

**EKSPLORASI BAKTERI ANTAGONIS DI TANAH
KAWASAN ORGANIK KEBUN PERCOBAAN CANGAR
SEBAGAI PENGENDALI BAKTERI PATOGEN**

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae*

**OLEH
LUTHFIYAH KHOIRUNNISAA**



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

MALANG

2016

**EKSPLORASI BAKTERI ANTAGONIS DI TANAH
KAWASAN ORGANIK KEBUN PERCOBAAN CANGAR
SEBAGAI PENGENDALI BAKTERI PATOGEN**

Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae

OLEH

LUTHFIYAH KHOIRUNNISAA

125040200111124

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2016

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi Bakteri Antagonis Di Tanah
Kawasan Organik Kebun Percobaan Cangar
Sebagai Pengendali Bakteri Patogen
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae*

Nama Mahasiswa : Luthfiyyah Khoirunnisaa

NIM : 12504020011124

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II,

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

Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc
NIK. 201409880504 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. Tutung Hadiastono, MS.
NIP. 19521028 197903 1 003

Penguji II

Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc
NIK. 201409880504 2 001

Penguji III

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

Penguji IV

Dr. Ir. Sri Karindah, MS.
NIP. 19520517 197903 2 001

Tanggal Lulus :

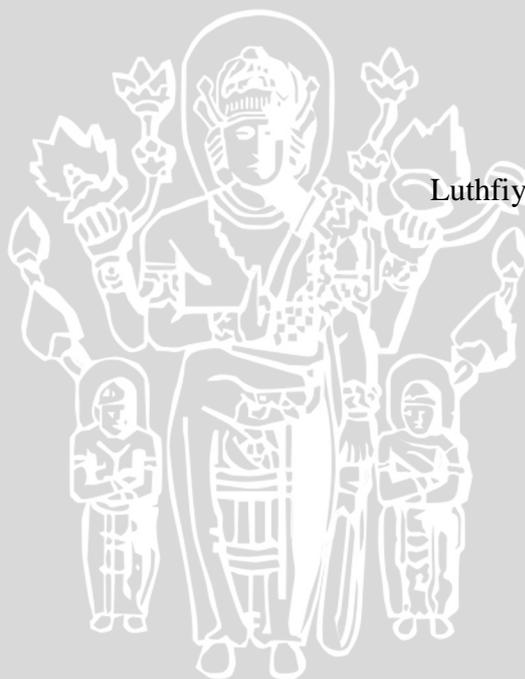
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2016

Luthfiyyah Khoirunnisaa

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



RINGKASAN

Luthfiyyah Khoirunnisaa. 125040200111124. Eksplorasi Bakteri Antagonis Di Tanah Kawasan Organik Kebun Percobaan Cangar Sebagai Pengendali Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma SP., MP., M.Sc sebagai Pembimbing Pendamping.

Tanaman padi merupakan salah satu bahan pangan pokok yang dibutuhkan oleh penduduk di dunia termasuk penduduk Indonesia. Produksi padi sering mengalami penurunan akibat adanya serangan penyakit penting hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Pengendalian terhadap penyakit ini umumnya menggunakan bakterisida berbahan dasar kimia sintesis yang dapat merugikan konsumen dan lingkungan. Pemanfaatan agens hayati merupakan salah satu solusi alternatif untuk pengendalian penyakit tersebut. Tanah organik diketahui mengandung berbagai jenis mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang diketahui memiliki manfaat pada tanaman adalah bakteri. Tanah kawasan organik kebun percobaan cangar mengandung bahan organik yang cukup tinggi yaitu 4,75%, sehingga diduga terdapat berbagai bakteri antagonis. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengkaji keberadaan bakteri pada tanah kawasan organik yang berpotensi sebagai agens antagonis terhadap patogen Xoo penyebab penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang mulai bulan Desember 2015 – Juni 2016. Rangkaian penelitian meliputi eksplorasi bakteri antagonis pada tanah kawasan organik, uji antagonis bakteri dari tanah kawasan organik terhadap bakteri Xoo secara *in vitro*, karakterisasi dan identifikasi bakteri antagonis hingga tingkat genus, uji penekanan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi varietas IR-64 secara *in vivo*. Pengujian secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sedangkan pengujian secara *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Pada kedua rancangan menggunakan 7 perlakuan dan 4 ulangan.

Pada pengujian antagonis secara *in vitro* didapatkan hasil zona hambat pada bakteri antagonis lebih kecil dibandingkan dengan kontrol menggunakan bakterisida. Isolat yang memiliki zona hambat terbesar adalah isolat dengan kode E16. Sedangkan hasil pada pengujian secara *in vivo* menunjukkan bahwa semua bakteri antagonis memiliki persentase penekanan yang sama antar perlakuan bakteri antagonis dan perlakuan kontrol bakterisida. Aplikasi bakteri antagonis tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman, berat basah dan berat kering tanaman. Dari hasil identifikasi baik secara morfologi, fisiologi maupun biokimia pada bakteri antagonis diperoleh hasil bahwa isolat dengan kode E3, E14, E16 dan E21 termasuk pada genus *Corynebacterium* sp. Sedangkan isolat dengan kode E19 termasuk pada genus *Clostridium* sp.

SUMMARY

Luthfiyyah Khoirunnisaa. 125040200111124. Antagonist Bacteria Exploration in Organic Land Area of Cangar Experimental Garden to Controlling Pathogenic Bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Under the guidance of Luqman Qurata Aini, SP., M. Si., Ph.D as the main Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma SP., MP., M.Sc as a second supervisor.

Rice is a major cereal crop in the world that consumed as a staple food by world's population including Indonesia. Rice production has decreased due to the frequent attacks of the disease. One of the important disease in rice plant is bacterial leaf blight disease caused by the bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) bacteria. Control of this disease generally use synthetic chemical-based bactericide, so it can be detrimental to consumers and the environment. Utilization of biological agents is one alternative solution to the control of the disease. In addition, organic soil known to contain various types of microorganisms. Among them, the microorganism known to have benefits on plants is bacteria. Organic soil in Cangar experimental garden containing organic matter as high as 4,75%, and it is suspected there are a lot of antagonist bacteria variety. The purpose of this research is to know the bacteria on organic land area that can be used as a potentially antagonistic bacterium against bacteria Xoo caused bacterial leaf blight disease in rice plant.

