

**ISOLASI DAN BAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT
ASAL TANAMAN KOPI (*Coffea* sp.) SEBAGAI AGEN
BIOKONTROL TERHADAP PENYAKIT BUSUK BUAH
(*Fusarium* sp.)**

SKRIPSI

**OLEH
MARITO AGUSTINA
198210029**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2024**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 4/9/25

Access From (repository.uma.ac.id)4/9/25

**ISOLASI DAN BAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT
ASAL TANAMAN KOPI (*Coffea* sp.) SEBAGAI AGEN
BIOKONTROL TERHADAP PENYAKIT BUSUK BUAH
(*Fusarium* sp.)**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana di Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Medan Area*

**OLEH :
MARITO AGUSTINA
198210029**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2024**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 4/9/25

Access From (repository.uma.ac.id)4/9/25

JUDUL SKRIPSI : Isolasi Dan Bakterisasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Kopi
(*Coffea* SP.) Sebagai Agen Biokontrol Terhadap Penyakit
Busuk Buah (*Fusarium* SP.)

NAMA : MARITO AGUSTINA

NPM : 198210029

PRODI : AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS : PERTANIAN

Disetujui Oleh :

Dosen Pembimbing



Saipul Sihotang S.Si, M. Biotek
Dosen Pembimbing

Diketahui Oleh:



Dr. Siswa Panjang Hernosa, SP, M. SI
Dekan Fakultas Pertanian



Angga Ade Sahfitra, SP, M. Sc
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus : 8 Juli 2024

HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku, apabila dikemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.



HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Marito Agustina
NPM : 198210029
Program Studi : Agroteknologi
Fakultas : Pertanian
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Non Eksklusif (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul "**Isolasi Dan Bakterisasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Kopi (*Coffea Sp.*) Sebagai Agen Biokontrol Terhadap penyakit Busuk Buah (*Fusarium Sp.*)**" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalih media, formatkan, mengelola dalam bentuk pengkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat : Medan

Pada Tanggal : 15 April 2025

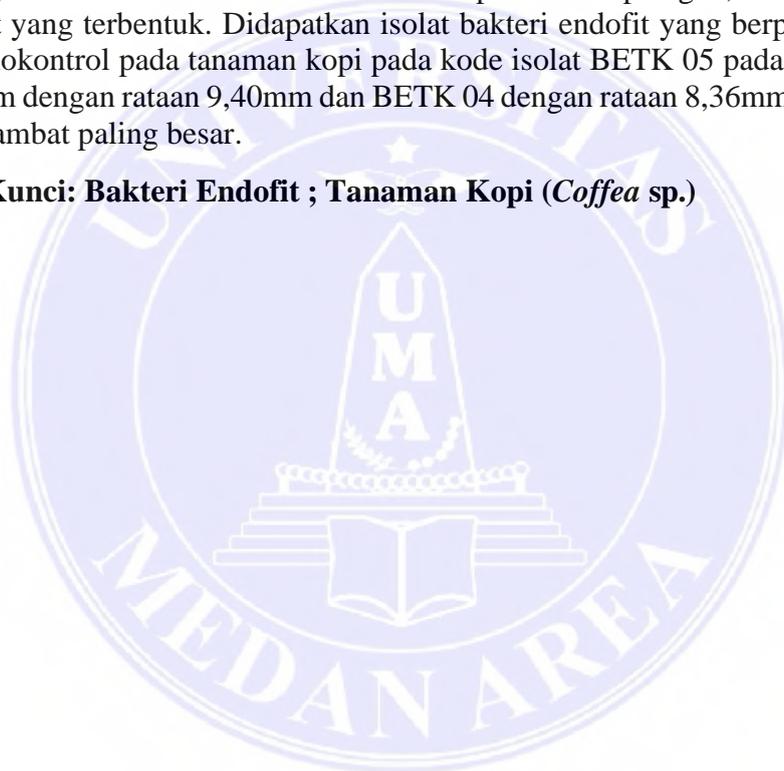
Yang menyatakan,


Marito Agustina
198210029

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genus bakteri endofit asal tanaman kopi dan sebagai agen biokontrol terhadap penyakit busuk buah (*Fusarium* sp.). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial yang terdiri dari 7 perlakuan dengan 3 ulangan. Perlakuan yang diuji terdiri dari : P0 = Kontrol negatif, P1 = Kontrol Positif (penggunaan fungisida sintetis dengan bahan aktif Benlate), P2 = Bakteri Endofit Isolat 01, P3 = Bakteri Endofit Isolat 02, P4 = Bakteri Endofit Isolat 03, P5 = Bakteri Endofit Isolat 04, P6 = Bakteri Endofit 05. Dari Isolasi bakteri endofit tanaman kopi diperoleh 6 isolat bakteri endofit. Karakterisasi morfologi melibatkan pengamatan bentuk, margin, elevasi, dan warna. Hasil uji pH menunjukkan bahwa semua isolat memiliki pH sekitar 6,5 yang merupakan kondisi netral untuk pertumbuhan bakteri. Isolat bakteri endofit menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap mikroba patogen, terlihat dari zona hambat yang terbentuk. Didapatkan isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai agen biokontrol pada tanaman kopi pada kode isolat BETK 05 pada pengamatan 2 x 24 jam dengan rata-rata 9,40mm dan BETK 04 dengan rata-rata 8,36mm menunjukkan zona hambat paling besar.

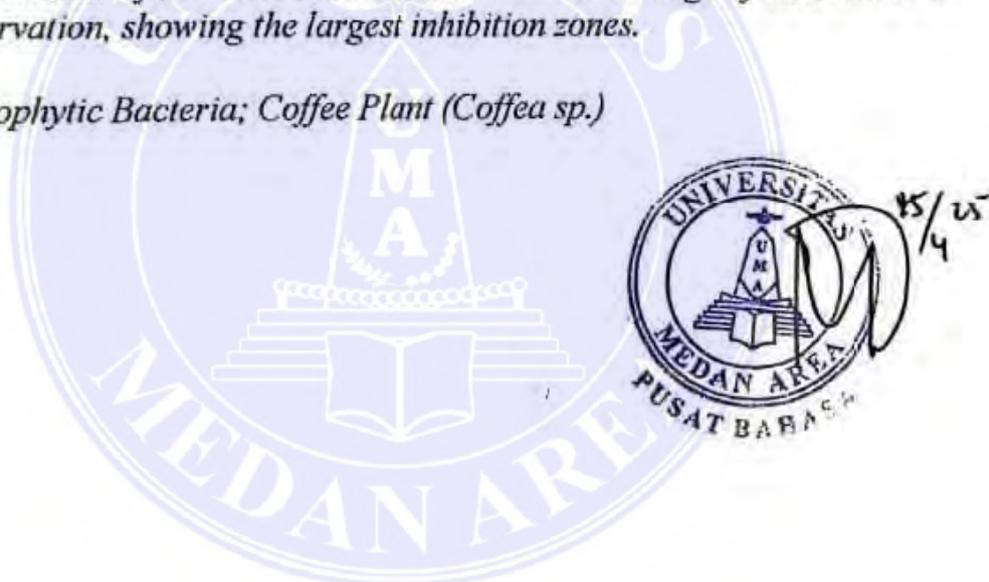
Kata Kunci: Bakteri Endofit ; Tanaman Kopi (*Coffea* sp.)



ABSTRACT

*This research aimed to identify the genus of endophytic bacteria from coffee plants and as biocontrol agents against fruit rot disease (*Fusarium* sp.). This research used a non-factorial Completely Randomized Design (CRD) consisting of 7 treatments with 3 replications. The treatments tested consisted of: P0 = Negative control, P1 = Positive control (use of synthetic fungicide with active ingredient Benlate), P2 = Endophytic Bacteria Isolate 01, P3 = Endophytic Bacteria Isolate 02, P4 = Endophytic Bacteria Isolate 03, P5 = Endophytic Bacteria Isolate 04, P6 = Endophytic Bacteria Isolate 05. From the isolation of endophytic bacteria from coffee plants, 6 isolates of endophytic bacteria were obtained. Morphological characterization involved observation of shape, margin, elevation, and color. pH test results showed that all isolates had a pH of around 6.5, which was a neutral condition for bacterial growth. The endophytic bacterial isolates showed antimicrobial activity against pathogenic microbes, as seen from the inhibition zones formed. Endophytic bacterial isolates with potential as biocontrol agents in coffee plants were obtained in isolate code BETK 05 with an average inhibition zone of 9.40 mm and BETK 04 with an average of 8.36 mm at 2 x 24 hours observation, showing the largest inhibition zones.*

Keywords: *Endophytic Bacteria; Coffee Plant (Coffea sp.)*



RIWAYAT HIDUP

Marito Agustina Aritonang dilahirkan pada tanggal 19 Agustus 2001 di Janjimatogu, Kecamatan Bukit Malintang, Kabupaten Mandailing Natal, Provinsi Sumatera Utara. Anak ketiga dari tujuh bersaudara dari pasangan Jansen Aritonang dan Rimelda Silalahi.

Pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 142564 Janjimatogu, Kecamatan Bukit Malintang, Kabupaten Mandailing Natal dan Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Siabu, Kecamatan Siabu, Kabupaten Mandailing Natal selanjutnya Sekolah Menengah Kejuruan Swasta (SMKS) LMC Model Industri, Kabupaten Tapanuli Selatan, Sumatera Utara.

