

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI
PENYEBAB PENYAKIT GRAIN ROT
YANG DISEBABKAN OLEH *Burkholderia glumae*
PADA TANAMAN PADI DI MALANG RAYA**

Oleh
GEMA AKBAR PRIADI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI
PENYEBAB PENYAKIT *GRAIN ROT*
YANG DISEBABKAN OLEH *Burkholderia glumae*
PADA TANAMAN PADI DI MALANG RAYA**

Oleh :
GEMA AKBAR PRIADI
135040200111191

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 23 Januari 2018

Gema Akbar Priadi

*Skripsi ini kupersembahkan untuk:
Bapak dan Mamah tercinta (Cecep Tisna Priadi dan Dini Setiani)
Serta adik-adikku yang tersayang*



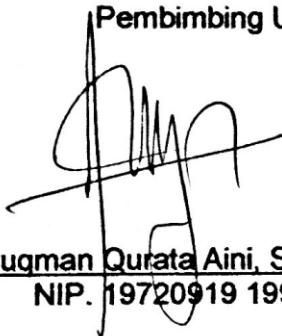
LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian: Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit *Grain Rot* yang Disebabkan Oleh *Burkholderia glumae* Pada Tanaman Padi Di Malang Raya.

Nama : Gema Akbar Priadi
N I M : 135040200111191
Jurusan : Hama Dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi : Agroekoteknologi
Menyetujui : Dosen Pembimbing

Disetujui,

Pembimbing Utama,



Lugman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Pembimbing Pendamping,



Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc
NIK. 201409 880504 2 001

Diketahui
Ketua Jurusan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP.19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I



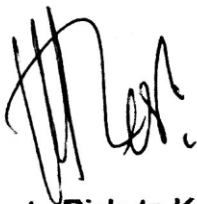
Prof. Ir. Liliék Sulistyowati, Ph.D.
NIP. 19551212 198003 2 003

Penguji II



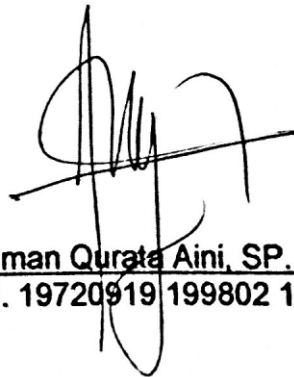
Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304 841014 1 001

Penguji III



Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Penguji IV



Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

Gema Akbar Priadi. 135040200111191. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit *Grain Rot* yang Disebabkan Oleh (*Burkholderia glumae*) Pada Tanaman Padi Di Malang Raya. Di bawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. sebagai Pembimbing Pendamping

Penyakit busuk biji (*grain rot*) adalah salah satu penyakit pada tanaman padi yang disebabkan oleh bakteri *Burkholderia glumae*. Gejala pada pelepah, busuk berbentuk panjang vertikal, luka berwarna keabu-abuan dikelilingi oleh tepi berwarna coklat kemerahan gelap. Gabah menjadi berwarna lebih gelap dan memiliki garis coklat kemerahan malai di kuntum antara daerah berwarna terang dan malai berwarna lebih gelap. Di wilayah sentra produksi padi kabupaten Malang terdapat gejala bercak coklat pada pangkal dan abu-abu pada ujung gabah. Gejala tersebut memiliki kemiripan dengan gejala penyakit busuk biji yang disebabkan oleh bakteri *B. glumae*. Gejala bercak coklat pada gabah padi ini diduga disebabkan oleh penyakit busuk biji. Penelitian bertujuan untuk mengkaji bakteri penyebab busuk biji pada tanaman padi dan sebaran penyakit busuk biji di Malang Raya serta mengkaji perbedaan karakteristik bakteri penyebab busuk biji dari beberapa daerah di Malang Raya

Patogen bakteri di isolasi dari gabah atau biji yang berasal dari 17 kecamatan di Malang Raya. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Karantina Tumbuhan Balai Besar Karantina Pertanian (BBKP) Surabaya, penelitian terdiri dari tiga tahapan, yaitu : isolasi bakteri, karakterisasi bakteri, dan identifikasi molekuler. Ketiga tahapan tersebut terdiri dari kegiatan pengambilan sampel, isolasi bakteri di media selektif, uji hipersensitif dan patogenisitas, pengujian Gram, inokulasi bakteri pada kondisi anaerob, pengujian pigmen fluoresen, inokulasi bakteri pada media YDC, inokulasi bakteri pada D1M agar, pengujian oksidasi, pertumbuhan bakteri pada suhu 40°C, pertumbuhan bakteri pada pH yang berbeda, pertumbuhan pada kadar NaCl 3%, tes arginine dihidrolase, hidrolisis gelatin, hidrolisis pati, uji pemanfaatan sumber karbon, ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, dan elektroforesis.