The research was carried out in the laboratory of Disease pest and plant disease Department, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya Malang, in December 2015 – June 2016. A series of research include the exploration of antagonistic bacteria in organic land area, antagonist assay of selected bacteria from organic soil against Xoo in an in vitro condition, characterization and identification of antagonistic bacteria to the genus level, suppression test bacterial leaf blight in rice variety IR-64 in an in vivo condition. In vitro testing using a Completely Randomized Design. While in vivo testing using Randomized Block Design. In both designs using 7 treatments and 4 replications.

Based on in vitro testing, the result obtained that inhibitory zones using antagonistic bacteria are smaller than the control using bactericide. Isolates that have the biggest inhibitory zone is isolates with the E16 code. While according to in vivo test, all antagonistic bacteria have an equal percentage of inhibitory between each treatment of bacteria and the control with bactericide. There is no influence from antagonistic bacteria application to the plant height, fresh weight and dry weight of the plant. The results of morphology, physiology and biochemistry identification shows bacteria isolates with E3, E14, E16 and E21 code are genus *Corynebacterium* sp., where isolate with E19 code is genus *Clostridium* sp.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayahnya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Eksplorasi Bakteri Antagonis Di Tanah Kawasan Organik Kebun Percobaan Cangar Sebagai Pengendali Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*” dalam bentuk maupun isinya yang sangat sederhana.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada berbagai pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, terutama kepada:

1. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
2. Bapak Luqman Qurata Aini. SP., M.Si, Ph.D selaku dosen pembimbing utama dan ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP.,M.Sc selaku pembimbing pendamping atas nasehat, bimbingan dan segala kesabarannya.
3. Penghargaan yang tulus dan ucapan teimakasih kepada orang tua dan saudara atas do'a, dukungan, semangat, bimbingan, dan kasih sayang yang diberikan.
4. Ucapan terimakasih juga saya berikan kepada teman- teman lab. Bakteri, teman-teman Agroekoteknologi, teman- teman HPT 2012 dan teman-teman Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang atas bantuan dan dorongan semangat selama penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai.

Penulisan skripsi ini saya akui masih banyak kekurangan karena pengalaman yang saya miliki sangat kurang. Oleh karena itu saya harapkan kepada para pembaca untuk memberikan masukan-masukan yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini.

Malang, 13 Juni 2016

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Surabaya, 22 Januari 1994 sebagai anak kedua dari empat bersaudara, dari pasangan Ayah Marjuki dan Ibu Zumrotul Alfiah S.Pd.

Penulis mengawali proses belajar di SDI K IBRAHIM Surabaya, lulus tahun 2006. Penulis selanjutnya belajar di SMPI AL-MAARIF Singosari-Malang, dan lulus pada tahun 2009. Pada tahun 2012, penulis menyelesaikan studinya di MA AL'MAARIF Singosari-Malang. Pada tahun yang sama, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.

Selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi, penulis pernah aktif di kepanitiaan sebagai anggota divisi pendaftaran dan kesehatan DIKLATSAR Korps Sukarela (KSR), anggota divisi naskah Laporan Akhir Tahun KSR UB dan pengurus Majelis Santri di Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang.



DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
I. PENDAHULUAN	1
1. 1 Latar Belakang	1
1. 2 Rumusan Masalah	2
1. 3 Tujuan Penelitian	2
1. 4 Manfaat Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2. 1 Tanaman Padi.....	3
2. 2 Penyakit Hawar Daun Bakteri	4
2. 3 Bakteri Antagonis	5
2. 4 Keragaman Bakteri Pada Tanah.....	8
III. METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Tempat dan Waktu	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Metode Penelitian.....	10
3.4 Pelaksanaan Penelitian	12
3.4.1 Eksplorasi Bakteri Pada Tanah Kawasan Organik.....	12
3.4.2 Uji Antagonis Bakteri Hasil Eksplorasi Terhadap Bakteri <i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>oryzae</i> secara <i>in vitro</i>	13
3.4.3 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis.....	13
3.4.4 Uji Penekanan Terhadap Perkembangan Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi.....	18
3.5 Variabel Pengamatan.....	19
3.6 Analisis Data	20



IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1	Seleksi Bakteri Hasil Eksplorasi yang Bersifat Antagonis Terhadap <i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>oryzae</i> Pada Cawan Petri (<i>In Vitro</i>)	21
4.2	Pengujian Antagonis Bakteri Hasil Eksplorasi Terhadap Bakteri Patogen <i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>oryzae</i> pada Cawan Petri (<i>In Vitro</i>).....	21
4.3	Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis	23
4.4	Pengujian Penekanan Bakteri Antagonis Terhadap Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi.....	30
V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1	Kesimpulan.....	35
5.2	Saran.....	35
	DAFTAR PUSTAKA.....	36
	LAMPIRAN.....	41