Pada bulan September 2019, menjadi mahasiswa pada Fakultas Pertanian Universitas Medan Area pada Program Studi Agroteknologi. Selama mengikuti perkuliahan, penulis pernah mengikuti program MBKM yaitu Program Kampus Mengajar bitc 3 di SDN 188 Simangambat TB, Kabupaten Mandailing Natal, Sumatera Utara pada tahun ajaran 2021/2022. Pada tahun 2022 penulis telah melaksanakan praktek kerja lapangan (PKL) di PTPN III Kebun Gunung Para, Provinsi Sumatera Utara.

KATA PENGANTAR

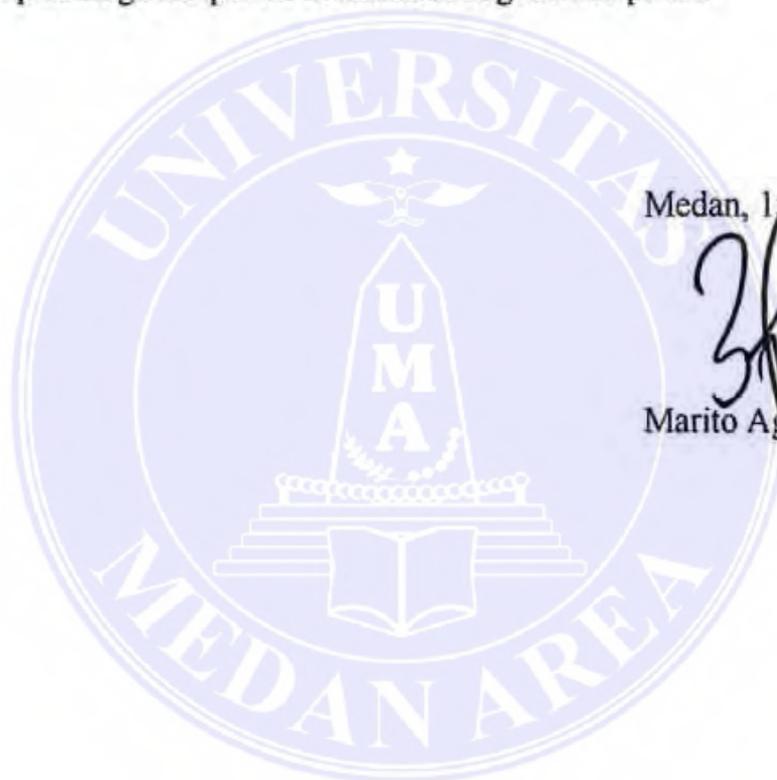
Segala puji dan syukur penulis sampaikan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan penyertaan-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi Dan Bakterisasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Kopi (*Coffea sp.*) Sebagai Agen Biokontrol Terhadap Penyakit Busuk buah (*Fusarium sp.*)”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk melaksanakan tugas akhir di Fakultas Pertanian Universitas Medan Area.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan rasa hormat kepada banyak pihak yang telah membantu dalam kesempurnaan penulisan skripsi ini. Secara khusus penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Siswa Panjang Hernosa, SP, M.Si, selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Medan Area.
2. Bapak Angga Ade Sahfitra, SP., M.Sc selaku Ketua Prodi Fakultas Pertanian Universitas Medan Area.
3. Bapak Saipul Sihotang, S.Si, M.Biotek selaku dosen pembimbing yang bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing dan banyak memberikan saran dan masukan-masukan selama masa penyusunan skripsi ini.
4. Seluruh Bapak/Ibu Dosen dan Pegawai Fakultas Pertanian Universitas Medan Area yang telah memberikan bimbingan dan layanan administrasi selama di UMA.
5. Kepada orang tua Bapak J. Aritonang dan Ibu R. Silalahi, selaku orangtua penulis serta kakak, yang selalu memberikan semangat, dukungan moral maupun material dan motivasi kepada penulis.

6. Rekan-rekan Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Medan Area terkhusus Agroteknologi A1 stambuk 2019 yang sudah memberikan dukungan dan semangat bagi penulis.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penulis menempuh pendidikan dan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis ucapkan terima kasih sebesar-besarnya dan berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak.



Medan, 15 April 2025


Marito Agustina

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
I. PENDAHULUAN	xiv
1.1 Latar Belakang	14
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman kopi (<i>Coffea</i> sp.)	7
2.2 Morfologi Tanaman Kopi	7
2.3 Bakteri Endofit.....	9
2.4 Penyakit Busuk Buah pada Kopi (<i>Fusarium</i> sp.)	10
III. METODE PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	12
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	12
3.3 Metode Penelitian	12
3.5 Pelaksanaan Penelitian	13
3.5.1 Sterilisasi Alat	13
3.5.2 Penyediaan Isolat Jamur <i>Fusarium</i> sp	13
3.5.3 Metode Pengambilan Sampel Daun.....	14
3.5.4 Isolasi Bakteri Endofit	14
3.5.5 Pemurnian dan Pengamatan	15
3.6 Parameter Penelitian	15
3.6.1 Identifikasi Bakteri Endofit.....	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Isolat Bakteri Endofit Daun kopi	20
4.2 Karakterisasi Morfologi dan Pewarnaan Gram Bakteri Endofit.....	21
4.3 Uji Biokimia Bakteri Endofit.....	23

4.4 Uji Antimikroba Bakteri Endofit	25
V. KESIMPULAN DAN SARAN	27
5. 1 Kesimpulan	27
5. 2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN.....	31



DAFTAR TABEL

NO	Keterangan	Hal
1.	Hasil Uji Karakteristik Makroskopis Isolat Bakteri Endofit.....	20
2.	Hasil Uji Karakterisasi Morfologi dan Pewarnaan Gram Bakteri Endofit.....	22
3.	Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit.....	23
4.	Hasil Analisis Uji Antimikroba Bakteri Endofit	25



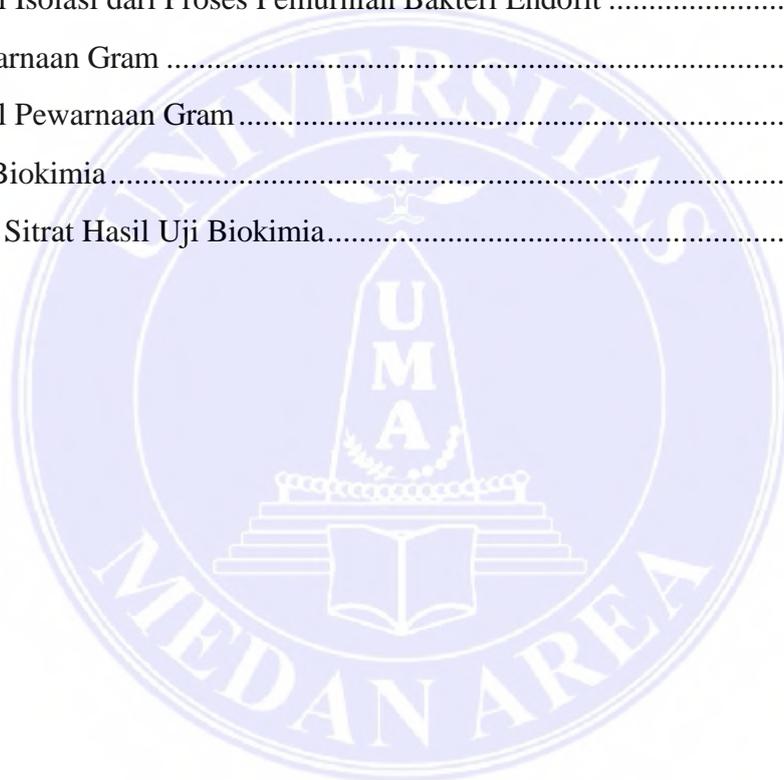
DAFTAR GAMBAR

No	Keterangan	Hal
1.	Gejala penyakit busuk buah kopi	11
2.	Bagan Penelitian	19



DAFTAR LAMPIRAN

No	Keterangan	Hal
1.	Jadwal Pelaksanaan Kegiatan Penelitian.....	31
2.	Hasil Uji Antimikroba	32
3.	Pembuatan Media NA	32
4.	Proses Isolasi Bakteri Endofit	33
5.	Hasil isolasi bakteri endofit daun kopi	34
6.	Hasil Isolasi dari Proses Pemurnian Bakteri Endofit	34
7.	Pewarnaan Gram	35
8.	Hasil Pewarnaan Gram	35
9.	Uji Biokimia	36
10.	Uji Sitrat Hasil Uji Biokimia.....	36



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan komoditas perkebunan yang memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia. Komoditas kopi diperkirakan menjadi sumber pendapatan utama tidak kurang dari 1,84 juta keluarga yang sebagian besar mendiami kawasan pedesaan di wilayah-wilayah terpencil. Salah satunya di Sumatera Utara terkenal sebagai sentra produksi kopi Arabika setara dengan sepertiga produksi kopi arabika di Indonesia (Direktor Jenderal Perkebunan, 2021).

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) luas dan produksi kopi di Sumatera Utara pada tahun 2020 hingga tahun 2022 mengalami penurunan. Pada tahun 2020 luas areal tanaman kopi 95.477 ha dan produksi kopi sebanyak 76.597 ton, tahun 2021 luas areal tanaman kopi 95.680 ha dan produksi kopi sebanyak 76.597 ton, dan tahun 2022 luas areal tanaman kopi 96.365 ha dan produksi sebanyak 78.693 ton (BPS 2023).

