

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman hortikultura seperti cabai (*Capsicum annum* L.) umumnya ditanam di daerah dataran rendah dan dataran tinggi. Karena nilai ekonominya yang tinggi, cabai sangat diminati baik di dalam negeri maupun di luar negeri (Cahya & Setiawan, 2024). Karena dapat dikonsumsi di dalam negeri dan diekspor ke luar negeri, cabai merupakan produk yang sangat menjanjikan dan akan memberikan dampak besar pada perekonomian Indonesia. Berdasarkan Badan Pusat Statistik (2021), produktivitas cabai besar nasional yaitu mencapai 1.360.571 ton /tahun dan cabai rawit sebesar 1.386.447 ton/tahun. Produktivitas cabai di Sulawesi Selatan pada tahun 2021 mencapai 17.822 ton/tahun untuk cabai besar dan 26.423 ton/tahun untuk cabai rawit. Jumlah tersebut mengalami penurunan pada tahun 2022 yaitu 16.671 ton/tahun untuk cabai besar dan terdapat 23.761 ton/tahun untuk cabai rawit (BPS, 2023).

Permintaan cabai meningkat setiap tahun di Indonesia. Namun, produksi cabai Indonesia masih belum mampu memenuhi permintaan konsumen. Hal ini disebabkan oleh hasil panen yang tidak konsisten dan produktivitas yang relatif rendah. Rendahnya hasil panen cabai ini diyakini disebabkan oleh masalah hama dan penyakit tanaman (Satrah, 2023). Salah satu penyakit yang menyerang tanaman cabai adalah antraknosa. Penyakit ini, yang sering disebut sebagai penyakit patek, merupakan kontributor utama kerugian finansial di perkebunan cabai di seluruh dunia dan lazim terjadi di daerah tropis dan subtropis. Kerusakan antraknosa pada tanaman cabai dapat menyebabkan gagal panen di tingkat petani dan setelah panen, menurunkan kualitas dan nilai jual buah. Selain buah cabai, antraknosa juga merusak daun, batang, dan ranting tanaman (Rumahlewang, 2024). Penyakit ini dapat mengakibatkan kehilangan hasil panen sebesar 25 hingga 100%, tergantung pada tingkat keparahannya (Arfiani et al., 2023).

Penyakit ini dapat menyerang tanaman cabai pada setiap tahap pertumbuhan, termasuk fase pasca panen (Rumahlewang, 2024). Setelah panen, gejalanya dimulai sebagai bercak cokelat kehitaman dan akhirnya berkembang menjadi busuk lunak, atau pembusukan bagian daging buah. Terdapat kelompok bintik hitam, yang merupakan kumpulan konidia dan aservuli, di tengah bintik-bintik tersebut. Buah yang terinfeksi mengering, mengerut, dan berubah warna menjadi jerami dalam kondisi ekstrem. Saat cuaca panas, cendawan hanya ada di area kecil yang tidak berkembang. Selama panen dan penyimpanan, cendawan berkembang pesat karena kelembaban yang tinggi (Bahari et al., 2023). *Colletotrichum* sp., cendawan penyebab antraknosa, tumbuh dengan cepat di lingkungan dengan kelembaban yang relatif tinggi (Alfons et al., 2023). Ketika suhu mencapai 32 derajat Celcius dan kelembaban udara cukup tinggi lebih dari 80% cendawan ini tumbuh sangat cepat. *Colletotrichum* sp. adalah cendawan parasit yang hidup di dalam aservulus (struktur aseksual cendawan parasit) dan memiliki konidia, atau spora. Cendawan *Colletotrichum* sp. secara makroskopis dicirikan oleh koloni berwarna abu-abu dengan tepi putih, permukaan yang halus dan rata, jalur perkembangan lateral yang menutupi media PDA, dan bentuk koloni yang konsisten. *Colletotrichum* sp. menunjukkan hifa hialin, bercabang, dan bersepta di bawah mikroskop. Cendawan

Colletotrichum sp. menghasilkan konidia panjang, hialin, tanpa pembelahan yang memiliki ujung membulat. Konidia *Colletotrichum* sp. memiliki panjang berkisar antara 5 hingga 10 µm (Wakhidah et al., 2021)