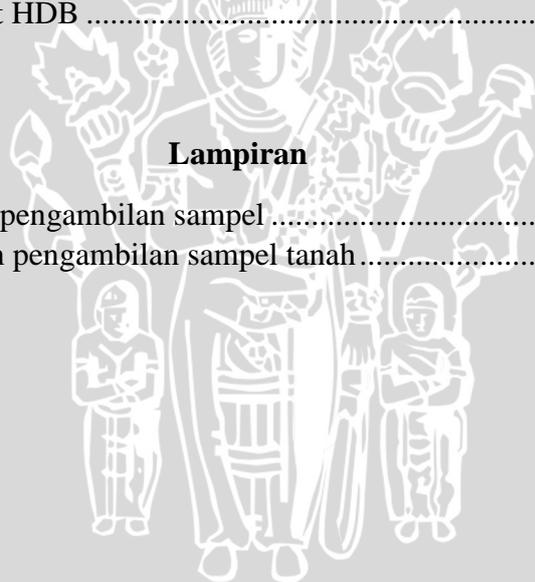


DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Gejala serangan Xoo pada daun padi	4
2.	Koloni Xoo pada media YDC	5
3.	Kerangka operasional penelitian	11
4.	Kerangka identifikasi bakteri sampai tingkat genus	16
5.	Kerangka identifikasi bakteri sampai tingkat genus Bergey’s Determinative Bacteriology (Holt <i>et al.</i> , 1994) dan Schaad <i>et al.</i> (2001).....	17
6.	Hasil pengujian antagonis bakteri hasil eksplorasi terhadap bakteri patogen Xoo pada cawan Petri (<i>in vitro</i>) pada 48 jam.	22
7.	Koloni tunggal bakteri hasil eksplorasi yang bersifat antagonis.....	24
8.	Hasil uji hipersensitif bakteri isolat E16 pada daun tembakau.	25
9.	Hasil uji Gram	26
10.	Bakteri isolat E19, spora bakteri berwarna hijau.	27
11.	Hasil uji katalase pada isolat E3.....	27
12.	Hasil pengujian oksidatif-fermentatif. Pada isolat E19.....	28
13.	Gejala penyakit HDB	30

Lampiran

1.	Dokumentasi pengambilan sampel	43
2.	Bentang lahan pengambilan sampel tanah.....	44



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan uji antagonis bakteri hasil eksplorasi terhadap Xoo dan uji penekanan penyakit HDB pada tanaman padi.....	12
2.	Kategori serangan berdasarkan tingkat serangan.....	20
3.	Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo pada cawan Petri (In Vitro).....	21
4.	Rerata zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen Xoo.	22
5.	Ciri-ciri morfologi koloni tunggal bakteri antagonis	24
6.	Hasil uji fisiologi dan biokimia isolat bakteri antagonis.....	28
7.	Hasil pengamatan masa inkubasi penyakit.....	31
8.	Hasil pengamatan uji antagonis secara <i>in vivo</i>	32
9.	Hasil pengamatan tinggi tanaman padi	33
10.	Hasil pengamatan berat basah dan berat kering tanaman padi.....	34

Lampiran

1.	Tabel Analisis Sidik Ragam Uji Antagonis Bakteri Hasil Eksplorasi Terhadap <i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>oryzae</i> Pada 24 Jam Setelah Inokulasi .	41
2.	Tabel Analisis Sidik Ragam Masa Inkubasi Penyakit.....	41
3.	Tabel Analisis Sidik Ragam Intensitas Penyakit.....	41
4.	Tabel Analisis Sidik Ragam Tinggi Tanaman Padi	41
5.	Tabel Analisis Sidik Ragam Berat Basah Tanaman Padi.....	42
6.	Tabel Analisis Sidik Ragam Berat Kering Tanaman Padi.	43
7.	Hasil Analisis Tanah.....	45



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa*. L) merupakan tanaman pangan pokok yang dikonsumsi hampir seluruh masyarakat Indonesia. Produksi padi dunia menempati urutan ketiga dari semua serealia setelah jagung dan gandum. Pentingnya permasalahan terkait bahan pangan pokok ini tidak diragukan lagi. Oleh karena itu, permasalahan terkait faktor produksinya sangat diperhatikan. Salah satu faktor penghambat produksi pada padi yakni adanya serangan patogen penyebab penyakit tumbuhan.

Hawar daun bakteri (HDB), merupakan salah satu penyakit tanaman padi yang penting di negara-negara penghasil padi di dunia, termasuk di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) (Zhang and Wang, 2013; Sudir *et al.*, 2012). Genus *Xanthomonas*, merupakan bakteri yang memiliki flagel polar, berpigmen kuning dan merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini menginfeksi hampir 400 tanaman inang yang berbeda, termasuk tanaman yang memiliki nilai ekonomis penting seperti padi, kapas, kedelai, minyak lobak, jeruk, dan pisang (Leyns *et al.*, 1984). Karakteristik dari genus ini adalah produksi lapisan kuning, yaitu pigmen pengikat membran yang disebut xanthomonadin (Starr, 1981). Xanthomonadin dapat melindungi *Xanthomonas* spp. dari kerusakan *photobiological* dan peroksidasi disebabkan oleh mekanisme pertahanan inang dan diperlukan untuk bertahan hidup secara epifit dan untuk menginfeksi inang (Goel *et al.*, 2001).

Upaya pengendalian HDB terkendala oleh kemampuan patogen untuk membentuk strain baru yang lebih virulen sehingga teknologi pencarian varietas yang tahan terhadap HDB menjadi kurang efektif. Sementara itu, penggunaan pestisida berupa bahan kimia anti bakteri diketahui dapat menyebabkan gangguan pada kesehatan manusia dan lingkungan karena meninggalkan residu (Wahyudi, 2011). Oleh karena itu, penggunaan agens hayati yang tepat dapat menjadi solusi alternatif untuk mengendalikan penyakit HDB.

Agens hayati hampir dapat ditemukan dimanapun di lingkungan alami. Salah satu lingkungan alami yang mengandung jenis agens hayati berupa mikroorganisme

termasuk bakteri ialah tanah. Tanah mengandung berbagai jenis mikroorganisme termasuk bakteri yang dapat hidup di lingkungan alam (Gowsalya *et al.*, 2014).

Salah satu indikasi kelimpahan mikroorganisme yang hidup di tanah adalah kandungan bahan organik (Supriyadi, 2008). Bahan organik merupakan sumber energi bagi flora dan fauna tanah baik makro maupun mikro. Penambahan bahan organik dalam tanah akan menyebabkan aktivitas dan populasi mikrobiologi dalam tanah meningkat, terutama yang berkaitan dengan aktivitas dekomposisi dan mineralisasi bahan organik. Beberapa mikroorganisme yang berperan dalam dekomposisi bahan organik adalah jamur, bakteri dan aktinomisetes (Atmojo, 2003).