Penyakit yang menyerang kopi biasanya disebabkan oleh faktor cuaca yang tidak menentu, seperti musim hujan yang intensitasnya terlalu tinggi. Penyebab penyakit yang sering dijumpai pada tanaman kopi adalah jamur. Penyakit yang disebabkan oleh jamur yang sering menyerang kopi antara lain adalah hawar daun, bercak daun, jamur upas, penyakit pada buah dan mati akar. Salah satunya penyakit busuk buah pada kopi yang disebabkan oleh jamur patogen *Fusarium* sp. Patogen kopi ini sering menjadi parasit yang dapat menginfeksi bagian tanaman seperti buah dan biji-bijian. Patogen *Fusarium* sp. penyebab busuk buah kopi sering menyerang pada musim hujan, terutama di daerah yang memiliki

kelembaban yang tinggi dan beriklim basah. Penularan penyakit biasanya melalui aliran air yang terkontaminasi patogen sehingga jangkauan penyebarannya menjadi luas (Chehri *et al.*, 2010).

Dari Hasil penelitian Rudy, (2014) produktivitas yang sangat rendah untuk tanaman kopi di Kabupaten Kubu Raya Kalimantan Barat disebabkan oleh serangan penyakit *Fusarium* sp. Hal senada juga di utarakan oleh Semangun, (2000) bahwa penyakit busuk buah kopi disebabkan oleh beberapa jamur patogen salah satunya yaitu *Fusarium* sp. dengan intensitas serangan 10-35%, sehingga dikhawatirkan dapat menurunkan produktivitas kopi sampai 40-60%.

Pengendalian *Fusarium* sp. umumnya dilakukan dengan menggunakan fungisida sintetik. Penggunaan fungisida sintetik diketahui kurang efektif, karena memiliki dampak negatif jika digunakan terus menerus disebabkan residu yang tertinggal di dalam tanaman dan dapat membunuh spesies-spesies non target (Djafarudin, 2004 dan Soesanto 2008). Maka dari itu penggunaan bakteri endofit dibuat sebagai alternatif pengendali hayati untuk mengendalikan *Fusarium* sp., pengendali hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian patogen tanaman yang menjanjikan karena murah, mudah didapat dan aman terhadap lingkungan serta berkelanjutan.

Pengendalian hayati terhadap hama dan penyakit tanaman dengan menggunakan musuh alami, seperti predator, parasitoid, patogen, maupun antagonis telah lama dicanangkan sebagai salah satu komponen pengendalian hama dan penyakit terpadu. Pengendalian ini populer seiring dengan meningkatnya perhatian masyarakat terhadap kesehatan dan kelestarian lingkungan. Namun, agensia hayati tersebut seringkali kurang mampu

diaplikasikan dalam skala komersial meskipun pada awalnya kemampuannya sangat menjanjikan. Penyebabnya adalah agensia tersebut sering tidak mampu beradaptasi di lingkungan yang baru atau kurang mampu bersaing dengan mikroorganisme yang telah lama menghuni lingkungan tersebut. Compants *et al.* (2005) dalam reviewnya menyatakan bahwa penggunaan bakteri endofit sebagai agensia hayati, terutama yang memiliki kelebihan sebagai perangsang tumbuh, lebih baik dibanding mikroorganisme yang hidup bebas. Keterikatan endofit dengan inangnya, memberikan keuntungan lebih bagi endofit dibanding agensia hayati lainnya karena mereka tidak harus bersaing dalam ekosistem yang baru dan kompleks.

Mekanisme endofit dalam melindungi tanaman terhadap serangan serangga ataupun patogen meliputi: (1) penghambatan pertumbuhan patogen secara langsung melalui senyawa antibiotik dan enzim litik yang dihasilkan; (2) penghambatan secara tidak langsung melalui perangsangan endofit terhadap tanaman dalam pembentukan metabolit sekunder seperti asam salisilat, asam jasmonat, dan etilene yang berfungsi dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen atau yang berfungsi sebagai antimikroba seperti fitoaleksin; (3) perangsangan pertumbuhan tanaman sehingga lebih tahan terhadap serangan patogen; (4) kolonisasi jaringan tanaman sehingga patogen sulit penetrasi (Gao *et al.* 2010; Sihotang *et al.*, 2022).

Menurut Sianipar (2019) bahwa bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman, dimana memanfaatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan melindungi tanaman untuk hidup. Bakteri endofit juga tidak membahayakan tanaman inangnya, memproteksi tanaman dalam melawan serangga dan

mikroba patogen. Menurut Puspita *et al.*, (2014) menyatakan bahwa bakteri endofit memiliki manfaat sebagai agens hayati dengan cara meningkatkan pertumbuhan pada tanaman, menyediakan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan dan menginduksi ketahanan tanaman. Sehingga keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman untuk perbaikan pertumbuhan tanaman tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apa saja genus bakteri endofit asal tanaman Kopi (*Coffea* sp.) ?
2. Bagaimana potensi bakteri endofit asal tanaman Kopi (*Coffea* sp.) sebagai agen biokontrol terhadap *Fusarium* sp. ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui genus bakteri endofit asal tanaman Kopi (*Coffea* sp.).
2. Untuk mengetahui potensi bakteri endofit asal tanaman Kopi (*Coffea* sp.) sebagai agen biokontrol terhadap *Fusarium* sp.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun Manfaat Penelitian ini adalah :

1. Bagi Petani

Sebagai informasi awal bagi petani dalam mengatasi penyakit busuk buah (*Fusarium* sp.) asal tanaman kopi (*Coffea* sp.)

2. Bagi Peneliti

Sebagai bahan bacaan untuk menambah pemahaman dan informasi tentang penyakit busuk buah (*Fusarium* sp.) asal tanaman kopi (*Coffea* sp.).

1.5 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah :

1. Didapatkan bakteri endofit asal tanaman kopi (*Coffea* sp.) sebagai agen biokontrol terhadap penyakit busuk buah (*Fusarium* sp.).
2. Bakteri endofit asal tanaman kopi (*Coffea* sp.) berpengaruh nyata dalam mengendalikan penyakit busuk buah (*Fusarium* sp.).



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman kopi (*Coffea* sp.)

Kopi (*Coffea* sp.) adalah salah satu spesies tanaman berbentuk pohon yang termasuk kedalam famili *Rubiaceae* dan genus *Coffea*. Tanaman ini tumbuh tegak, bercabang, dan ketinggian tanaman mampu mencapai 12 m. Daunnya bulat menyerupai telur yang ujungnya agak meruncing. Sistem pencabangan kopi agak berbeda dengan tanaman lain tanaman kopi memiliki beberapa jenis cabang yang sifat dan fungsinya agak berbeda.

Kopi juga merupakan komoditas tropis utama yang diperdagangkan diseluruh dunia, popularitas dan daya tarik kopi terhadap dunia dikarenakan rasanya yang unik serta didukung oleh faktor sejarah, sosial dan kepentingan ekonomi (Fauzi, 2019).

Klasifikasi tanaman kopi adalah sebagai berikut; Kingdom : *Plantae*, Sub Kingdom : *Tracheobionta*, Super Divisi : *Spermatophyta*, Divisi : *Magnoliophyta*, Kelas : *Magnoliopsida*, Sub Kelas : *Asteridae*, Ordo : *Rubiales*, Famili : *Rubiaceae*, Genus : *Coffea*, Spesies : *Coffea* sp (Rahardjo, 2012).

2.2 Morfologi Tanaman Kopi

Morfologi tanaman kopi secara garis besar dapat dikelompokkan menjadi beberapa bagian yaitu akar, batang, daun, bunga, buah dan biji.

a. Akar

Tanaman kopi memiliki sistem perakaran tunggang yang tidak rebah, perakaran tanaman kopi relatif dangkal, lebih dari 90% dari berat akar terdapat lapisan tanah 0 – 30 cm (Najiyati dan Danarti, 2012).

b. Batang

Batang tanaman kopi merupakan tumbuhan berkayu, tumbuh tegak keatas dan berwarna putih keabu-abuan. Pada batang terdiri dari 2 macam tunas yaitu tunas seri (tunas reproduksi) yang tumbuh searah dengan tempat asalnya dan tunas legitim yang hanya dapat tumbuh sekali dengan arah tumbuh membentuk sudut nyata dengan tempat asalnya (Arief *et al.*, 2011).

c. Daun

Daun berbentuk menjorong, berwarna hijau dan pangkal ujung meruncing. Bagian tepi daun berpisah, karena ujung tangkai tumpul. Pertulangan daun menyirip, dan memiliki satu pertulangan terbentang dari pangkal ujung hingga terusan dari tangkai daun. Selain itu daun juga tampak mengkilap tergantung dengan spesiesnya. (Najiyati dan Danarti, 2012).

d. Bunga

Bunga pada tanaman kopi memiliki ukuran yang relative kecil, mahkota berwarna putih dan berbau harum semerbak. Kelopak bunga berwarna hijau. Bunga dewasa, kelopak dan mahkota akan membuka dan segera mengadakan penyerbukan sehingga akan membentuk buah. Waktu yang diperlukan terbentuk bunga hingga buah menjadi matang 8 – 11 bulan, tergantung dari jenis dan faktor lingkungannya (Direktorat Jendral Perkebunan, 2009).

e. Buah dan biji

Buah tanaman kopi terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas 3 bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mekso-karp), dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis dan keras. Buah kopi menghasilkan dua butir biji tetapi ada juga yang tidak menghasilkan biji atau hanya menghasilkan satu butir biji. Biji kopi terdiri atas kulit biji dan lembaga.

Secara morfologi, biji kopi terbentuk bulat telur, bertekstur bulat telur (Najiyati dan Danarti, 2012).