Hasil isolasi dan karakterisasi menunjukkan 7 isolat bakteri penyebab penyakit busuk biji memiliki karakteristik yang positif pada uji patogenisitas dan hipersensitif. Semua bakteri termasuk kelompok Gram negatif dan bersifat aerob. Koloni tidak menghasilkan pigmen fluoresen pada media King's B. Koloni tidak berwarna kuning pada media YDC. Tumbuh pada media D1M agar. Positif pada uji oksidase. Tumbuh pada pH 4 dan 8, pada suhu 40°C, dan pada kadar NaCl 3%. Negatif pada uji dihidrolisis arginine. Positif pada uji pencairan gelatin dan pada uji hidrolisis pati. Negatif pada pengujian media TSI. Positif pada deteksi PCR. Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan 7 bakteri penyebab busuk biji di Malang Raya adalah bakteri *B. glumae*.

SUMMARY

Gema Akbar Priadi. 135040200111191. Isolation and Characterization Bacterial Causes of *Grain Rot* Disease caused by *Burkholderia glumae* On Rice Plants In Malang Raya. Under the guidance of Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D as a Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. as Supervising Counselor.

The grain rot disease is one of the rice diseases that is caused by pathogenic bacterium *Burkholderia glumae*. The disease symptoms that are shown in rice sheath which are vertically rotten, and the wound that might be caused by this bacterium are gray and are surrounded by reddish-brown border. Panicle symptoms: straw-colored panicles containing florets with a darker base and a reddish-brown line across the floret between darker straw-colored and straw-colored areas. In the area of rice production centers of Malang Raya there are symptoms of brown spots on the base and gray at the end of grain. These symptoms bear a resemblance to the symptoms of grain rot disease caused by *B. glumae* bacteria. The phenomenon of brown spots on rice paddy is suspected to be caused by grain rot disease. This research aims to know the grain-rot-caused bacterium in Malang Raya and also to know the differences of grain rot caused bacterium characteristic in several places of Malang Raya.

The bacteria pathogen were isolated from grain or seed from 17 sub districts in Malang Raya. The research was conducted at Plant Quarantine Laboratory of Indonesian Center for Agricultural Quarantine (BBKP) Surabaya, the research were consisted of three stages, which were sampling, The study consists of three stages, which were: bacterial isolation, bacterial characterization, and molecular identification. The three stages consist of sampling, bacterial isolation in selective media, hypersensitive test and pathogenicity, Gram test, bacterial inoculation in anaerobic condition, fluorescent pigment test, bacterial inoculation on YDC media, bacterial inoculation in D1M agar, oxidase test, bacterial growth at 40 ° C, bacterial growth at different pH, growth at 3% NaCl, arginine dihydrolase test, gelatin hydrolysis, starch hydrolysis, carbon source utilization test, DNA extraction, DNA amplification, and electrophoresis.

The results of isolation and characterization showed 7 isolats of bacteria that caused grain rot disease had a positive characteristic in pathogenicity and hypersensitivity test. All of bacteria were Gram-negative and also aerobic. The colonies did not produce fluorescent pigments on King's B. The colony did not show yellow colour in YDC media. The bacteria grew on D1M agar media and showed positive result on the oxidase test. It grew at pH 4 and 8, at 40°C, and at 3% NaCl. The bacteria showed negative result on arginine hydrolyzed test but showed positive in gelatin liquefaction test and on starch hydrolysis test. The another result had also showed that the bacteria showed negative result on TSI media test and positive result on PCR detection. Based on the results it could be concluded that 7 bacteria that caused grain rot disease in Malang Raya were *B. glumae*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penyusun panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wata'ala, karena berkat rahmat-Nya penulis bisa menyelesaikan skripsi yang berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit *Grain Rot* yang Disebabkan Oleh *Burkholderia glumae* Pada Tanaman Padi Di Malang Raya"

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis menyampaikan terima kasih kepada Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D. selaku pembimbing utama dan kepada Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc selaku pembimbing pendamping serta seluruh dosen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua dan keluarga yang selalu mendukung dengan doa, materi dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Tumbuhan Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya (BBKP) beserta pegawainya dan seluruh rekan-rekan HPT 2013 dan pihak yang telah membantu dan mendukung dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan baik dalam isi maupun penyajian. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun dalam perbaikan dimasa mendatang dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan

Malang, 12 Januari 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kabupaten Subang, Jawa Barat pada tanggal 12 Mei 1995 sebagai putra pertama dari lima bersaudara dari Bapak Cecep Tisna Priadi dan Ibu Dini Setiani.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Kalimekar pada tahun 2001 sampai tahun 2007, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Subang pada tahun 2007 dan selesai pada tahun 2010. Pada tahun 2010 sampai 2013 penulis studi di SMAN 1 Subang. Pada tahun 2013 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif dalam organisasi PRISMA (Pusat Riset dan Kajian Ilmiah Mahasiswa) pada tahun 2015. Penulis pernah magang di instansi Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya bagian Laboratorium Tumbuhan Karantina pada tahun 2016.