Tanah kawasan organik pada kebun percobaan Cangar-Malang diketahui memiliki kandungan bahan organik yang rata-rata tinggi yakni sebesar 2-3% (Kharis, 2012) sehingga diduga terdapat banyak mikroorganisme berupa bakteri yang hidup didalamnya. Hasil analisa tanah pada survey pendahuluan yang telah dilakukan diketahui tanah kawasan organik cangar memiliki kandungan bahan organik 4,75 % (Tabel Lampiran 7). Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri pada tanah kawasan organik yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo.

1. 2 Rumusan Masalah

Masalah yang dipaparkan pada penelitian ini adalah apakah terdapat bakteri yang bersifat antagonis terhadap Xoo pada tanah kawasan organik kebun percobaan cangar?

1. 3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji keberadaan bakteri di tanah kawasan organik kebun percobaan cangar yang bersifat antagonis terhadap Xoo serta mengetahui karakteristiknya.

1. 4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yakni sebagai landasan pengembangan agens hayati untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2. 1 Tanaman Padi

Klasifikasi

Kerajaan: Plantae (Tumbuhan), Divisi: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga), Kelas: Liliopsida (berkeping satu / monokotil), Sub Kelas: Commelinidae, Ordo: Poales, Famili: Poaceae (suku rumput-rumputan), Genus: *Oryza*, Spesies: *Oryza sativa* L. (Plantamor, 2012).

Syarat Pertumbuhan

Tumbuh di daerah tropis/subtropis pada 45° LU sampai 45° LS dengan cuaca panas dan kelembaban tinggi dengan musim hujan 4 bulan. Rata-rata curah hujan yang baik adalah 200 mm/bulan atau 1500-2000 mm/tahun. Padi dapat ditanam di musim kemarau atau hujan. Pada musim kemarau produksi meningkat asalkan air irigasi selalu tersedia. Di musim hujan, walaupun air melimpah produksi dapat menurun karena penyerbukan kurang intensif. Di dataran rendah padi memerlukan ketinggian 0-650 mdpl dengan temperatur 22- 27°C sedangkan di dataran tinggi 650-1.500 mdpl dengan temperatur 19-23°C. Tanaman padi memerlukan penyinaran matahari penuh tanpa naungan. Angin berpengaruh pada penyerbukan dan pembuahan tetapi jika terlalu kencang akan merobohkan tanaman (Syekhiani, 2013).

Fase Pertumbuhan

Fase pertumbuhan tanaman padi menurut Makarim dan Suhartatik (2009) dibagi kedalam 3 fase, yakni:

a. Vegetatif

Fase vegetatif merupakan fase pertumbuhan organ-organ vegetatif seperti penambahan jumlah anakan, tinggi tanaman, bobot dan luas daun. Pada fase ini terdapat beberapa tahapan pertumbuhan pada tanaman, yakni mulai berkecambahnya benih, pertunasan atau bibit hingga keluar anakan pertama.

b. Reproduksi

Pada fase ini beberapa ruas teratas batang tanaman mulai memanjang, berkurangnya jumlah anakan (mati karena tidak produktif), munculnya daun bendera, bunting dan pembungaan.

c. Pematangan.

Pada fase ini merupakan fase terakhir dari perkembangan pertumbuhan tanaman padi. Dalam fase ini dimulainya pengisian gabah dari matang susu, gabah setengah matang hingga gabah matang penuh.

2. 2 Penyakit Hawar Daun Bakteri

Hawar daun bakteri (HDB) pertama dikarakterisasi di Prefektur Fukuoka Jepang pada tahun 1884. HDB merupakan penyakit yang endemik di sebagian besar Asia dan bagian Afrika Barat. HDB lazim berada di kedua daerah tropis dan subtropis, dan juga telah dilaporkan berada di Australia, Amerika Latin dan Karibia (Mew *et al.*, 1992).

Kemunculan bakteri penyebab penyakit ini pada awalnya diyakini disebabkan oleh tanah yang masam (Tagami and Mizukami 1962 dalam Liu *et al.*, 2006). Bakteri tersebut berganti nama dari *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* menjadi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* berdasarkan pengamatan dan penelitian mengenai fenotip, genotip, and chemotaxonomik (Swings *et al.*, 1990).

Gejala

Gejala yang ditimbulkan oleh bakteri ini tergolong khas, yaitu mulai dari terbentuknya garis basah pada helaian daun yang akan berubah menjadi kuning kemudian putih. Gejala ini umum dijumpai pada stadium anakan, berbunga, dan pemasakan. Serangan penyakit pada tanaman yang masih muda dinamakan kresak, yang dapat menyebabkan daun berubah menjadi kuning pucat, layu, dan kemudian mati (Gnanamanickam, 1999).



Gambar 1 . Gejala serangan Xoo pada daun padi (Dye, 1980)

Morfologi and Fisiologi

Xoo adalah bakteri berbentuk batang, cembung, Gram negatif. Sel-sel tunggalnya memiliki panjang bervariasi dari sekitar 0,7 μm sampai 2,0 μm dan lebar 0,4 μm dari 0,7 μm . Selnya motil dengan cara flagel kutub tunggal. Koloni pada media padat yang mengandung glukosa bulat, cembung, berlendir dan berwarna kuning karena produksi pigmen xanthomonadin, berikut merupakan karakteristik dari genus *Xanthomonas* (Bradbury, 1984). Sel Xoo menghasilkan polisakarida ekstraseluler kapsuler (EPS) yang berlebihan. EPS tersebut penting dalam pembentukan tetesan atau helai eksudat bakteri dari daun yang terinfeksi, memberikan perlindungan dari kekeringan dan membantu dalam penyebaran melalui angin dan hujan (Ou, 1972).

X. oryzae adalah bakteri obligat aerobik dan tidak membentuk spora. Suhu optimal untuk pertumbuhannya adalah antara 25-30°C. Seperti genus secara keseluruhan, *X. oryzae* adalah katalase positif, dapat mengurangi nitrat dan produksi asam lemah dari karbohidrat (Bradbury, 1984). Xoo menginfeksi tanaman dengan cara masuk ke dalam jaringan tanaman melalui luka, hidatoda, stomata, atau benih yang terkontaminasi (Wang *et al.*, 2009 dalam Wahyudi *et al.*, 2011).