Petani biasanya menggunakan fungisida sintetis untuk mengendalikan antraknosa. Namun, konsumen mungkin mengalami masalah kesehatan baru akibat buah yang mereka konsumsi mengandung residu pestisida. Selain risiko kesehatan, penggunaan pestisida yang terus-menerus dan tidak tepat dapat menimbulkan sejumlah konsekuensi negatif, seperti kerusakan lingkungan, resistensi hama, kemunculan kembali hama, dan kematian musuh alami (Sumayanti, 2023). Salah satu strategi pengelolaan yang lebih ramah lingkungan yang dikembangkan untuk menghentikan atau mengurangi dampak negatif pestisida sintetis adalah penggunaan pupuk hayati. Komponen utama pupuk hayati adalah mikroorganisme yang mendorong perkembangan tanaman. Mikroorganisme ini memiliki kemampuan untuk meningkatkan keanekaragaman dan aktivitas bakteri asli. Mereka juga dapat meningkatkan kualitas pertumbuhan tanaman vegetatif dan generatif, termasuk pembentukan buah, pematangan, pembungaan, dan pembentukan tunas. Pupuk hayati, yang pada dasarnya adalah pupuk hidup, juga dikenal dengan istilah ini. Pupuk hayati adalah mikroorganisme yang ditambahkan ke tanah untuk meningkatkan penyerapan nutrisi oleh tanaman dari tanah atau udara (Waworuntu, 2023).

Pupuk yang mengandung agen biologis yang menekan penyakit tanaman dan berfungsi sebagai pengurai dikenal sebagai biofertilizer. Bakteri endofit termasuk di antara banyak mikroba bermanfaat yang dapat digunakan sebagai biofertilizer untuk meningkatkan kesuburan tanah dan pertumbuhan tanaman (Rismawati et al., 2024). Bakteri saprofit yang dikenal sebagai bakteri endofit hidup berdampingan dan berinteraksi dengan jaringan tanaman yang sehat tanpa menimbulkan gejala penyakit. Karena bakteri endofit merupakan agen biologis yang dapat menghasilkan dan memobilisasi fosfat, hormon pertumbuhan, dan enzim, keberadaannya dalam jaringan tanaman berkontribusi pada peningkatan pertumbuhan tanaman. Dipercaya bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan antibiotik dan bahan kimia antimikroba lainnya, yang penting dalam membuat tanaman tahan terhadap hama dan penyakit. Banyak spesies tanaman, termasuk tanaman hortikultura, perkebunan, tanaman pangan, dan kehutanan, memiliki bakteri endofit (Kurniawati et al., 2020).

Banyak kemajuan dalam formulasi bakteri tanaman bermanfaat telah diciptakan untuk mendukung tuntutan pertanian organik. "Mikrobat," produk biofertilizer yang dikembangkan oleh sekelompok empat mikroba luar biasa yang bekerja sama *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Streptomyces* sp. adalah salah satu terobosan tersebut. Mikroorganisme ini memiliki berbagai fungsi, termasuk fiksasi nitrogen, pelarutan fosfor, penyediaan auksin, sitokinin, pengatur pertumbuhan, vitamin, dan asam amino. Di Indonesia, berbagai macam mikroorganisme telah dikembangkan sebagai biofertilizer, termasuk bakteri pelarut fosfat (*Basil* sp. dan *Pseudomonas* sp.), bakteri pengikat nitrogen simbiotik (*Rhizobium* sp.), bakteri pengikat nitrogen non-simbiotik (*Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp.), dan bakteri pengurai (*Lactobacillus* sp. dan *Saccharomyces cerevisiae*) (Nurmujaahidin et al., 2023).

Pupuk hayati Mikrobat merupakan salah satu inovasi berbasis mikroorganisme yang berfungsi sebagai biofertilizer sekaligus bioprotektan. Mikroorganisme yang terkandung di dalamnya diketahui mampu meningkatkan ketersediaan unsur hara, merangsang pertumbuhan tanaman melalui produksi hormon seperti auksin dan giberelin, serta berperan dalam mekanisme antagonisme terhadap patogen melalui kompetisi ruang dan nutrisi, produksi senyawa antimikroba, serta induksi ketahanan sistemik tanaman. Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Nurmujahidin et al., 2023) Mikrobat telah terbukti efektif sebagai stimulan dalam meningkatkan produktivitas serta menekan keparahan penyakit hawar daun dan bercak daun bakteri pada tanaman padi. Hal ini menunjukkan bahwa Mikrobat memiliki potensi tidak hanya sebagai pupuk, tetapi juga sebagai agen pengendali hayati yang ramah lingkungan.