2.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inangnya tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit. Bakteri endofit biasanya masuk ke dalam jaringan tanaman yang umumnya melalui akar, namun pada bagian lainnya akan terpapar dengan udara secara langsung seperti bunga, batang dan kotiledon yang menjadi jalur masuknya bakteri endofit (Desriani *et al*, 2014).

Menurut Listya *et al.*, (2017) bahwa bakteri endofit adalah bakteri yang diperoleh dengan cara diisolasi dari tanaman yang permukaannya telah disterilkan untuk mendapatkan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit juga bertahan hidup pada periode tertentu tanpa menimbulkan bahaya pada tanaman, sehingga adanya hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan yang akan menghasilkan senyawa bioaktif. Bakteri endofit awalnya berasal dari lingkungan eksternal yang masuk kedalam jaringan tanaman melalui stomata, lentisel, luka seperti adanya trichomas yang rusak, melalui akar dan akar yang berkecambah (Kartikawati dan Gusmaini, 2018).

Proses masuknya bakteri endofit secara langsung melalui mekanisme pemecahan atau degradasi berada di jaringan pelindung pada lapisan kutikula dan epidermis yang ditandai dengan masuknya bakteri endofit ke bagian internal jaringan pembuluh tanaman dan diturunkan melalui biji, sedangkan proses secara tidak langsung pada bakteri endofit hanya menginfeksi bagian eksternalnya yaitu pada bagian pembungaan (Hutagalung, 2018).

Kemampuan bakteri endofit mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sesuai dengan kemampuan pada tanaman inangnya. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman memiliki tempat hidup yang relatif terlindungi serta mampu mendapatkan nutrisi. Bagi tanaman bakteri endofit berperan sangat penting dalam menjaga kesehatan tanaman (Sianipar, 2018; Sihotang et al., 2021; Sihotang et al., 2024).

Menurut Pronoto *et al.*, (2014) menyatakan bahwa beberapa endofit yang mampu menghasilkan hormon yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman. salah satu hormon yang dihasilkan oleh bakteri endofit yaitu IAA (Indole Acetic Acid) atau yang lebih dikenal auksin. Auksin berperan sebagai hormon pemacu tumbuh pada tanaman yang biasanya ditemukan pada jaringan meristem. Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari berbagai tanaman seperti pada tanaman tebu, kentang, mahkota dewa, daun binahong, kopi, serai, sirih dan tanaman lainnya (Sianipar, 2018).

2.4 Penyakit Busuk Buah pada Kopi (*Fusarium sp.*)

Penyakit busuk buah pada kopi disebabkan oleh jamur, gejala yang ditimbulkan dari jamur patogen ini berupa kelayuan, *damping off*, busuk buah dan biji-bijian. Patogen ini memproduksi beberapa zattoksin di antaranya *fusaric acid* dan *fumonisin* yang dapat memperparah penyakit. Patogen ini juga mengubah permeabilitas membran plasma dari sel tanaman inang yang mengakibatkan tanaman yang terinfeksi akan lebih cepat kehilangan air daripada tanaman yang sehat.

Klasifikasi *Fusarium sp.* menurut Semangun (2000) termasuk ke dalam kingdom: *Mycetaceae*, divisi: *Amastigomycota*, subdivisi: *Deuteromycotyna*,

kelas: *Deutomyces*, subkelas: *Hyphomycetidae*, famili: *Moniales*, genus: *Fusarium*, spesies: *Fusarium* sp.

Hasil penelitian Rudy, (2014) produktivitas yang sangat rendah untuk tanaman kopi di Kabupaten Kubu Raya Kalimantan Barat disebabkan *Fusarium* sp. Hal senada juga di utarakan oleh Semangun, (2000) bahwa penyakit busuk buah kopi disebabkan oleh beberapa jamur patogen salah satunya yaitu *Fusarium* sp. Cara pengendalian jamur patogen yang umumnya dilakukan oleh petani kopi di Kabupaten Kubu Raya menggunakan fungisida sintetik.



Gambar 1. Gejala penyakit busuk buah kopi ; a (pada buah hijau) ; b (pada buah merah) (Sumber: Laila *et al.*, 2011)

Fusarium sp. sering menyerang pada musim hujan, terutama di daerah yang memiliki kelembaban yang tinggi dan beriklim basah. Penularan penyakit biasanya melalui aliran air yang terkontaminasi patogen sehingga jangkauan penyebarannya menjadi luas.

Jamur *Fusarium* sp. dapat menginfeksi buah kopi ketika buah kopi tersebut terlebih dahulu sudah terinfeksi oleh serangga, di antaranya hama bubuk buah kopi (*Hypothenemus hampei*). Serangan hama bubuk kopi pada buah yang masih muda dilakukan hanya untuk keperluan makan bagi imago yang selanjutnya ditinggalkan. Bekas gerakan ini kemudian dijadikan pintu masuk oleh jamur patogen seperti *Fusarium* sp. (Laila *et al.*, 2011).

Gejala awal serangan *Fusarium* sp adalah munculnya bercak hitam di

sekitar bekas gerakan. Bercak hitam ini kemudian melebar hingga menutupi permukaan buah dan terdapat spora berwarna putih. Pada buah kopi yang masih berwarna hijau (muda), seluruh daging buah juga akan menghitam atau mengalami kebusukan, sehingga terjadi kerusakan pada biji kopi. Sedangkan pada buah kopi yang berwarna merah (matang), patogen ini hanya menginfeksi kulit buah, sehingga daging buah dan biji tidak rusak (Laila *et al.*, 2011).



III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2023 sampai dengan November 2023. Isolasi dan perbanyakan bakteri endofit dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara .

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, Erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, pembakar bunsen, *hot plate*, *object glass*, jarum ose, *cover glass*, *autoclave*, gunting, mikroskop, plastik wrab, marker, neraca analitik, dissecting set, label, jangka sorong, alat tulis dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel daun kopi yang sehat, isolat *Fusarium* sp., media NA dan media PDA, alkohol 70%, *Clorox* , aquades dan fungisida sintetik (*benlate*).

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian menggunakan metode eksperimental dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial yang terdiri dari 7 perlakuan dengan 3 ulangan. Perlakuan yang di uji terdiri dari :

P_0 = Kontrol Negatif

P_1 = Kontrol Positif (Penggunaan Fungisida sintetik)

P_2 = Penggunaan Bakteri Endofit Isolat 01

P_3 = Penggunaan Bakteri Endofit Isolat 02

P_4 = Penggunaan Bakteri Endofit Isolat 03

P_5 = Penggunaan Bakteri Endofit Isolat 04

P₆ = Penggunaan Bakteri Endofit Isolat 05

3.4 Metode Analisis Data dan Penelitian

Pengujian/Analisis data menggunakan SPSS Ver.22 apabila terdapat signifikan maka dilanjutkan dengan Uji DN MRT. Untuk melihat perlakuan yang terbaik.

Cara mencari ulangan :

Dimana t = banyak perlakuan, dan r = banyak ulangan

$$t(r-1) \geq 15$$

$$7(r-1) \geq 15$$

$$7r-7 \geq 15$$

$$7r \geq 21$$

$$r \geq \frac{21}{7} = 3 \text{ (Ulangan yang digunakan adalah 3 kali)}$$

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan terlebih dahulu dilakukan sterilisasi agar tidak ada mikroorganisme yang tidak diinginkan (sumber kontaminan), adapun prosedur kerja sterilisasi alat yang akan digunakan di laboratorium yaitu peralatan dicuci bersih setelah itu dimasukkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121° C, selama 15-30 menit.

3.5.2 Penyediaan Isolat Jamur *Fusarium* sp.

Jamur *Fusarium* sp. yang digunakan adalah koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara. Jamur di subkultur pada media PDA yang baru.

3.5.3 Metode Pengambilan Sampel Daun

Menurut Afizar dan Lin Parlina, (2017) metode pengambilan sampel daun kopi dilakukan secara *purposive sampling* yaitu secara sengaja (tanpa acak). Jenis kopi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kopi Robusta (5 tahun), dengan luas lahan 1 ha. Daun yang akan digunakan dalam penelitian ini diambil dari Desa Janjimatogu, Kecamatan Bukit Malintang, Kabupaten Mandailing Natal, Provinsi Sumatera Utara, dengan ketinggian 300-450 mdpl. Adapun teknik pengambilan sampel yaitu :

- 1) Di ambil dari daun yang paling sehat (bebas dari hama dan serangan penyakit).
- 2) Bebas dari arah mata angin manapun (Timur, Barat, Utara, dan Selatan).
- 3) Diambil dari daun yang ke 4 dari ujung daun (daun yang membuka sempurna).
- 4) Jumlah sampel 5 tanaman dan daun yang diambil 20 sampel daun.
- 5) Kemudian sampel daun yang telah bersih dimasukkan ke dalam kantong plastik yang steril, kemudian diberi label dan dibawa ke Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.

3.5.4 Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan mencuci daun kopi dengan air mengalir dan dikeringkan secara aseptik. Hasil daun kopi tersebut dibawa ke Laminar Air Flow cabinet kemudian dipotong menggunakan gunting dengan ukuran 1-2 cm selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan dengan cara merendamkan sampel ke dalam alkohol 70% selama 2 menit, 5 % *crolox* selama 3

menit, alkohol 70% selama 30 detik dan aquades steril selama 3-5 menit, selanjutnya dikeringkan dengan tissue steril. Sampel diletakkan di atas permukaan media NA, sampel ditekan sedikit kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada inkubator dengan suhu 30°C.