Gambar 2. Koloni Xoo pada media YDC (Muneer *et al.*, 2007)

2. 3 Bakteri Antagonis

Pada saat ini sudah mulai banyak petani ataupun produsen bahan pangan beralih dari pertanian konvensional menuju pertanian organik, sehingga penggunaan bahan kimia sintetis pun mulai dialihkan pada penggunaan bahan organik, baik pupuk maupun pestisida. Salah satunya yakni pemanfaatan bakteri antagonis sebagai alternatif untuk pengendalian baik hama maupun penyakit. Usaha

untuk menanggulangi penyakit tanaman dengan cara biologis mempunyai peluang yang cukup cerah, karena organismenya telah tersedia di alam dan aktifitasnya dapat distimulasi dengan modifikasi lingkungan maupun tanaman inang (Cook and Baker, 1983).

Berikut beberapa contoh bakteri antagonis yang telah dimanfaatkan sebagai agens hayati:

a. *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens merupakan bakteri yang mempunyai tiga mekanisme dalam mengendalikan penyakit layu *Fusarium*, yaitu ketahanan terimbas, antibiosis, dan “Plant Growth Promoting Rhizobacteria” (PGPR) (Soesanto *et al.*, 2010). *P. fluorescens* ini telah terbukti mampu mengendalikan beberapa penyakit pada tanaman. Aplikasi *P. fluorescens* baik dalam bentuk supernatan maupun suspensi mampu menurunkan penyakit layu akibat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada tanaman tomat *in vivo* (Soesanto *et al.*, 2010). *Pseudomonas* dan *Corynebacterium* digunakan untuk mengontrol penyakit jamur tanaman yang berbeda seperti *Pythium* penyebab rebah semai dan beberapa jamur busuk akar (Parke *et al.*, 1991 dalam Al-Khatib *et al.*, 2010).

b. *Bacillus subtilis*

B. subtilis adalah bakteri antagonis yang dapat ditemukan di air, tanah, udara, dan residu tanaman yang telah membusuk. Beberapa spesies dari *Bacillus* sp. diketahui berpotensi sebagai agens hayati (Abidin *et al.*, 2015). *B. subtilis* merupakan organisme yang memiliki spora, sehingga mampu hidup stabil dalam tanah. Kelebihan yang dimiliki *B. subtilis* ini menguntungkan penggunaan bakteri sebagai agen biokontrol terutama karena stabilitas spora dan kemudahan penanganan. Bakteri *B. subtilis* menunjukkan kandungan insektisida, antijamur dan antibakteri yang digunakan untuk mengontrol penyakit rebah semai akibat *Rhizoctonia solani* (Asaka dan Shoda, 1996). Selain itu bakteri *B. subtilis* mampu mengendalikan penyakit pada akar tanaman *Arabidopsis* akibat bakteri *Pseudomonas syringae* (Bais *et al.*, 2004). Perlakuan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp. dapat menekan sporulasi jamur patogen Namun, tidak dapat menekan perkecambahan jamur *Peronosclerospora maydis* (Jatnika *et al.*, 2013).

c. *Corynebacterium*

Corynebacterium merupakan bakteri berbentuk batang lurus sampai agak sedikit membengkok dengan ukuran $0,5 - 0,9 \times 1,5 - 4 \mu\text{m}$. Kadang – kadang mempunyai segmen berwarna dengan bentuk yang tidak menentu tetapi ada juga yang berbentuk gada yang membengkok. Bakteri ini umumnya tidak bergerak, tetapi beberapa spesiesnya ada yang bergerak dengan rata – rata dua bulu cambuk polar (Agrios, 2004). *Corynebacterium* telah diketahui memiliki sifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo (Ismail *et al.*, 2011) dan penyakit karat pada krisan (Hanudin *et al.*, 2010)

Mekanisme antagonis

Pengendalian penyakit hayati oleh mikroorganisme baik jamur ataupun bakteri dapat terjadi melalui satu atau beberapa mekanisme seperti: antibiosis, kompetisi, hiperparasit, induksi resistensi dan memacu pertumbuhan tanaman (Van Loon, 2000).

a. Antibiosis

Mekanisme antibiosis merupakan penghambatan patogen oleh senyawa metabolik yang dihasilkan oleh agensia hayati seperti: enzim, senyawa-senyawa volatil, zat pelisis dan senyawa antibiotik lainnya. Antibiotik dapat juga mengakibatkan terjadinya endolisis atau autolisis yaitu pecahnya sitoplasma suatu sel oleh enzim yang diikuti kematian yang mungkin disebabkan kekurangan hara, antibiotik ataupun kerusakan dinding sel. Dengan demikian berhasil tidaknya suatu organisme pengendali hayati sebagai agensia hayati bergantung pada kemampuan antibiotik yang dihasilkannya menekan pertumbuhan dan perkembangan patogen tanaman (Baker dan Cook, 1983).

b. Kompetisi

Kompetisi adalah suatu mekanisme penekanan aktivitas patogen oleh agensia hayati terhadap sumber-sumber terbatas seperti zat organik, zat anorganik, ruang dan faktor–faktor pertumbuhan lainnya (Nurhayati, 2011).

c. Hiperparasit.

Hiperparasitisme terjadi ketika mikroba antagonis memarasit mikroba patogen dan mengambil nutrisi dari mikroba patogen tersebut. Hiperparasit juga merupakan perusakan mikroba patogen oleh senyawa atau zat yang dihasilkan oleh

agensia hayati seperti kitinase, selulase, glukonase, enzim pelisis dan lainnya (Baker dan Cook, 1974 dalam Nurhayati, 2011)

d. Induksi resistensi

Agensia pengendali hayati juga dapat menginduksi resistensi tanaman terhadap patogen dengan cara mengaktifkan suatu lintasan sinyal dan melibatkan hormon asam jasmonik dan etilen tanaman (Van Loon, 2000).