Namun demikian, hingga saat ini pemanfaatan Mikrobat masih terbatas pada komoditas tertentu, khususnya padi, dan belum banyak dikaji pada tanaman hortikultura seperti cabai. Padahal, tanaman cabai merupakan komoditas penting dengan nilai ekonomi tinggi yang sangat rentan terhadap serangan penyakit, terutama antraknosa yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum* sp. Oleh karena itu, pengembangan alternatif pengendalian yang lebih aman dan berkelanjutan menjadi sangat mendesak. Penggunaan pupuk hayati seperti Mikrobat berpotensi menjadi solusi strategis karena mampu mengintegrasikan fungsi pemupukan dan pengendalian penyakit sekaligus. Namun, efektivitas Mikrobat dalam menekan pertumbuhan patogen spesifik seperti *Colletotrichum* sp. pada tanaman cabai belum diketahui secara ilmiah, terutama terkait dosis optimal yang mampu memberikan efek penghambatan maksimal.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai efektivitas pupuk hayati Mikrobat pada berbagai konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum* sp. penyebab antraknosa pada tanaman cabai menjadi penting untuk dilakukan. Penelitian ini tidak hanya berkontribusi dalam pengembangan teknologi pengendalian hayati yang ramah lingkungan, tetapi juga mendukung upaya peningkatan produktivitas cabai secara berkelanjutan serta mengurangi ketergantungan terhadap pestisida kimia.

1.2. Landasan Teori

1.2.1. Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L.)

Di banyak negara, termasuk Indonesia, tanaman cabai besar (*Capsicum annuum* L.) merupakan tanaman hortikultura yang penting secara strategis dan membantu memenuhi kebutuhan industri dan pangan. Khususnya dalam bisnis kuliner sebagai bahan olahan dan rempah-rempah, cabai besar terkenal karena nilai ekonominya yang tinggi. Cabai termasuk dalam famili Solanaceae, yang dibedakan oleh batangnya yang tinggi, daunnya yang hijau tua, dan buahnya yang berbentuk oval dengan warna hijau, merah, atau kuning. Keunggulan tanaman cabai adalah plasenta, atau kulit bagian dalam cabai yang berwarna putih tempat bijinya berada, mengandung senyawa kapsaisin, yang memberikan rasa pedas. (Ziaulhaq & Amalia, 2022)

Tanaman cabai berukuran besar dipengaruhi oleh sejumlah variabel, termasuk sinar matahari, kelembapan, dan suhu. Kondisi pertumbuhan terbaik untuk tanaman ini adalah suhu 24 hingga 30°C dan kelembapan sedang hingga tinggi. Untuk menjamin produktivitas maksimal, pasokan nutrisi optimal melalui pemupukan dan pengelolaan air

yang tepat sangat penting. Tergantung pada varietas dan iklim, cabai berukuran besar mulai berbuah dua hingga tiga bulan setelah tanam. Tanah perlu diperbaiki dan diolah saat menanam tanaman cabai untuk meningkatkan hasil panen dan memberikan habitat pertumbuhan yang ideal bagi tanaman (Hariyadi et al., 2023)

1.2.2. Penyakit Antraknosa Pada Tanaman Cabai

Cendawan *Colletotrichum* spp. menyebabkan antraknosa pada tanaman cabai. Penyakit ini merupakan ancaman serius bagi pertanian cabai karena dapat mengakibatkan kerugian besar baik dalam kuantitas maupun kualitas panen. Kondisi hangat dan lembap mendorong pembentukan dan penularan spora cendawan, sehingga antraknosa lebih umum terjadi di daerah-daerah tersebut. *Colletotrichum* tumbuh paling baik pada suhu antara 25 dan 30°C dan tingkat kelembapan di atas 85%. Bagian pangkal batang bawah tanaman, tempat ia bersentuhan dengan tanah, adalah tempat infeksi pertama kali muncul. Area ini menjadi cokelat dan membusuk. Busuk basah adalah hasil dari penyebaran infeksi ke akar. Perkembangan massa spora menyebabkan busuk kering pada pangkal batang berubah menjadi putih keabu-abuan jika kelembapan tanah cukup tinggi. (Alfia & Haryadi, 2022)

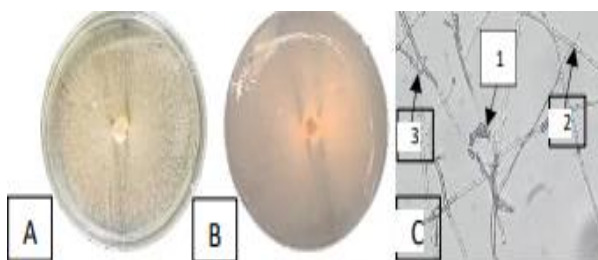


Gambar 1. Antraknosa pada buah cabai (Avianto & Handayani, 2023)