3.5.5 Pemurnian dan Pengamatan

Semua koloni bakteri yang tumbuh di murnikan dengan cara memindahkan isolat ke cawan petri yang sudah ada media NA. Selanjutnya di lakukan pengujian/pengamatan Morfologi, Fisiologi dan Biokimia. Jika bakteri yang tumbuh masih bercampur dengan bakteri lain maka dipurifikasi kembali. Hal ini berfungsi untuk memperoleh isolat Bakteri endofit yang murni/unggul.

3.6 Parameter Penelitian

3.6.1 Identifikasi Bakteri Endofit

A. Morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan oleh peneliti dan juga tim Laboratorim. Identifikasi dilakukan berdasarkan dengan ciri-ciri warna dan karakter fenotipik/morfologis baik dilakukan dengan cara makrokopis (visual) maupun secara mikrokopis (Ningrum, *et al.*, 2017).

Pengamatan morfologi koloni bakteri asam laktat secara mikroskopis dikarakterisasi dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000 kali, mencakup bentuk sel dan susunan sel, diamati pada uji pewarnaan gram.

1. Pewarnaan Gram

Kultur bakteri endofit disebar pada permukaan kaca slide dengan menggunakan jarum ose. Kemudian dengan menggunakan penjepit tabung reaksi dilakukan fiksasi bakteri endofit pada permukaan kaca slide di dekat

lampu spiritus. Lalu diteteskan sekitar 5 tetes kristal violet pada kultur yang sudah difiksasi, selanjutnya di diamkan selama 60 detik. Setelah itu kaca slide tersebut dicuci dengan air mengalir dengan menggunakan botol semprot diteteskan 5 tetes larutan iodin dan dibiarkan selama 30 detik. Setelah di diamkan 30 detik kemudian larutan iodin tersebut di cuci menggunakan air mengalir dan diteteskan larutan decolorizer, setelah itu dicuci kembali dengan air mengalir selama kurang lebih 5 detik. Tahap terakhir diteteskan sekitar 5 tetes safranin dan dibiarkan selama 20 detik lalu dicuci dengan air mengalir. Kaca slide lalu di amati dibawah mikroskop pada pembesaran 100x. Pengamatan yang di lihat meliputi warna dan bentuk sel bakteri. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu karena mampu mengikat kristal violet. Bakteri Gram negatif ditandai dengan terbentuknya warna merah muda karena tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin (Serdani, 2018).

B. Biokimia

Pengamatan secara biokimiawi meliputi :

1. Uji Sitrat

Ambil media SCA (Simon Citrat Agar) lalu goreskan inokulum bakteri pada media dengan menggunakan jarum ose bengkok. Inkubasikan selama 24-48 jam dengan suhu ruang 37°C. Amati perubahan warna pada media. Uji positif terjadi jika terdapat perubahan warna pada media yang semula berwarna hijau mejadi biru.

2. Uji Motilitas

Siapkan media SIM dalam tabung reaksi. Inokulasikan bakteri dengan menggunakan ose lurus pada media dengan cara menusukkannya secara lurus hingga setengah media pada tabung reaksi. Inokulasikan selama 24-48 jam dengan suhu ruangan 37°C.

3. Uji Hidrolisis Gelatin

Cairkan media gelatin semi padat dalam tabung reaksi. Tusuk secara lurus dengan menggunakan jarum ose lurus yang berisi inokulum bakteri (biakan cair) pada bagian tengah media. Inkubasikan selama 24-48 jam dengan suhu ruang 37°C. Masukkan ke dalam pendingin selama 10 menit. Uji positif jika media tetap cair setelah dimasukkan ke dalam pendingin.

4. Hidrolisis Pati

Cairkan media pati steril, kemudian tuangkan ke dalam petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Lalu bagi menjadi dua kuadran. Diambil biakan bakteri dengan menggunakan jarum ose bengkok, lalu goreskan biakan pada masing-masing kuadran. Inkubasikan selama 24-48 jam dengan suhu ruang 37°C di inkubator bakteri. Teteskan iodine permukaan koloni bakteri. Uji positif apabila terdapat zona bening pada koloni setelah ditetesi iodine.

4. Uji Katalase

Siapkan gelas objek yang bersih, inokulasikan satu lup ose biakan bakteri pada permukaan gelas objek. Tambahkan 2-3 tetes H₂O₂ 3% pada permukaan slide. Uji positif apabila terlihat pembentukan gelembung yang terbentuk dari penguraian H₂O₂.

C. Uji Antimikroba

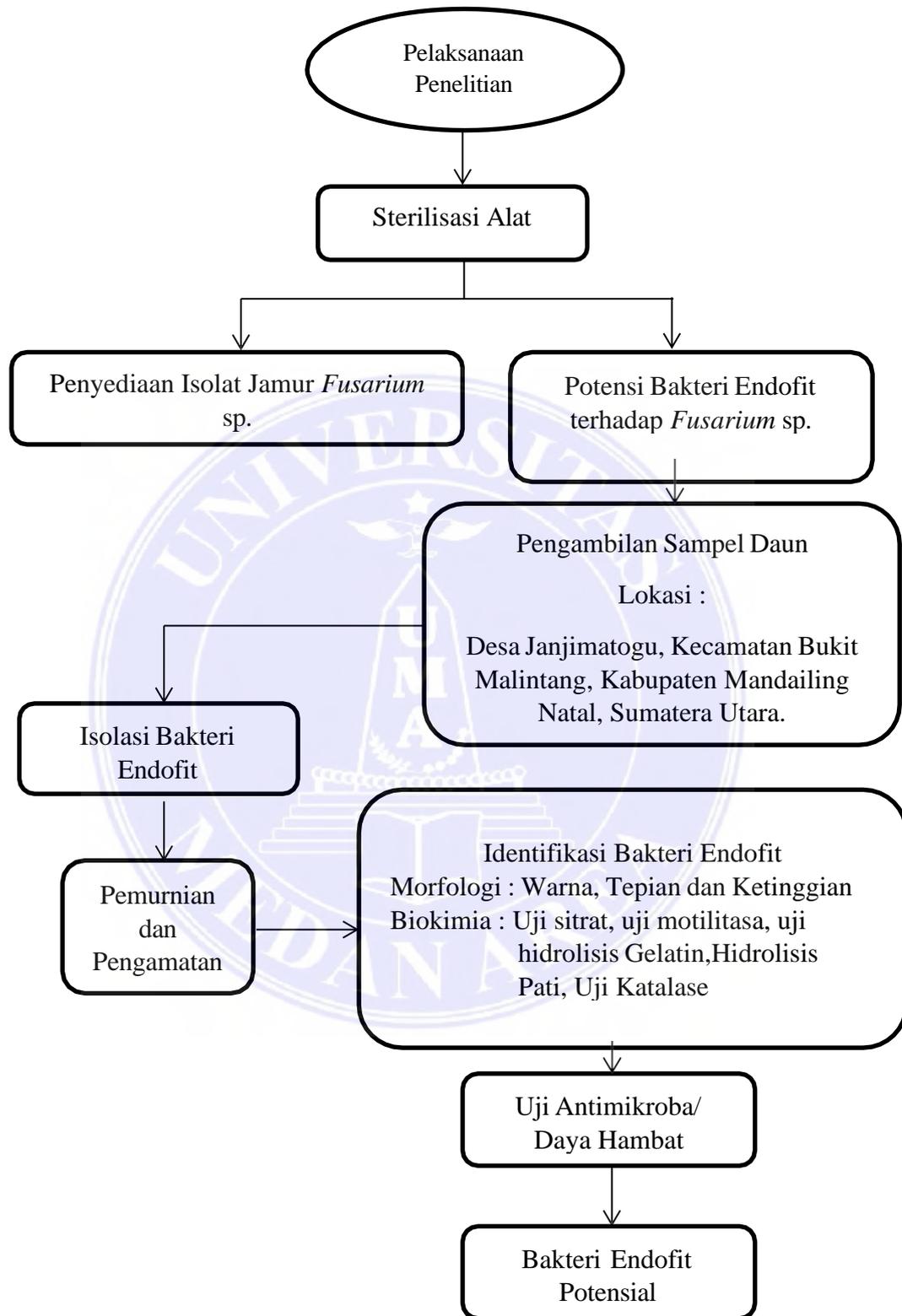
Uji antimikroba menggunakan metode difusi cakram. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri endofit dengan jamur *Fusarium* sp. Media bakteri dituangkan ke dalam cawan petri dan ditunggu setelah membeku, permukaan media NA dioleskan dengan bakteri *Fusarium* sp. menggunakan kapas secara merata. Kemudian ditempelkan kertas cakram berdiameter 5mm di permukaan media NA yang terlebih dahulu dicelupkan kedalam kultur bakteri endofit lalu cawan petri disimpan dalam inkubator pada suhu 37° C. Diamati zona bening yang terbentuk setelah 2 x 24 jam (2 hari).

Pengujian Daya hambat mengikuti metode Difusi. Menurut, Ekowati 2000 dalam (Herlina, 2011). Pengujian daya hambat mengikuti metode difusi. Penemuan metode menurut Kirby- Alfred Baurer pada tahun 1966.

