi siderofor, ACC (*aminocyclopropane-1-carboxylic acid*) deaminase, VOC (*volatile organic compound*), dan beberapa senyawa lainnya. Yu *et al.* (2022) melaporkan bahwa mekanisme induksi ketahanan tanaman oleh beberapa spesies *Bacillus*. *Bacillus cereus* mencegah infeksi *Botrytis cinerea* dilakukan dengan memproduksi senyawa volatil *dimethyl disulfide*, *B. megaterium* menghambat pertumbuhan patogen dengan produksi siderofor sebagai pengkkelat Fe yang diperlukan untuk metabolisme cendawan *Fomes lamaoensis* penyebab busuk akar cokelat.

Hormon *indole acetic acid* (IAA) merupakan salah satu fitohormon yang berperan penting bagi pertumbuhan tanaman. Hormon ini sering disebut dengan hormon auksin meskipun terdapat beberapa senyawa sejenis yang memiliki jalur lain terkait pembentukan auksin aktif, seperti *indole-3-pyruvate*, *indole-3-acetaldehyde*, dan *indole-3-acetamide* serta bentuk auksin yang tidak aktif meliputi asam *4-kloroindol-3-asetat*, maupun bentuk lain yang dapat berkonjugasi dengan alkohol, asam amino, glikoprotein, dan gula (Korasick *et al.* 2013). IAA sebagai salah satu zat pengatur tumbuh (ZPT) yang dihasilkan oleh mikroba tanah perakaran berperan dalam

merangsang proliferasi dan pemanjangan sel akar, seperti meningkatkan pertumbuhan rambut akar, ukuran, dan jumlah akar adventif maupun lateral sehingga dapat meningkatkan peran akar dalam penyerapan air maupun hara bagi tanaman dan pertumbuhan tanaman lebih optimal (Ribeiro dan Cardoso 2012).

Kemampuan bakteri dalam memproduksi hormon IAA dalam mendukung pertumbuhan tanaman dapat dibuktikan dengan pengujian perkecambahan benih. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan perendaman benih cabai pada isolat bakteri yang mampu memproduksi IAA memiliki indeks vigor dan viabilitas benih lebih baik dibandingkan dengan benih yang tidak direndam dengan bakteri. Perkecambahan merupakan proses kompleks karena di dalamnya terjadi perubahan morfologi, fisiologi, maupun biokimia benih (Rajjou *et al.* 2012). Indikator kualitas benih untuk memenuhi fungsi agronomisnya terbagi menjadi 2, yaitu vigor benih dan viabilitas benih. Vigor benih (kekuatan dan keserempakan tumbuh) merupakan indikator pertumbuhan dan perkembangan benih normal, cepat, dan seragam pada segala kondisi, baik optimum maupun sub optimum. Sedangkan viabilitas benih merupakan total perkecambahan benih normal dibagi dengan total benih yang diamati (Tefa 2017; Lesilolo *et al.* 2018).

Selain hormon IAA, fosfat merupakan hara makro yang dibutuhkan dalam jumlah banyak oleh tanaman akan tetapi ketersediaannya sering kali terbatas. Terbatasnya ketersediaan tersebut, terjadi karena fosfat yang tersedia masih dalam bentuk organik, sedangkan tanaman membutuhkan dalam kondisi anorganik sehingga bakteri pelarut fosfor hadir untuk mengonversi P_2O_5 menjadi $H_2PO_4^-$ dan HPO_4^{2-} . Fosfat banyak memainkan peran penting dalam pertumbuhan tanaman, khususnya fase generatif, seperti pembentukan bunga dan buah, serta peningkatan bobot buah. Demissie *et al.* (2013) menyebutkan bahwa terjadi peningkatan perkecambahan benih, tinggi tanaman, perpanjangan akar, kandungan fosfor, pengangkutan hara P, jumlah nodul, dan bobot tanaman kacang faba (*Vicia faba*) setelah inokulasi bakteri pelarut fosfat.