Ada beberapa metode untuk mencegah antraknosa pada cabai, termasuk penggunaan fungisida biologis dan kimia, varietas tahan penyakit, dan teknik pertanian yang baik. Penggunaan agen biologis merupakan salah satu solusi potensial untuk kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh penggunaan pestisida kimia yang berlebihan. Menurut survei terbaru, petani konvensional dan organik tertarik pada pupuk hayati dan produk pengendalian hayati lainnya (Alfia & Haryadi, 2022)

1.2.3. *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit Antraknosa

Penyakit antraknosa disebabkan oleh genus cendawan patogen yang disebut *Colletotrichum* sp. pada berbagai tanaman, termasuk tanaman hortikultura, tanaman pangan, dan tanaman hias. Cendawan ini termasuk dalam kelas Ascomycetes dan ordo Glomerellales. Cendawan ini menghasilkan konidia berbentuk tabung silindris, beberapa di antaranya bersel tunggal, hialin (tidak berwarna), melengkung seperti sabit, dan beberapa di antaranya lebih panjang dari yang lain. Dua spesies cendawan penyebab penyakit antraknosa memiliki konidia dengan ukuran panjang 12,70 hingga 14,45 μm dan lebar 3,67 hingga 5,38 μm (Rumahlewang, 2024)



Gambar 2. Cendawan yang diisolasi dari *Colletotrichum* sp.; A. tampak depan secara makroskopis; B. tampak belakang secara makroskopis; C. mikroskopi dengan perbesaran 400 kali (1. konidia; 2. hifa yang menyekat; 3. hifa yang bercabang)(Muhibuddin, 2024)

Cara utama penyebaran *Colletotrichum* sp. adalah melalui angin, hujan, serangga, dan aktivitas manusia. Terutama di iklim hangat dan lembap, spora cendawan ini dapat bertahan dalam sisa-sisa tanaman yang terkontaminasi atau di tanah sebelum menginfeksi tanaman baru. Infeksi laten bersifat sistemik (Norsalehah et al., 2022) Penggunaan varietas tanaman tahan penyakit, pemberian fungisida yang tepat, dan teknik budidaya yang efektif sangat diperlukan untuk mengendalikan penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum* sp. Untuk menghentikan penyebaran cendawan ini, pengendalian sisa-sisa tanaman, pemangkasan tanaman yang sakit, dan rotasi tanaman juga sangat penting. Fungisida dapat secara efektif mengurangi infeksi, tetapi penggunaan berlebihan dapat menyebabkan resistensi patogen terhadap bahan kimia, oleh karena itu pendekatan pengelolaan terpadu sangat disarankan.

1.2.4. Mikrobat

Mikroorganisme hidup digunakan dalam inovasi pertanian yang disebut pupuk hayati Mikrobat untuk meningkatkan kesuburan tanah dan berfungsi sebagai fungisida alami. Empat bakteri unggul yang membentuk Mikrobat adalah *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Streptomyces* sp. Bersama-sama, mereka menggunakan metode bioteknologi untuk menyediakan bakteri pengikat nitrogen, pelarut fosfor, pengatur pertumbuhan, auksin, sitokinin, vitamin, dan asam amino dalam bentuk cair untuk memenuhi kebutuhan pertanian organik. Sejumlah besar mikroorganisme, seperti bakteri pelarut fosfat (*Basil* sp. dan *Pseudomonas* sp.), bakteri pengikat nitrogen simbiotik (*Rhizobium* sp.), bakteri pengikat nitrogen non-simbiotik (*Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp.), dan bakteri pengurai (*Lactobacillus* sp. dan *Saccharomyces cerevisiae*), telah banyak dikembangkan sebagai pupuk hayati di Indonesia. (Nurmujahidin et al., 2023)

Tabel 1. Bioaktivator Mikrobat Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. (Kuswinanti et al., 2026)

Merek Dagang	Komposisi	Gambar
Mikrobat	Bakteri Bakteri Penambat N : $2,25 \times 10^9$ cfu/ ml Bakteri Pelarut P : $5,47 \times 10^7$ cfu/ml Bakteri Pelarut ZPT : $4,67 \times 10^7$ cfu/ml Bakteri Pengendali Hayati : $3,25 \times 10^7$ cfu/ml Bakteri Pendegradasi Selulosa : $2,51 \times 10^4$ cfu/ml	