Rumus :

$$\text{Indeks antimikrobal (mm)} = \frac{\text{diameter zona hambat} - \text{diameter cakram}}{\text{diameter cakram}}$$

BAGAN PENELITIAN



Gambar 2. Bagan Penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Arif, M. C.W, M. Tarigan ,R. Saragih dan F. Rahmadani. 2011. Budidaya Kopi Konservasi. Conservation International Indonesia. Jakarta
- Badan Pusat Statistik Sumut, Produksi kopi di Sumatra Utara Tahun 2020 Hingga Tahun 2022
- Compant, S. 2005. Use Plant Growth Promoting Bacteria For Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanism of Action, and Future Prospects. Minireview J. APPI Microbiologi 71:4951-4959.
- Direktor Jenderal Perkebunan. 2009. Statistik Perkebunan Indonesia 2007-2009. Direktorat Jendral
- Djafarudin (2004) Dasar-Dasar Pengendalian Penyakit Tanaman, Bumi Aksara, Jakarta
- Dita Serdani, A., Qurata Aini, L., dan Latief Abadi, A. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari tanaman padi (*Oryza sativa*) sebagai pengendali penyakit hawar daun bakteri akibat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.
- Endofit Dari Daun Dan Batang Pada Tanaman Direktorat Jenderal Perkebunan 2014. Pedoman teknis budidaya kopi yang baik (Good agriculture practices (GAP) on coffee).
- Gao, FK, Dai, CC & Liu, XZ 2010, Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens, African Journal of Microbiology Research 4:1346–1351, diakses pada 12 Janu-ari 2012.
- Hutagalung, W. 2018. Isolasi dan Uji Efektifitas Bakteri Endofit dari Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Beberapa Mikroba Patogen. Skripsi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Kuntari, Z., Sumpono., dan Nurhamidah. 2017. Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Akar Tanaman Moringa oleifera L (Kelor). Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia.
- Kusumawati, D., Fachriyan, H dan Maria, B. 2014. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Current Biochemistry.
- Laila, M. S., Nurriaty Agus, A., & Annie, P. S. (2011). Identifikasi Penyakit Busuk Buah Pada Tanaman Kopi Arabica (*Coffea arabica* Linnaneus.).
- Laila, M.S.I. (2011). Identifikasi Penyakit Busuk Buah dan Aplikasi Pengendalian Hama Terpadu Terhadap Perkembangan Serangan Hama Bubuk Buah

- (*Hypothenemus hampei* Ferr.) pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* Linnaeus). Tesis. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Meyuliana, A., Yora, M., Elinda, F., Miranda, CND., Sihotang, S. 2024. The Combination of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Paitan Root with Several Types of Bokashi and Its Effect on Tatsoi Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian, 9 (1)
- Najiyati, S., & Danarti. (2012). Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen. Penebar Swadaya.
- Ningrum, R. S., Rosalina, R., Lukis, P. A., 2017, Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Mangga Podang (*Mangifera indica* L.) Asal Kabupaten Kediri. Seminar Nasional Hayati. 4 November 2017, Kediri
- Pulungan, A. S., dan Tumangger, D.E. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna pubescens* Blume). Jurnal Biolink
- Fauzi G, Hingdri (2014) Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit pada tanaman teh (*Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze) produktif dan belum menghasilkan klon GMB 7 dataran tinggi.
- Rahardjo P. 2012. Panduan Budidaya dan Pengelolaan Kopi Arabika dan Robusta Jakarta : Penebar Swadaya.
- Rudy SU (2004) Kelayakan Industri Kopi Di Provinsi Kalimantan Barat, Jurnal Bina Praja.
- Rudy, dkk.2009. Pengaruh Pola Curah Hujan Terhadap Produksi Kopi: Studi di Satu Perkebunan di Banyuwangi. Http. Jurnal Agrotropika.
- Sartini, S; Rahmiati, R; Herliyani, S; Riyanto R, Panggabean, E., L.,; Sihotang, S. 2023. Antibacterial Test Of Teki Grass Extract (*Cyperus rotundus*) In Inhibiting *Escherichia coli* AND *Salmonella typhi*. Jurnal Penelitian Pendidikan IPA. 9(6): 4530-4534
- Soesanto L (2008) Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. Rajawali Press. Jakarta
- Sianipar, G. 2019. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L). Skripsi. Universitas Medan Area. Medan
- Sihotang, S dan Fachrial. E. 2021. Isolasi, Identifikasi, Dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Dari Mekonium. Jurnal Kedokteran Stm (Sains dan Teknologi Medik) 3 (2), 82-90
- Sihotang, S., Manurung, M., Halawa, E., Alfazri, I., Tarigan, N., Purba, F., Siregar, Y., Aldy, M. 2023. Isolasi Bakteri Endofit Pada Daun Terong Ungu (*Solanum melongena* L.). Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian.
- Sihotang, S; Prasetyo, D; Noer, Z; Setiyabudi, L; Sari, D, N.,; Munaeni, W; Putri,

D., F., A.,; Fatma, Y., S.,; Mujtahidah, T.; Sulthoniyah, S. T. M.; Rohmah, M. K. 2022. Pengantar Bioteknologi.

Semangun, H. 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Edisi ke-4. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Tumangger, D. E. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume). Skripsi. Universitas Negeri Medan. Medan



LAMPIRAN

1. Jadwal Pelaksanaan Kegiatan Penelitian

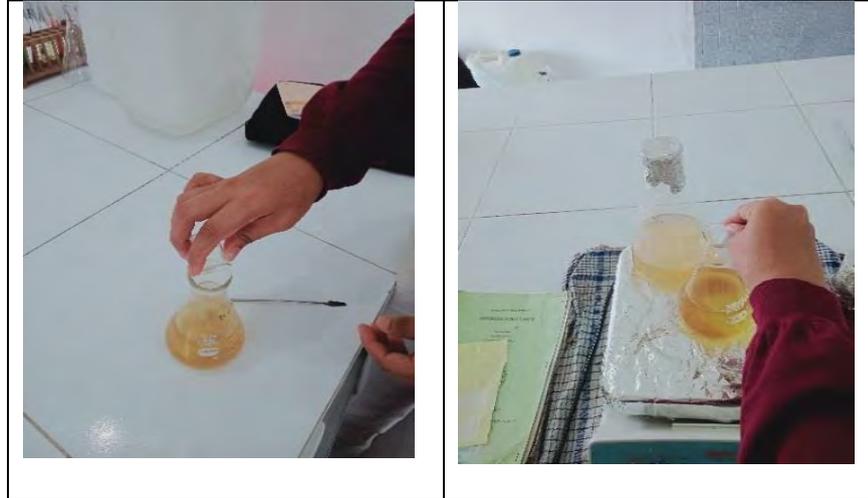
No	Kegiatan	Bulan															
		September 2023				Oktober 2023				November 2023				Desember 2023			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Sterilisasi Alat																
2	Pengambilan Sampel Daun																
3	Isolasi Bakteri Endofit																
4	Pemurnian dan Pengamatan																
5	Parameter Penelitian																
6	Identifikasi Bakteri Endofit																
7	Uji Daya Hambat Bakteri Endofit sebagai pembanding terhadap <i>Fusarium</i> Sp.																
8	Pengolahan Data																

2. Hasil Uji Antimikroba

Kode	U1(mm)	U2(mm)	U3(mm)
Kontrol Negatif	6,0	6,0	6,0
BETK 01	7,1	7,3	7,5
BETK 02	6,8	6,9	6,7
BETK 03	7,5	7,6	7,8
BETK 04	8,2	8,3	8,6
BETK 05	9,1	9,5	9,6
Kontrol Positif	15,2	15,3	15,6

3. Pembuatan Media NA





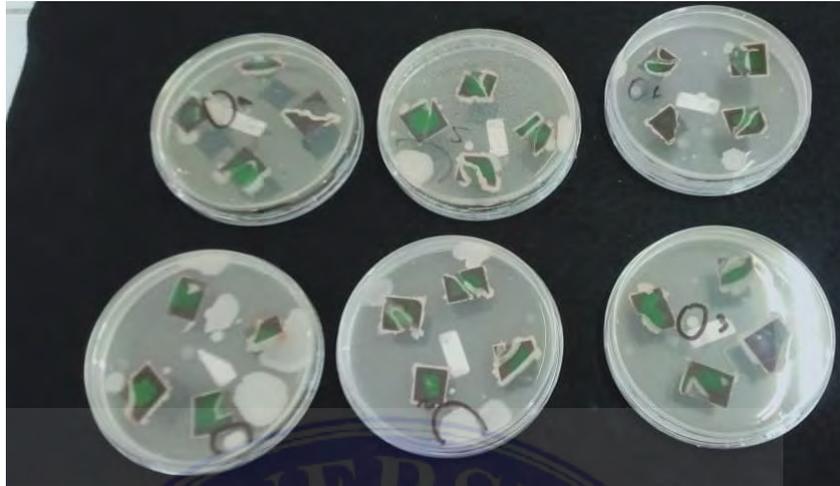
Ket : Media NA dibuat dengan cara melarutkan NA bubuk sebanyak 4,00 gram dalam 200 ml akuades kemudian dipanaskan di atas hotplate hingga homogen, kemudian sterilkan pada autoklaf suhu 121⁰C selama 1 jam guna menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan.