2.4 Keragaman Bakteri Pada Tanah

Mikroba merupakan organisme yang mempunyai tempat hidup yang sangat sempit sehingga sangat rentan terhadap perubahan lingkungan (Widyati, 2008). Mikroba memiliki berbagai peran, baik menguntungkan maupun merugikan bagi manusia, hewan dan lingkungan bahkan bagi mikroba lain. Beberapa mikroorganisme yang ditemukan pada tanah ialah jenis mikroorganisme yang berperan dalam dekomposisi bahan organik diantaranya yakni jamur, bakteri dan aktinomisetes (Atmojo, 2003). Bakteri merupakan salah satu jenis mikroba yang hidup di lingkungan sekitar kita, termasuk tanah. Bakteri merupakan kelompok mikroba tanah yang paling dominan, mencapai separuh dari biomassa mikroba dalam tanah (Prihastuti, 2011). Seperti yang dikemukakan oleh Gowsalya *et al.* (2014) tanah mengandung berbagai jenis mikroorganisme termasuk bakteri. Berbagai bakteri tanah juga merupakan mikroba penghasil antibiotik (Widyati, 2008). Beberapa mikroorganisme yang ditemukan dalam tanah diantaranya yakni *Rhizobium*, *Streptomyces* sp, *Pseudomonas* sp, nematoda (Caravaca *et al.*, 2014).

Salah satu faktor penentu yang dapat membantu mengetahui banyaknya mikroorganisme dalam tanah yakni bahan organik tanah. Semakin tinggi kandungan bahan organik tanah maka keragaman dan jumlah mikroorganisme dalam tanah juga tinggi. Tingginya kandungan bahan organik juga menjadi indikator kesuburan tanah. Tanah yang subur mampu menjadi media tumbuh yang ideal bagi berbagai mikroorganisme baik yang menguntungkan ataupun merugikan bagi tanaman (Susilawati *et al.*, 2013) karena bahan organik merupakan sumber energi bagi makro dan mikro fauna tanah. Penambahan bahan organik dalam tanah akan menyebabkan aktivitas dan populasi mikrobiologi dalam tanah meningkat (Atmojo, 2003).

Beberapa penelitian mengenai eksplorasi bakteri pada tanah mendapatkan hasil karakterisasi bakteri yang bervariasi. Penelitian yang dilakukan oleh Khaeruni *et al.* (2010) pada rizosfer di lahan ultisol memperoleh isolat bakteri yang memiliki karakter dapat mensekresikan enzim ekstraseluler kitinase, selulase dan protease, penghasil IAA, pelarut fosfat dan penfiksasi nitrogen secara bebas, serta mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen secara *in vitro* dan memacu pertumbuhan tanaman. Selain itu penelitian isolasi mikroba dari tanah kampus Unsri yang dilakukan oleh Panagan (2011) memperoleh isolat yang bersifat antibiotik terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil isolasi tanah Andisol Dieng oleh Sudadi *et al.* (2013) diperoleh 4 isolat mikrobia pelarut fosfat berupa 1 macam bakteri P1 dan 3 jamur (*Aspergillus niger*, *Fusarium*, dan *Aspergillus tamari*). Isolat jamur *Aspergillus niger* yang didapat diketahui berpotensi sebagai inokulum pupuk hayati pelarut P.



III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, dan di rumah kaca Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Pelaksanaan penelitian mulai bulan Desember 2015 sampai bulan Juni 2016.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah timbangan analitik, kompor listrik, gelas ukur, panci, *autoclave* type HL – 36Ae Hirayama, *microwave oven* type R-380IN(S) SHARP, pisau, cawan Petri, jarum ose, mikroskop kamera OLYMPUS SZX7 series, Bunsen, beaker glass, tabung reaksi, pinset, pipet, botol media, gelas ukur, stik L, jangka sorong, kamera, micropipette, gunting, *object glass*, *syringe driven filter unit*, pipet Vitlab dig 100-1000 μ l, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) type: H.S. 079S, gunting, tabung, pH meter, dan ember.

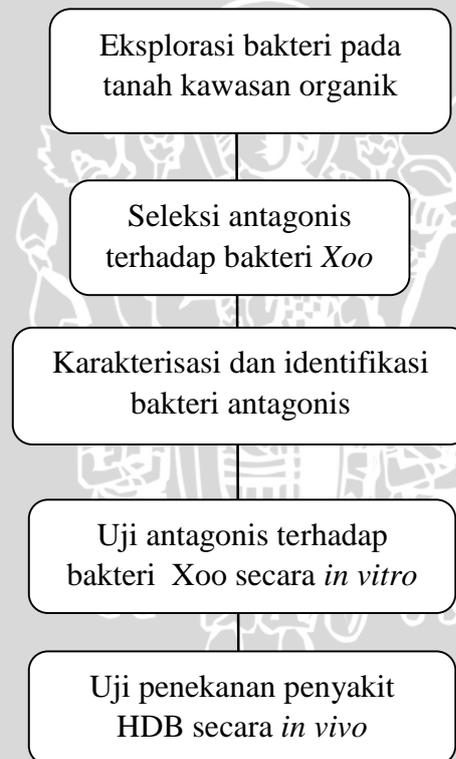
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah pada lahan pertanian organik, benih padi varietas IR-64, isolat bakteri Xoo pada padi yang didapat dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Subang, Jawa Barat, kertas saring, plastic wrapping, aluminium foil, kapas, tanaman tembakau, aquadest steril, media *nutrient agar* (NA), media *nutrient broth* (NB) spiritus, tissue steril, KOH 3%, alkohol 70%, alkohol 96%, kristal violet, iodine, safranin, malachite green, pepton, NaCl, KH_2PO_4 , agar, bromothymolblue, larutan glukosa, formalin 4%, parafin cair, H_2O_2 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan gliserol.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam 5 tahap (Gambar 3) yakni: (1) eksplorasi bakteri antagonis pada tanah kawasan organik, (2) uji antagonis bakteri dari tanah kawasan organik terhadap bakteri Xoo secara *in vitro*, (3) karakterisasi dan identifikasi bakteri antagonis secara morfologi dan biokimia, (4) uji antagonis bakteri terpilih dari tanah kawasan organik terhadap bakteri Xoo secara *in vitro* dan (5) uji penekanan penyakit HDB pada tanaman padi (*in vivo*). Pada uji antagonis

secara *in vitro* dilakukan dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan, dengan 5 perlakuan isolat antagonis terbaik dari hasil eksplorasi, kontrol positif menggunakan bakterisida berbahan aktif streptomycin sulfat dan kontrol negatif berupa aquadest steril (Tabel 1). Rancangan percobaan yang digunakan yakni menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada uji penekanan penyakit HDB pada tanaman padi (*in vivo*) menggunakan perlakuan yang sama dengan *in vitro* yakni dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan, masing-masing ulangan menggunakan 1 tanaman dan 3 daun sampel. Setiap perlakuan menggunakan suspensi bakteri dengan kerapatan 10^9 . Rancangan percobaan yang digunakan pada uji *in vitro* yakni menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK).