Penelitian ini menunjukkan bahwa tingginya keanekaragaman bakteri pada tanah supresif, berbanding lurus dengan banyaknya jenis bakteri fungsional dalam menekan penyakit layu fusarium. Sebanyak 51% bakteri hasil isolasi tanah supresif dan 23% bakteri kondusif berpotensi sebagai PGPB dengan memproduksi IAA atau melarutkan fosfat saja, masing-masing 24% dan 10% pada tanah supresif, sedangkan pada tanah kondusif masing-masing 14% dan 29%. Hanya bakteri yang berasal dari tanah supresif yang mampu memproduksi IAA sekaligus melarutkan fosfat dengan persentase sebanyak 48%. Informasi terkait komposisi bakteri pada tanah supresif dan kondusif, beserta karakter fungsionalnya dalam menekan layu fusarium diharapkan dapat berperan dalam meningkatkan efektivitas pupuk organik maupun anorganik, karena bakteri fungsional mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi pada tanaman yang diaplikasikan sehingga hal tersebut mampu mendukung tercapainya praktik budi daya tanaman cabai yang efektif, efisien, dan dapat diterapkan dalam jangka waktu panjang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (Kemdikbudristek) yang telah mendanai penelitian ini melalui program penelitian tesis magister (PTM) dengan nomor kontrak Nomor 082/E5/PG.02.00.PT/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiyani D. 2016. Penapisan dan karakterisasi rhizobakteria serta uji aktivitasnya dalam mendukung perkecambahan dan pertumbuhan benih jagung (*Zea mays* L.). Jurnal Biologi Indonesia. 12(2):241-248.
- Arana I, Orruño M, Barcina I. 2013. Basic methods for microbial enumeration. Di dalam: Arana I, Orruño M, Barcina I. *How To Solve Practical Aspects of Microbiology*. Spain: University of the Basque Country. hlm 1-10.

- Badriyah BI, Ardyati T. 2013. Deteksi aktivitas proteolitik isolat bakteri asal ampas tahu pada substrat bekatul. *Jurnal Biotropika*. 1(3):109–113.
- BPS [Badan Pusat Statistik]. 2021. Produksi Tanaman Sayuran 2021. <https://www.bps.go.id/indicator/55/61/1/produksi-tanaman-sayuran.html> [diakses 1 Januari 2023].
- Demissie S, Muleta D, Berecha G. 2013. Effect of phosphate solubilizing bacteria on seed germination and seedling growth of faba bean (*Vicia faba* L.). *International Journal of Agricultural Research*. 8(3): 123–136. DOI: <https://doi.org/10.3923/ijar.2013.123.136>.
- Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. 2005. Microbiology: Computational improvements reveal great bacterial diversity and high toxicity in soil. *Science*. 309:1387–1390. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1112665>.
- Giyanto, Sastrini T, Wahyuno D, Wartono. 2016. Ekplorasi bakteri endofit pemicu pertumbuhan tanaman kakao pada daerah endemis penyakit VSD (*Vascular Streak Dieback*). Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Perkebunan: Perlindungan Tanaman Perkebunan untuk Kesejahteraan Rakyat dan Bangsa*; 2016 Bogor Okt 25; Bogor (ID): IPB University. hlm 201-211.
- Glickmann E, Dessaux Y. 1995. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(2):793–796. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.61.2.793-796.1995>.
- Gordon SA, Weber RP. 1951. Colorimetric estimation of indole acetic acid. *Plant Physiology*. 26(1):192–195. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>.
- Haq HU, Li Y, Jin L, Zhang T, Cheng L, Li Z, Tian B. 2021. Effect of chicken manure-based fertiliser on bacterial communities and diversity of tomato endosphere microbiota. *Agriculture*. 67(3):144–154. DOI: <https://doi.org/10.2478/agri-2021-0013>.
- Ijaz A, Mumtaz MZ, Wang X, Ahmad M, Saqib M, Maqbool H, Zaheer A, Wang W, Mustafa A. 2021. Insights into manganese solubilizing *Bacillus* spp. for improving plant growth and manganese uptake in maize. *Front Plant Science*. 12(719504): 1–12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.719504>.
- ISTA [International Seed Testing Association]. 2018. *International Rules for Seed Testing*. Ed ke-4. Switzerland (CH): The International Seed Testing Association.
- Khalil MMR, Fierro-Coronado RA, Peñuelas-Rubio O, Villa-Lerma AG, Plascencia-Jatomea R, Félix-Gastélum R, Maldonado-Mendoza IE. 2021. Rhizospheric bacteria as potential biocontrol agents against fusarium wilt and crown and root rot diseases in tomato. *Biology Science*. 28(12):7460–7471. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.043>.
- Korasick DA, Enders TA, Strader LC. 2013. Auxin biosynthesis and storage forms. *Experimental Botany*. 64(9):2541–2555. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ert080>.
- Lesilolo M, Riry J, Matatula E. 2018. Pengujian viabilitas dan vigor benih beberapa jenis tanaman yang beredar di pasaran Kota Ambon. *Agrologia*. 2(1):1–9. DOI: <https://doi.org/10.30598/a.v2i1.272>.
- Maryam, David M. 2018. Pupuk Musacarica solusi meminimalisir penggunaan agrokimia pada petani sayur untuk mewujudkan Indonesia *food sovereignty*. *Jurnal Pena*. 5(1):834–844.
- Meng L, Yao X, Yang Z, Zhang R, Zhang C, Wang X, Xu N, Li S, Liu T, Zheng C. 2018. Changes in soil microbial diversity and control of *Fusarium oxysporum* in continuous cropping cucumber greenhouses following biofumigation. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 30(8):644–653. DOI: <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i8.1752>.
- Moosa A, Sahi ST, Haq IU, Farzand A, Khan SA, Javaid K. 2017. Antagonistic potential of *Trichoderma* isolates and manures against fusarium wilt of tomato. *Vegetable*