4. Proses Isolasi Bakteri Endofit



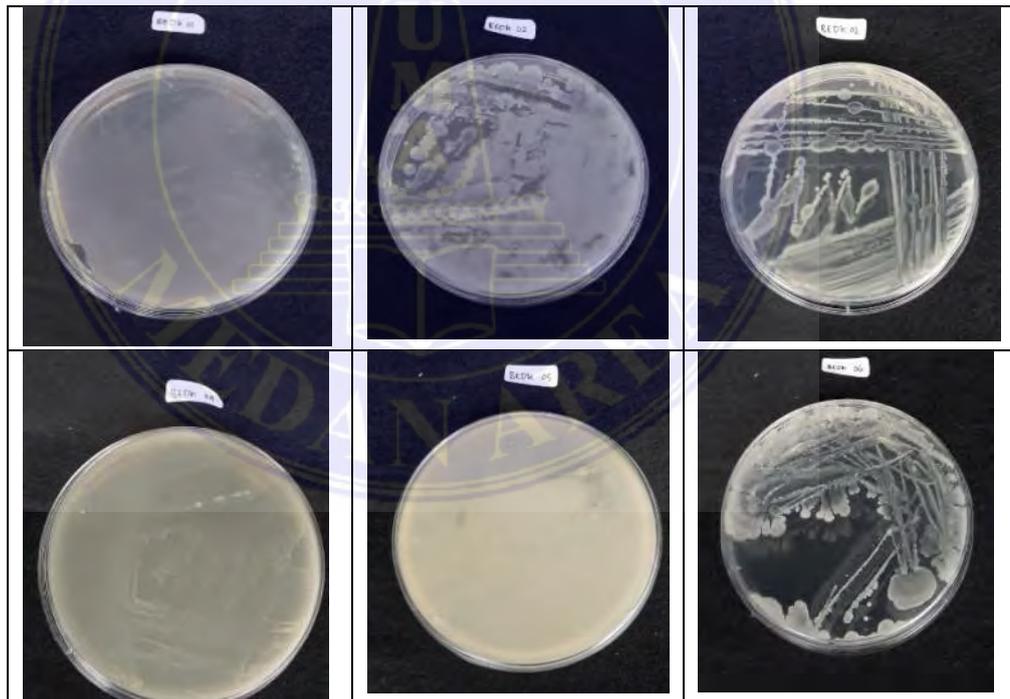
Ket : Isolat daun kopi yang sudah dipotong-potong dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi media. Kemudian diinkubasi sela 1x 24 jam di dalam inkubator untuk menginkubasi suatu bakteri agar dapat hidup pada media.

5. Hasil isolasi bakteri endofit daun kopi



Ket : Hasil isolasi bakteri endofit yang telah diinkubasikan.

6. Hasil Isolasi dari Proses Pemurnian Bakteri Endofit



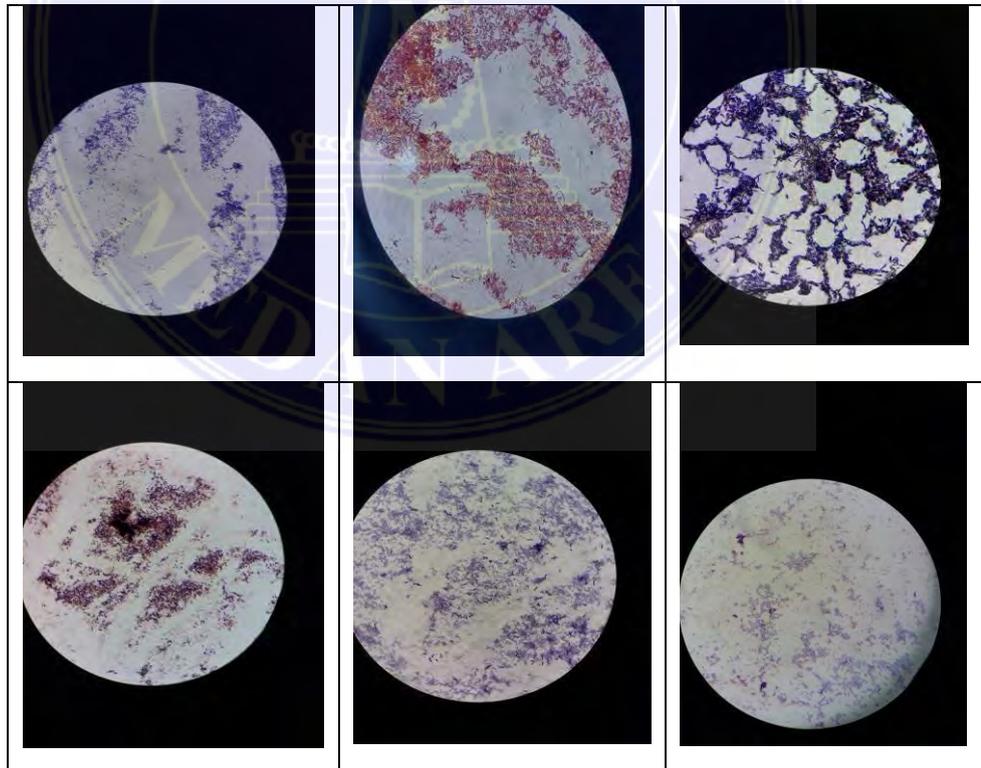
Ket : proses pemurnian bakteri diambil 6 ose bakteri kemudian diinokulasikan kmedia NA dengan cara menggores berulang-ulang sehingga diperoleh isolat murni.

7. Pewarnaan Gram



Ket : pewarnaan gram merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mempermudah pengamatan sel mikroorganisme (khususnya bakteri), pewarnaan bakteri dilakukan dengan proses olesan bakteri dengan larutan kristal violet ,etanol, safranin dan alkohol kemudian diamati dibawah mikroskop.

8. Hasil Pewarnaan Gram

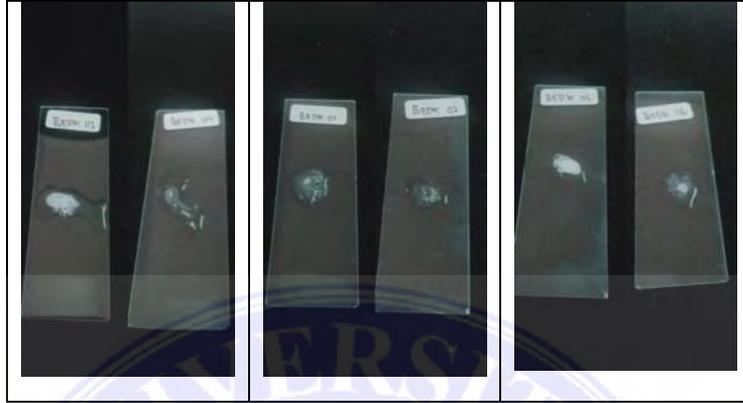


Ket : Gram positif dengan kode BETK 01, 02, 04, 05 dan 06. Gram negatif

36

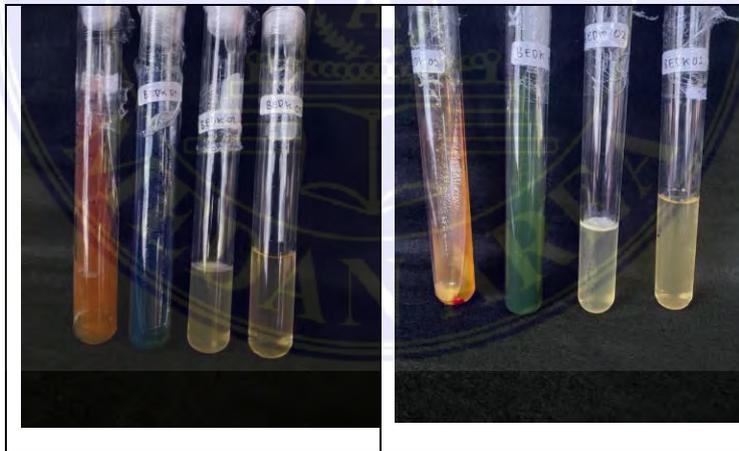
dengan kode BETK 02. Sel bakteri berwarna ungu mengindikasikan gram positif sedangkan sel bakteri berwarna merah mengindikasikan Gram negatif.