Berikut bagan kerangka penelitian yang dilakukan:



Gambar 3 . Kerangka operasional penelitian

Tabel 1. Perlakuan uji antagonis bakteri hasil eksplorasi terhadap Xoo dan uji penekanan penyakit HDB pada tanaman padi.

No	Perlakuan
1	Isolat E3
2	Isolat E14
3	Isolat E16
4	Isolat E19
5	Isolat E21
6	Bakterisida berbahan aktif streptomycin sulfat
7	Aquadest steril

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Eksplorasi Bakteri Pada Tanah Kawasan Organik

Eksplorasi bakteri pada tanah kawasan organik dilakukan dengan metode acak. Pengambilan sampel dilakukan pada lahan kawasan organik di kebun percobaan Universitas Brawijaya yang berada di cangar, Batu-Malang. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil sampel tanah pada 3 titik secara acak pada kedalaman 5-10 cm. Sampel yang telah diambil pada setiap titik dihomogenkan.

Sampel yang telah dihomogenkan, diambil dan ditimbang sebanyak 1 gram dan diberi aquadest steril sebanyak 10 ml. Setelah itu diambil sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengenceran dari 10^{-1} hingga 10^{-9} . Selanjutnya suspensi yang telah diencerkan diambil dengan *micropipette* masing-masing 0,1 ml pada pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} , dan 10^{-9} . Suspensi yang telah diambil ditetaskan pada media NA padat.

Metode yang digunakan yakni metode *spread plate*. *Spread plate* merupakan salah satu metode pembiakan bakteri yang dilakukan dengan menyebarkan suspensi bakteri pada permukaan media padat. Metode ini bertujuan untuk memperoleh koloni tunggal dari bakteri yang terdapat pada sampel. Pelaksanaan metode *spread plate* yakni mengambil 0,1 ml suspensi sampel dan diinokulasi ke sebuah plate agar. Sampel cair/ suspensi bakteri disebar ke permukaan media agar perbanyak dengan stik L yang telah dipanaskan pada bunsen untuk mensterilisasi dari kontaminan (Herigstad *et al.*, 2001). Setelah itu diinkubasikan pada suhu ruang selama 2x24 jam.

3.4.2 Uji Antagonis Bakteri Hasil Eksplorasi Terhadap Bakteri *Xanthomonas oryzae pv oryzae* secara *in vitro*.

Uji antagonis dilakukan di laboratorium dengan menggunakan metode *spray* (pengkabutan) modifikasi dari Kawaguchi *et al.* (2008). Bakteri hasil eksplorasi yang telah diinkubasikan selama 2x24 jam dipurifikasi pada media NA baru. Bakteri yang tumbuh setelah purifikasi diambil masing-masing 1-2 goresan jarum ose, kemudian dimasukkan dalam tabung dan ditambah aquadest steril sebanyak 1 ml. Kertas saring steril yang telah dipotong dengan diameter 5 mm dimasukkan pada tabung yang berisi bakteri hasil eksplorasi, dan direndam selama ± 1 menit kemudian ditiriskan selama ± 1 jam. Setelah ditiriskan, kertas saring diletakkan pada permukaan media NA padat pada cawan Petri, kemudian diinkubasikan selama 2x24 jam. Bakteri Xoo yang telah ditumbuhkan pada media NA diambil 1-2 goresan jarum ose dan dimasukkan pada *sprayer* yang telah diisi aquadest steril 10 ml. Suspensi bakteri Xoo tersebut disemprotkan pada cawan Petri yang sebelumnya telah diberi kertas saring yang mengandung bakteri hasil eksplorasi. Setelah itu diinkubasikan kembali selama 24 jam, kemudian diamati dan diukur zona bening atau zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri antagonis terhadap bakteri patogen.

3.4.3 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis

Identifikasi bakteri yang ditemukan dari hasil eksplorasi berpedoman pada buku *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Berikut beberapa metode yang digunakan untuk identifikasi:

a. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang diuji merupakan bakteri patogen ataupun bukan. Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri pada jaringan tanaman tembakau. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan layu atau bahkan matinya jaringan tanaman tembakau pada bagian yang diinokulasi bakteri.

b. Uji Gram

Pewarnaan Gram

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan jarum ose dan diletakkan pada gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan di atas bunsen. Isolat ditetesi dengan larutan Kristal violet 5% sebanyak 2-3 tetes selama 1

menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya ditetesi dengan iodine sebanyak 1-2 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian dibilas dengan alkohol 70% dan didiamkan selama 20 detik yang selanjutnya dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Tahap terakhir yakni isolat ditetesi dengan larutan safranin 0,15 dan didiamkan selama 20 detik kemudian dibilas dengan air mengalir. Isolat siap diamati dengan mikroskop. Bakteri dengan gram positif akan menunjukkan warna ungu, sedangkan bakteri negatif akan berwarna merah.