Selain sebagai pupuk hayati, Mikrobat juga berfungsi sebagai fungisida alami. Mikrobat memiliki kemampuan mengendalikan penyakit tanaman yang disebabkan oleh cendawan patogen. Mikroba yang terkandung dalam Mikrobat bersaing dengan cendawan patogen untuk mendapatkan nutrisi atau ruang hidup, menghasilkan senyawa antibiotik, atau memicu respons pertahanan tanaman. Mekanisme ini membantu menekan perkembangan patogen tanpa meninggalkan residu kimia di lingkungan. Penggunaan Mikrobat sebagai pupuk hayati dan fungisida menawarkan solusi ramah lingkungan yang tidak hanya melindungi tanaman dari penyakit, tetapi juga mendukung keberlanjutan dan kesehatan ekosistem pertanian secara keseluruhan (Rafii et al., 2023).

Mikrobat merupakan kombinasi pupuk hayati dan fungisida hayati yang diformulasi dalam bentuk cair dan diproduksi melalui proses bioteknologi untuk mendukung kebutuhan pertanian organik. Pemanfaatan pupuk hayati perlu dikembangkan dalam usaha mereduksi penggunaan bahan kimia sintetis. Aplikasi pupuk hayati menjadi pelengkap yang sangat baik, karena selain meningkatkan kesuburan tanah juga memacu pertumbuhan tanaman. Pupuk hayati berperan mempermudah penyediaan hara, dekomposisi bahan organik dan menyediakan 10 lingkungan rhizosfer lebih baik yang pada akhirnya mendukung pertumbuhan dan peningkatan produksi tanaman. Berbagai spesies mikroba dari bakteri telah berhasil diisolasi dan dievaluasi keefektifannya sebagai bahan aktif pupuk dan pestisida hayati yang efektif. Pengembangan pupuk dan pestisida hayati yang dihasilkan diharapkan dapat meningkatkan daya saing komoditas pertanian melalui sistem produksi ramah lingkungan dengan memanfaatkan sumber daya alam secara optimal guna mendukung industri pertanian berdaya saing dan berkelanjutan (Wirawan et al., 2025).

Proses pengenceran pupuk mikrobat dilakukan sebelum diaplikasikan agar tanaman dapat menerima semua unsur hara yang terkandung dalam pupuk cair yang diberikan. Dengan pengenceran, mobilitas unsur hara dalam tanaman jauh lebih baik. Aplikasi pupuk hayati efektif jika diarahkan pada jaringan meristem. Bagian tanaman muda seperti tunas, daun muda atau pucuk tanaman memiliki respon paling besar terhadap serapan unsur hara. Dengan memberikan pupuk hayati mikrobat yang diformulasi dalam bentuk cair melalui penyemprotan ke bagian tanaman muda secara tidak langsung telah membuat pupuk tersebut lebih cepat dimanfaatkan oleh tanaman.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian bertujuan untuk mengetahui efektivitas pupuk hayati Mikrobat dengan berbagai tingkat konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit antraknosa pada cabai. Manfaat dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai bahan informasi tentang pengaruh pengaplikasian pupuk hayati mikrobat sebagai alternatif pengganti fungisida sintetik yang lebih ramah lingkungan pada tanaman cabai

1.4 Hipotesis

Terdapat setidaknya satu perlakuan yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi berpengaruh nyata dan efektif dalam menekan pertumbuhan *Colletotrichum* sp.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar, mulai November 2024 hingga akhir tahun tersebut.

2.2. Alat dan Bahan

Timbangan analitik, cawan Petri, Laminar Air Flow (LAF), autoklaf, inkubator, pisau bedah, alat pelubang gabus, jarum inokulasi, pinset, labu Erlenmeyer, botol kultur, hemositometer, mikropipet, jarum preparasi, kaca objek, kaca penutup, gelas ukur, pipet penetes, mikroskop, pengocok inkubator, kertas aluminium, jarum suntik, tisu, plastik pembungkus, kertas label alat tulis, dan kamera termasuk di antara instrumen yang digunakan.

Bahan yang digunakan adalah pupuk hayati Mikrobat, isolat *Colletotrichum* sp. asal buah tanaman cabai, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), Chloramphenicol, *lactofenol cotton blue*, *tween 20*, aquades, alkohol 70%.