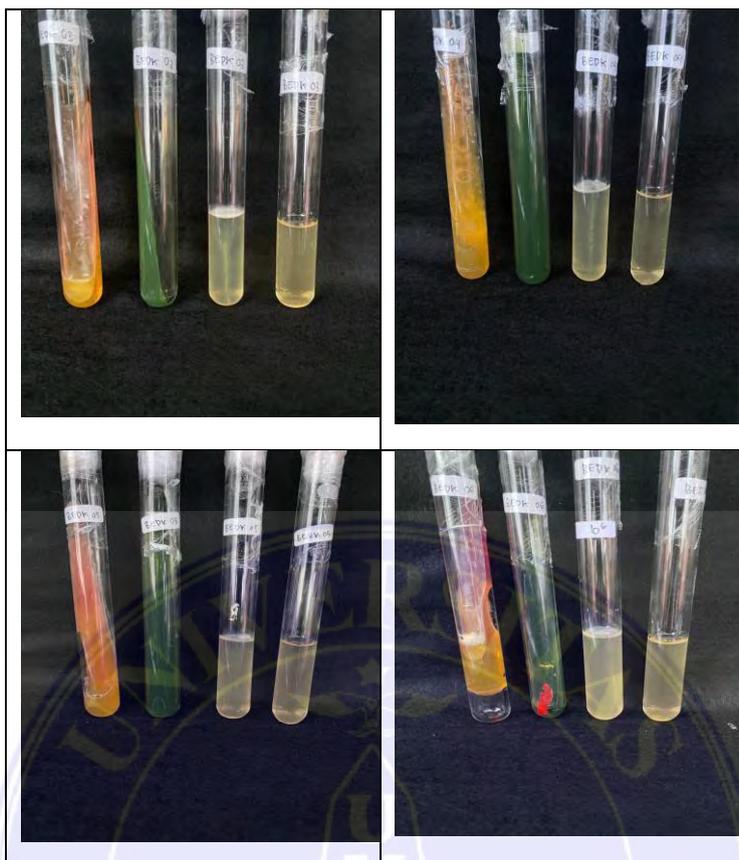
9. Uji Biokimia



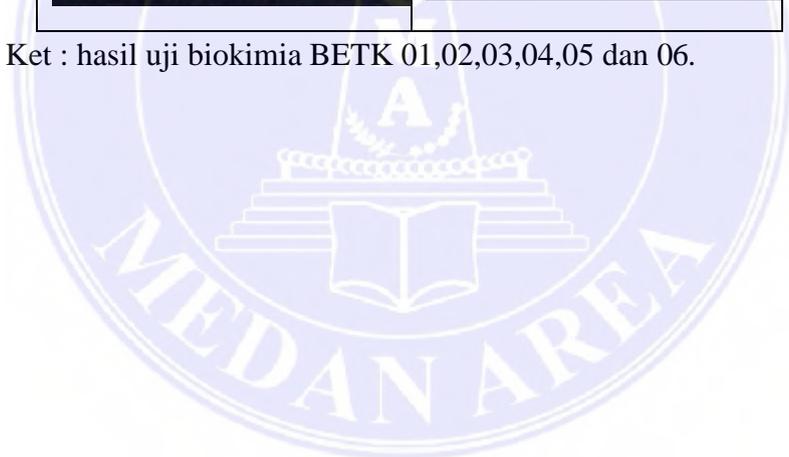
Ket : dalam uji katalase, terlihat adanya gelembung-gelembung gas oksigen yang dilepas ketika hidrogen peroksida ditambahkan ke dalam sampel. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas katalase dalam sampel. (hasil positif menunjukkan adanya gelembung pada sekitar bakteri.).

10. Uji Sitrat Hasil Uji Biokimia

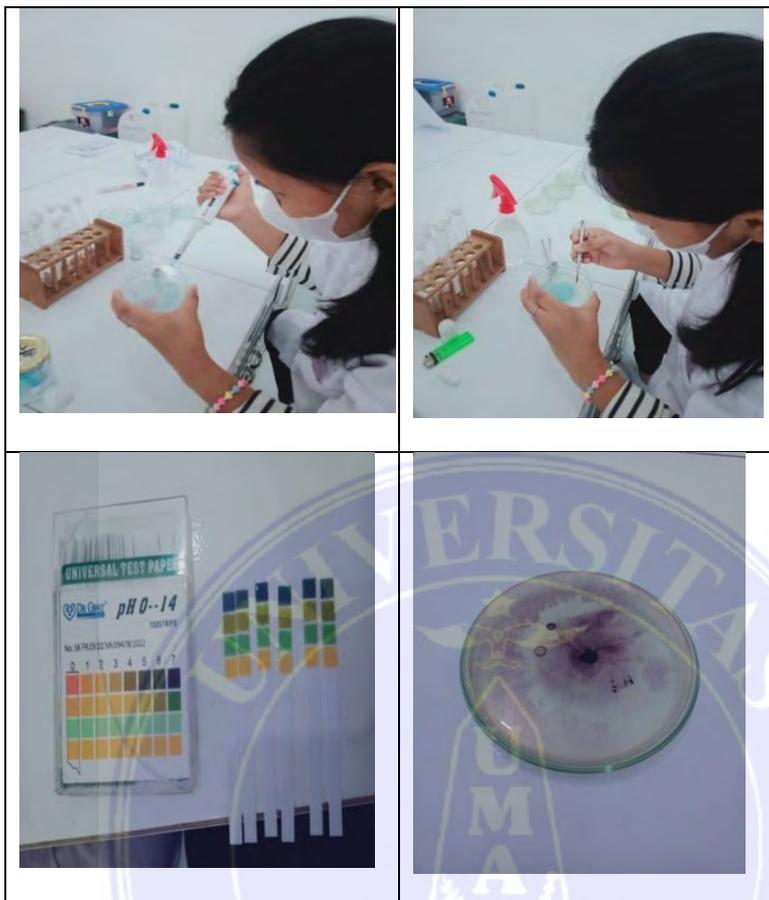




Ket : hasil uji biokimia BETK 01,02,03,04,05 dan 06.



11. Proses Pengerjaan Antimikroba dan Pengukuran pH



Hasil Analisis dengan Data SPSS Verb 2

Kode_isolat

Kode_isolat	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Ulangan BETK 01	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
BETK 02	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
BETK 03	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
BETK 04	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
BETK 05	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
BETK 06	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
Kontrol Negatif	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
Kontrol Positif	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%

Descriptives^a

Kode_isolat	Statistic	Std. Error	
Ulangan BETK 01	Mean	7.3000	
	95% Confidence Interval for Lower Bound Mean Upper Bound	6.8032 7.7968	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	7.3000	
	Variance	.040	
	Std. Deviation	.20000	
	Minimum	7.10	
	Maximum	7.50	
	Range	.40	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	.000	1.225
	Kurtosis	.	.
	BETK 02	Mean	6.8000
95% Confidence Interval for Lower Bound Mean Upper Bound		6.5516 7.0484	
5% Trimmed Mean		.	
Median		6.8000	
Variance		.010	
Std. Deviation		.10000	

	Minimum	6.70	
	Maximum	6.90	
	Range	.20	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	.000	1.225
	Kurtosis	.	.
BETK 03	Mean	7.6333	.08819
	95% Confidence Interval for Lower Bound Mean Upper Bound	7.2539 8.0128	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	7.6000	
	Variance	.023	
	Std. Deviation	.15275	
	Minimum	7.50	
	Maximum	7.80	
	Range	.30	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	.935	1.225
	Kurtosis	.	.
BETK 04	Mean	8.3667	.12019
	95% Confidence Interval for Lower Bound Mean Upper Bound	7.8496 8.8838	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	8.3000	
	Variance	.043	
	Std. Deviation	.20817	
	Minimum	8.20	
	Maximum	8.60	
	Range	.40	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	1.293	1.225
	Kurtosis	.	.
BETK 05	Mean	9.4000	.15275
	95% Confidence Interval for Lower Bound Mean Upper Bound	8.7428 10.0572	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	9.5000	
	Variance	.070	
	Std. Deviation	.26458	
	Minimum	9.10	
	Maximum	9.60	

	Range	.50	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	-1.458	1.225
	Kurtosis	.	.
BETK 06	Mean	7.2667	.12019
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 6.7496 Upper Bound 7.7838	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	7.2000	
	Variance	.043	
	Std. Deviation	.20817	
	Minimum	7.10	
	Maximum	7.50	
	Range	.40	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	1.293	1.225
	Kurtosis	.	.
Kontrol Positif	Mean	15.3667	.12019
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 14.8496 Upper Bound 15.8838	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	15.3000	
	Variance	.043	
	Std. Deviation	.20817	
	Minimum	15.20	
	Maximum	15.60	
	Range	.40	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	1.293	1.225
	Kurtosis	.	.

a. Ulangan is constant when Kode_isolat = Kontrol Negatif. It has been omitted.

Tests of Normality^b

Kode_isolat	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ulangan BETK 01	.175	3	.	1.000	3	1.000
BETK 02	.175	3	.	1.000	3	1.000
BETK 03	.253	3	.	.964	3	.637
BETK 04	.292	3	.	.923	3	.463
BETK 05	.314	3	.	.893	3	.363
BETK 06	.292	3	.	.923	3	.463
Kontrol Positif	.292	3	.	.923	3	.463

Oneway

Descriptives

Ulangan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
BETK 01	3	7.3000	.20000	.11547	6.8032	7.7968
BETK 02	3	6.8000	.10000	.05774	6.5516	7.0484
BETK 03	3	7.6333	.15275	.08819	7.2539	8.0128
BETK 04	3	8.3667	.20817	.12019	7.8496	8.8838
BETK 05	3	9.4000	.26458	.15275	8.7428	10.0572
BETK 06	3	7.2667	.20817	.12019	6.7496	7.7838
Kontrol Negatif	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000
Kontrol Positif	3	15.3667	.20817	.12019	14.8496	15.8838
Total	24	8.5167	2.82099	.57583	7.3255	9.7079

	Minimum	Maximum
BETK 01	7.10	7.50
BETK 02	6.70	6.90
BETK 03	7.50	7.80
BETK 04	8.20	8.60
BETK 05	9.10	9.60
BETK 06	7.10	7.50
Kontrol Negatif	6.00	6.00
Kontrol Positif	15.20	15.60
Total	6.00	15.60

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.803	7	16	.156

Test of Homogeneity of Variances

Ulangan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182.487	7	26.070	763.010	.000
Within Groups	.547	16	.034		
Total	183.033	23			

Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

Duncan^a

Kode_isolat	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Kontrol Negatif	3	6.0000					
BETK 02	3		6.8000				
BETK 06	3			7.2667			
BETK 01	3			7.3000			
BETK 03	3				7.6333		
BETK 04	3					8.3667	
BETK 05	3						9.4000
Kontrol Positif	3						
Sig.		1.000	1.000	.828	1.000	1.000	1.000

Duncan^a

Kode_isolat	Subset for
	7
Kontrol Negatif	
BETK 02	
BETK 06	
BETK 01	
BETK 03	
BETK 04	
BETK 05	
Kontrol Positif	15.3667
Sig.	1.000

Rata-rata untuk kelompok dalam himpunan bagian yang homogen ditampilkan.a. Menggunakan Ukuran Sampel Rata-Rata Harmonik = 3.00.