- Science. 23(3):207–218. DOI: <https://doi.org/10.1080/19315260.2016.1232329>.
- Nawangsih AA, Widjayanti T, Anisa Y. 2014. Kelimpahan bakteri rizosfer pada sistem PHT biointensif serta kemampuan antagonismenya terhadap *Sclerotium rolfsii* pada kedelai. Hama Penyakit Tanaman Tropika. 14(2):110–120. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.214110-120>.
- Olanrewaju OS, Glick BR, Babalola OO. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 33(197):197–212. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>.
- Pielou M. 1977. Mathematical Ecology. Toronto (CA): John Wiley and Sons.
- Poria V, Dębiec-Andrzejewska K, Fiodor A, Lyzohub M, Ajijah N, Singh S, Pranaw K. 2022. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) integrated phytotechnology: a sustainable approach for remediation of marginal lands. Frontiers in Plant Science. 13:1–20. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.999866>.
- Purba MA. 2018. Keanekaragaman bakteri pada tanah supresif terhadap *Ganoderma boninense* pada kelapa sawit [skripsi]. Medan (ID): Universitas Sumatera Utara.
- Qin K, Dong X, Jifon J, Leskovar DI. 2019. Rhizosphere microbial biomass is affected by soil type, organic and water inputs in a bell pepper system. Applied Soil Ecology. 138:80–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.024>.
- Rajjou L, Duval M, Gallardo K, Catusse J, Bally J, Job C, Job D. 2012. Seed germination and vigor. Annual Review Plant Biology. 63:507–533. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>.
- Ribeiro CM, Cardoso EJBN. 2012. Isolation, selection, and characterization of root-associated growth promoting bacteria in brazil pine (*Araucaria angustifolia*). Microbiological Research. 167(10): 69–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.03.003>.
- Salamat SS, Hassan MA, Shirai Y, Mohd AH, Hanif, Norizan MS, Zainudin MHM, Mustapha NA, Isa MNM, Mohd Faizal Abu Bakar. 2021. Effect of inorganic fertilizer application on soil microbial diversity in an oil palm plantation. Bio Resources. 16(2):2279–2302.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Minnesota (MN): APS Press.
- Sha C, Wu Jian, Wu Jianqiang, Ye C, Shen C, Su J, Wang M. 2023. Effects of different fertilizers on soil microbial diversity during long-term fertilization of a corn field in Shanghai, China. Diversity. 15(78):1–16. DOI: <https://doi.org/10.3390/d15010078>.
- Shannon CE, Weaver W. 1949. The Mathematical Theory of Communication. Illinois (IL): University of Illinois Press.
- Simpson EH. 1949. Measurement of diversity. Nature. 163:688. DOI: <https://doi.org/10.1038/163688a0>.
- Somala MUA, Utami SNH, Wibowo A, Subandiyah S. 2019. Kadar hara pada penambahan pupuk kandang dan silika pada tanah supresif dan kondusif layu fusarium pada pisang. Berkala Ilmiah Agroteknologi-Plumula. 6(2):93–103. DOI: <https://doi.org/10.33005/plumula.v6i2.7>.
- Tefa A. 2017. Uji viabilitas dan vigor benih padi (*Oryza sativa* L.) selama penyimpanan pada tingkat kadar air yang berbeda. Savana Cendana. 2(03):48–50. DOI: <https://doi.org/10.32938/sc.v2i03.210>.
- Turrini A, Agnolucci M, Palla M, Tomé E, Tagliavini M, Scandellari F, Giovannetti M. 2017. Species diversity and community composition of native arbuscular mycorrhizal fungi in apple roots are affected by site and orchard management. Applied Soil Ecology. 116:42–54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.03.016>.
- Yu Y, Gui Y, Li Z, Jiang C, Guo J, Niu D. 2022. Induced Systemic Resistance for Improving Plant Immunity by beneficial microbes. Plants. 11(3):1–19. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11030386>.
- Yuan X, Hong S, Xiong W, Raza W, Shen Z, Wang B, Li R, Ruan Y, Shen Q, Dini

- Andreote F. 2021. Development of fungal-mediated soil suppressiveness against fusarium wilt disease via plant residue manipulation. *Microbiome*. 9(1):1–15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01133-7>.
- Zimbro MJ, Power DA, Miller SM, Wilson GE, Johnson JA. 2009. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media*. Ed ke-2. Maryland (MD): Dickinson and Company.