DAFTAR ISI

Teks	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	2
1.3. Tujuan	2
1.4. Hipotesis	2
1.5. Manfaat	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Tanaman padi (<i>Oryza sativa</i>)	3
2.1.1. Klasifikasi tanaman padi	3
2.1.2. Morfologi malai padi	3
2.2. Benih sebagai pembawa patogen	3
2.3. Penyakit tanaman padi (<i>Oryza sativa</i>)	4
2.4. Bakteri <i>Burkholderia glumae</i>	4
2.4.1. Biologi	4
2.4.2. Gejala	5
2.4.3. Faktor yang mempengaruhi infeksi	6
2.5. Karakteristik bakteri genus <i>Burkholderia</i> spp.	7
III. METODE PENELITIAN	9
3.1. Tempat dan waktu	9
3.2. Alat dan bahan	9
3.3. Metode penelitian	9
3.4. Pelaksanaan penelitian	10
3.4.1. Pengambilan sampel	10
3.4.2. Isolasi bakteri	11
3.4.3. Uji hipersensitif dan patogenisitas	11
3.4.4. Karakterisasi bakteri penyebab busuk biji	12

3.3.5	<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	18
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1.	Isolasi bakteri penyebab penyakit busuk busuk biji.....	21
4.2.	Uji hipersensitif dan patogenisitas	23
4.2.1.	Uji hipersensitif	23
4.2.2.	Uji patogenisitas	24
4.3.	Karakterisasi morfologi bakteri.....	26
4.3.1.	Karakterisasi morfologi bakteri penyebab busuk biji	26
4.3.2.	Uji Gram.....	26
4.3.3.	Tes oksidatif-fermentatif	28
4.3.4.	Pigmen fluoresen pada media King's B	28
4.3.5.	Koloni kuning pada media YDC	29
4.3.6.	Pertumbuhan pada D1M agar	30
4.4.	Karakterisasi fisiologi dan biokimia bakteri.....	31
4.4.1.	Karakterisasi secara fisiologi dan biokimia	31
4.4.2.	Uji oksidase	31
4.4.3.	Pertumbuhan pada suhu 40°C.....	32
4.4.4.	Pertumbuhan pada pH yang berbeda.....	32
4.4.5.	Pertumbuhan pada kadar NaCl 3%	33
4.4.6.	Pengujian Arginine dihidrolase.....	34
4.4.7.	Pencairan gelatin	34
4.4.8.	Hidrolisis pati	35
4.4.9.	Pemanfaatan sumber karbon	36
4.5.	<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	36
4.6.	Pembahasan umum	37
V.	PENUTUP	39
5.1.	Kesimpulan.....	39
5.2.	Saran	39
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Bakteri patogen pada padi yang dapat berasosiasi dengan benih	4
2.	Karakteristik dalam identifikasi spesies <i>Burkholderia</i>	8
3.	Skala dan gejala penyakit <i>Grain rot</i> pada tahap vegetatif	12
4.	Karakteristik yang akan di uji	14
5.	Hasil isolasi bakteri penyebab penyakit busuk biji	22
6.	Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau	24
7.	Hasil uji patogenisitas pada tanaman padi	25
8.	Hasil karakterisasi morfologi pada berbagai media tumbuh	26
9.	Hasil uji fisiologi dan biokimia bakteri penyebab penyakit busuk biji	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perbandingan gejala bakteri hawar malai pada biji padi sehat	5
2.	Gejala yang disebabkan oleh bakteri <i>B. glumae</i>	6
3.	Peta wilayah Malang Raya	10
4.	Plot pengambilan sampel	11
5.	Pengujian bakteri hingga tingkat genus	13
6.	Gejala dan isolasi bakteri penyebab <i>Grain rot</i>	21
7.	Uji hipersensitif	23
8.	Uji patogenisitas	25
9.	Uji KOH 3%	27
10.	Pewarnaan Gram	27
11.	Uji Oksidatif Fermentatif	28
12.	Pengujian Pigmen fluoresen pada media King's B agar	29
13.	Koloni kuning pada media YDC	29
14.	Pertumbuhan pada media D1M agar	30
15.	Uji oksidase	32
16.	Pertumbuhan pada suhu 40°C	32
17.	Hasil pertumbuhan pada pH yang berbeda	33
18.	Pertumbuhan pada kadar NaCl 3%	33
19.	Pengujian Arginine dihidrolase	34
20.	Pencairan gelatin	35
21.	Hidrolisis pati	35
22.	Pengujian Triple Sugar Iron (TSI)	36
23.	Hasil Elektroforesis	36

Nomor	Lampiran	Halaman
1.	Isolasi bakteri penyebab penyakit busuk biji pada media S-PG	44
2.	Pertumbuhan isolat bakteri pada media King's B	45
3.	Pertumbuhan isolat bakteri pada media YDC	46

4.	Pertumbuhan pada D1M agar	46
5.	Pertumbuhan pada pH 4, 8, dan 9	47
6.	Uji Pertumbuhan pada kondisi anaerob	47
7.	Uji hidrolisis pati	48