2.3. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan konsentrasi yang digunakan yaitu mengaju pada uji pendahuluan yang telah dilakukan terlebih dahulu. Perlakuan yang diuji terdiri dari 4 tingkat konsentrasi Mikrobat, yaitu :

P0= kontrol

P1= konsentrasi 5 %

P2= Konsentrasi 10%

P3= Konsentrasi 15%

2.4. Prosedur Penelitian

Adapun Proses penelitian sebagai berikut

2.4.1. Pembuatan Media Pertumbuhan Cendawan *Colletotrichum* sp.

Potato Dextrose Agar (PDA) dan Potato Dextrose Broth (PDB) adalah media yang digunakan dalam penelitian ini. 200 g kentang dipotong dadu digunakan untuk membuat PDA, yang kemudian direbus menggunakan 1000 ml air suling. Setelah mendidih, kentang disaring, air rebusan dibuang dan dilarutkan kembali dengan air suling untuk membuat larutan 1000 ml, ditambahkan 20 g gula atau dekstrosa dan 17 g agar, dan campuran dipanaskan hingga mendidih. Autoklaf digunakan untuk mensterilkan media PDA. Media PDA telah didisinfeksi, didinginkan, dan disiapkan untuk inokulasi.

Untuk membuat media Potato Dextrose Broth (PDB), 200 g kentang harus dibersihkan, dipotong-potong, dan direbus dalam 1000 ml air suling. Setelah direbus, kentang disaring, dan air rebusan dibuang dan dilarutkan kembali menggunakan air suling untuk membuat larutan 1000 ml. Kemudian ditambahkan 20 g gula atau dekstrosa, dan campuran dipanaskan hingga mendidih. Setelah disterilkan dengan autoklaf, media

PDB dipindahkan ke wadah kultur, dibungkus dengan aluminium foil, dan disegel dengan plastik pembungkus.

2.4.2. Isolasi Cendawan *Colletotrichum* sp

Cendawan *Colletotrichum* sp. didapatkan dari cabai yang menunjukkan gejala penyakit antraknosa yang didapatkan dari penjual sayur di Jl. Bonto Biraeng, Kel. Barombong, Kec. Tamalate, Kota Makassar . Bagian cabai yang sehat dan terinfeksi dipotong, dibersihkan dengan alkohol 70%, dibilas dua kali dengan air suling steril, dan kemudian dijemur di atas tisu steril untuk memisahkan cendawan dari cabai yang sakit. Setelah kering, setiap fragmen diletakkan pada media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang.

2.4.3. Pemurnian Cendawaan *Colletotrichum* sp

Pemurnian dilakukan segera untuk mendapatkan kultur murni setelah koloni berkembang dari isolasi dan beberapa koloni unik telah terdeteksi. Langkah pertama dalam pemurnian adalah menggunakan mikroskop untuk mengidentifikasi cendawan yang sedang berkembang. Barnett (1969) menjadi dasar identifikasi morfologi cendawan. Dengan menggunakan alat pelubang gabus, isolat diletakkan terbalik pada media PDA untuk menyelesaikan proses pemurnian. Setelah itu, kultur disimpan pada suhu ruang.

2.4.4. Identifikasi Patogen

Identifikasi patogen dilihat dari karakter morfologi cendawan, seperti warna koloni dan juga pola pertumbuhan. Identifikasi dilakukan dengan cara mengambil ujung hifa *Colletotrichum* sp. Menggunakan jarum preparat kemudian diletakkan diatas kaca preparate lalu ditetesi *lactofenol cotton blue* dan ditutup dengan *deg glass* dan diamati di bawah mikroskop

2.4.5. Uji Patogenisitas Cendawan *Colletotrichum* sp.

Tujuan dari uji patogenisitas cendawan *Colletotrichum* sp. adalah untuk menunjukkan bahwa patogen yang diperoleh dari lapangan mampu menyebabkan gejala yang sama seperti yang terlihat di sana. Uji patogenisitas dimulai dengan menambahkan sepuluh mililiter air suling steril ke cawan petri yang berisi kultur *Colletotrichum* sp. murni. Setelah penyaringan, kepadatan konidia dalam suspensi air cendawan *Colletotrichum* sp. diukur dan disesuaikan hingga mencapai kepadatan 10⁶ konidia/ml. Cabai merah besar kemudian ditutupi dengan suspensi tersebut.

2.4.6. Uji pendahuluan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Uji pendahuluan Mikroobat terhadap *Colletotrichum* sp. yaitu dengan meneteskan pupuk hayati mikrobat pada isolat *Colletotrichum* sp. pada cawan Petri dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda yaitu 0%, 5%, 10%, dan 15%. Analisis hasil dari uji pendahuluan ini dapat mengidentifikasi perlakuan yang memberikan hasil terbaik, sekaligus mengevaluasi kemungkinan masalah yang mungkin muncul selama penelitian utama.

2.4.7. Uji Antagonis pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Uji antagonis dilakukan menggunakan metode *dual culture* pada media PDA dalam cawan petri berdiameter 9 cm. Potongan miselium *Colletotrichum* sp. berdiameter 5 mm diambil menggunakan *cork borer*, kemudian diinokulasikan pada salah satu sisi media dengan jarak ± 3 cm dari tepi cawan. Pada sisi berlawanan, pupuk hayati Mikrobat diinokulasikan pada titik yang berjarak sama dari tepi cawan sehingga kedua inokulum saling berhadapan dalam satu garis lurus. Untuk perlakuan kontrol, hanya diinokulasikan patogen tanpa penambahan Mikrobat. Seluruh cawan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam dengan mengukur diameter koloni, kemudian persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus. (Jannah et al., 2023):

$$I = \frac{c - t}{c} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

I = Persentase Daya Hambat (%)

c = Jari-jari Koloni Cendawan Patogen pada perlakuan kontrol (cm)

t = Jari-jari Koloni Cendawan Patogen pada perlakuan (cm)

2.4.8. Uji Antagonis pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB)

Kemampuan biofertilizer Mikrobat untuk mencegah pertumbuhan *Colletotrichum* sp. secara in vitro dalam media cair diuji menggunakan uji antagonis *Colletotrichum* sp. pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Miselium cendawan patogen *Colletotrichum* sp. ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) untuk melakukan pengujian. Setelah sterilisasi, media PDB dipindahkan ke dalam labu kultur 45 ml. Terdapat tiga ulangan untuk setiap perlakuan. Sebuah alat pembuka gabus digunakan untuk memotong isolat cendawan patogen penyebab penyakit antraknosa, dan satu bagian koloni kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur berisi media PDB. Volume total media dalam setiap wadah kultur kemudian ditingkatkan menjadi 50 ml dengan menambahkan 5 ml pupuk hayati cair Mikrobat berdasarkan konsentrasi perlakuan. Sebelum digunakan, konsentrasi Mikrobat diencerkan. *Shaker incubator* dengan kecepatan putaran 100 rpm digunakan untuk menginkubasi setiap perlakuan.

Berat basah dan kering miselium cendawan diukur pada hari setelah ditambahkan ke media PDA tanpa perlakuan (hari -14). Miselium cendawan disaring melalui kertas saring dan kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Berat kering cendawan dihitung dengan membungkus miselium dalam kertas saring dan mengeringkannya selama sehari penuh pada suhu 60°C dalam oven.

2.4.9. Uji Antagonis pada Buah Cabai Besar di Laboratorium

Kultur murni cendawan *Colletotrichum* sp. dicampur dengan sepuluh mililiter air suling steril, kemudian kultur tersebut digores dengan jarum *loop* untuk melepaskan konidia. Setelah itu, kepadatan konidia diukur hingga mencapai 106 konidia/ml. Cabai besar dan sehat dicuci bersih dengan air suling steril, direndam dalam alkohol 70% selama satu

menit, dan kemudian dibersihkan dua kali lagi dengan air suling steril. Setelah dirusak di empat lokasi berbeda, cabai merah diberi 0,01 mililiter pupuk hayati Mikrobat untuk setiap dosis perlakuan. Perlakuan kontrol berupa tetesan 0,01 mililiter air suling steril selama sehari penuh

2.4.10 Uji Masa Inkubasi Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai

Uji Masa Inkubasi Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai merupakan pengujian untuk mengetahui lamanya waktu yang dibutuhkan sejak inokulasi patogen hingga munculnya gejala awal penyakit pada buah cabai. Penyakit ini disebabkan oleh *Colletotrichum* sp. yang umumnya menimbulkan bercak cekung berwarna gelap pada permukaan buah. Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan patogen pada buah cabai yang telah diberi perlakuan pupuk hayati Mikrobat sesuai konsentrasi yang ditentukan. Setelah inokulasi, buah diinkubasi pada kondisi lembap dan suhu ruang untuk mendukung perkembangan patogen. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan mencatat waktu munculnya gejala pertama, seperti bercak kecil atau perubahan warna pada permukaan buah.

Masa inkubasi dihitung sebagai selang waktu (hari) dari saat inokulasi hingga gejala awal terlihat. Parameter ini digunakan untuk menilai efektivitas perlakuan, di mana semakin lama masa inkubasi menunjukkan bahwa perlakuan tersebut semakin mampu menghambat perkembangan patogen. Dengan demikian, uji ini menjadi indikator penting dalam mengevaluasi kemampuan Mikrobat dalam menekan infeksi awal penyakit antraknosa pada buah cabai.

2.5. Parameter Pengamatan

2.5.1 Diameter Koloni

Pengamatan koloni dilakukan setiap 24 jam dengan menggambar garis melintang di dasar cawan petri untuk membantu mengukur diameter koloni cendawan yang diinokulasi. Diameter koloni diukur dengan menghitung diameter cendawan dari empat garis dan kemudian merata-ratakannya. Perhitungan diameter koloni cendawan juga dapat dilakukan menggunakan rumus berikut:

$$D = \frac{d1 + d2}{2} \quad (2)$$

Keterangan:

- D = Rata-rata diameter koloni cendawan (mm)
- d1 = Diameter koloni secara vertikal
- d2 = Diameter koloni secara horizontal

2.5.2 Konsentrasi Konidia

Suspensi dibuat dengan menambahkan 10 mililiter air suling steril ke cendawan *Colletotrichum* sp. berumur 7 hari untuk menghitung konsentrasi konidia cendawan. Media kultur cendawan dalam cawan dan konidia diambil dari media pertumbuhan dengan jarum ose. Dengan menggunakan hemositometer, jumlah konidia per mililiter

ditentukan. Menurut Kurniasih dkk. (2014), konsentrasi konidia per milliliter ditentukan menggunakan rumus berikut;

$$K = \frac{T \times P}{n \times 0,25} \times 10^6 \text{ Konidia/ml} \quad (3)$$

Keterangan:

K = Jumlah Spora/ml larutan

T = Total Spora dalam semua kotak

P = Tingkat Pengenceran

n = Jumlah semua kotak yang dihitung

0,25 = Faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada *haemocytometer*.

2.5.3 Persentase Daya Hambat Pertumbuhan Koloni pada PDA

Tingkat Hambatan Relatif (THR) diameter koloni dihitung menggunakan rumus menurut (Amara et al., 2025) sebagai berikut :

$$D = \frac{d_1 - d_2}{d_1} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan:

d1 : diameter koloni patogen uji pada kontrol

d2 : diameter koloni patogen uji pada perlakuan

2.5.4 Persentase Daya Hambat Pertumbuhan Koloni pada PDB

Perhitungan persentase penghambatan menggunakan rumus (Firmansyah et al., 2023) sebagai berikut:

$$BB = \frac{B1 - B2}{B1} \times 100\% \quad (5)$$

Keterangan:

B1 : konsentrasi konidia pada kontrol

B2 : konsentrasi konidia pada perlakuan

2.5.5 Masa Inkubasi (Hari)

Masa inkubasi adalah masa dibutuhkan cendawan dalam menginfeksi dimulai dari hari pertama muncul gejala pada buah cabai setelah inokulasi. Masa inkubasi diamati pada waktu 3 hari setelah inkubasi (HSI) sampai 7 HSI

2.5.6 Kejadian Penyakit

Kejadian penyakit adalah jumlah buah cabai yang terinfeksi per jumlah buah yang diamati. Kejadian penyakit diamati selama 7 HSI dimulai dari pengamatan pada 2 HSI. Kejadian penyakit yang dipakai oleh (Widianingsih et al., 2025) sebagai berikut:

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\% \quad (6)$$

Keterangan:

KP : Kejadian Penyakit,

n : Jumlah buah cabai yang terserang, dan

N : Jumlah total buah cabai yang diamati dalam setiap perlakuan

2.5.7 Intensitas Serangan

Intensitas Serangan Penyakit adalah tingkat perkembangan penyakit pada inang melalui skor gejala berdasarkan luas bercak yang digunakan oleh (Widianingsih et al., 2025) yang dimodifikasi sebagai berikut:

Tabel 2. Kriteria Gejala Intensitas Penyakit

Skore Gejala	Luas Gejala
0	Tidak ada luas bercak
1	1-15 mm
2	16-30 mm
3	31-45 mm
4	>45 mm

$$IS = \frac{\sum(n \times V)}{N \times Z} \times 100\% \quad (7)$$

Keterangan:

IP : Intensitas penyakit,

n : Jumlah buah setiap kelas luas bercak,

V : Nilai skor setiap kelas,

N : Jumlah buah yang diamati,

Z : Nilai skor kelas luas bercak yang tertinggi

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian antagonis pupuk hayati mikrobat dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Bila hasil pengujian diperoleh perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%