Uji KOH

Isolat bakteri yang akan diuji diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri ditarik-tarik menggunakan jarum ose secara cepat dan berkali-kali. Pada bakteri gram negatif akan tampak lendir pada saat diangkat, sedangkan pada bakteri positif akan tetap encer atau tidak menunjukkan reaksi. Perlakuan KOH 3% terhadap massa bakteri Gram negatif akan menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri dan melepas DNA yang merupakan komponen yang bersifat *viscid* atau seperti lendir (Lay, 1994).

c. Pewarnaan spora

Pewarnaan spora ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri uji memiliki spora atau tidak. Pengujian dilakukan dengan cara meletakkan bakteri pada gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan di atas Bunsen. Kemudian ditetesi dengan *malachite green* sambil diletakkan di atas Bunsen dan didiamkan selama 2-3 menit yang selanjutnya dibilas dengan aquades steril dan dikeringkan. Kemudian bakteri ditetesi dengan safranin dan didiamkan selama 30 detik yang selanjutnya dibilas dengan aquades steril lalu dikeringkan. Bakteri diamati dengan mikroskop pada perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi. Jika bakteri uji mampu membentuk spora maka akan nampak spora yang berwarna hijau dan sel vegetatifnya akan nampak berwarna merah.

d. Uji Oksidatif-Fermentatif (OF)

Bahan yang dibutuhkan untuk 1 L media uji OF yaitu: pepton 2g; NaCl 3g; KH_2PO_4 0,3g; agar 3 g dan bromotymol blue 1% 3 ml. Bahan-bahan dilarutkan dan diatur pada pH 7,1. Kemudian media dituang kedalam tabung reaksi berdiameter 13 mm sebanyak 4,5 ml per tabung. Media disterilisasi pada 121°C

selama 20 menit. Setelah steril, setiap tabung ditambah larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml.

Pengujian dilakukan dengan memasukkan bakteri dengan cara ditusukkan pada 2 media, yakni media tanpa ditutup parafin cair dan tidak ditutup parafin cair. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan pada perubahan warna yang terjadi dari biru menjadi kuning. Jika pada media yang ditutup parafin berubah warna maka perubahan tersebut menunjukkan reaksi fermentatif. Sedangkan jika yang berubah terdapat pada tabung tanpa parafin maka perubahan tersebut menunjukkan reaksi oksidatif.

e. Uji Katalase

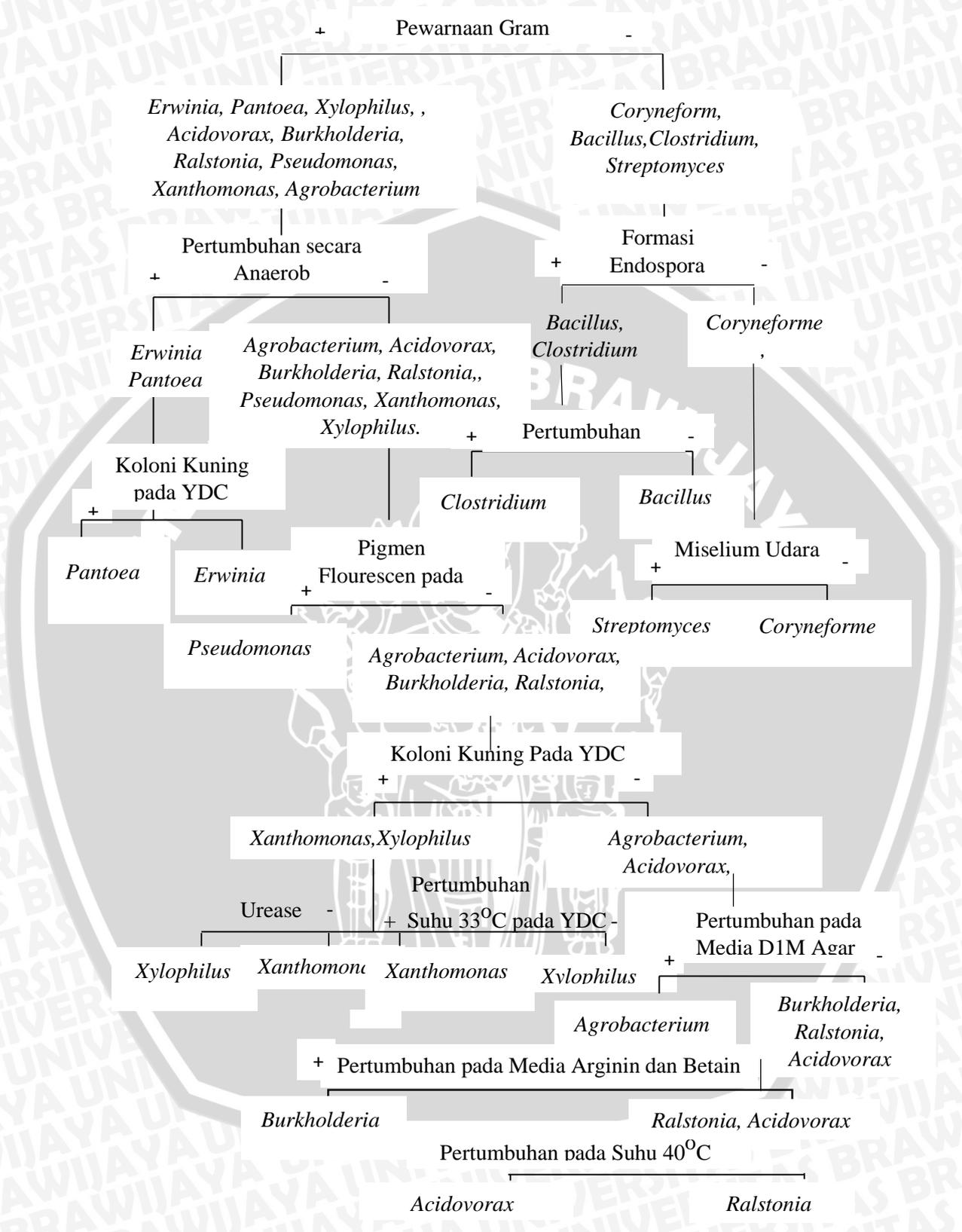
Pengujian ini dilakukan dengan meletakkan bakteri pada gelas objek steril kemudian ditetesi dengan H_2O_2 3%. Reaksi positif ditandai dengan adanya gelembung udara. Gelembung udara tersebut terbentuk karena bakteri yang diuji memiliki enzim katalase yang mampu mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen.

f. Pigmen fluorescens

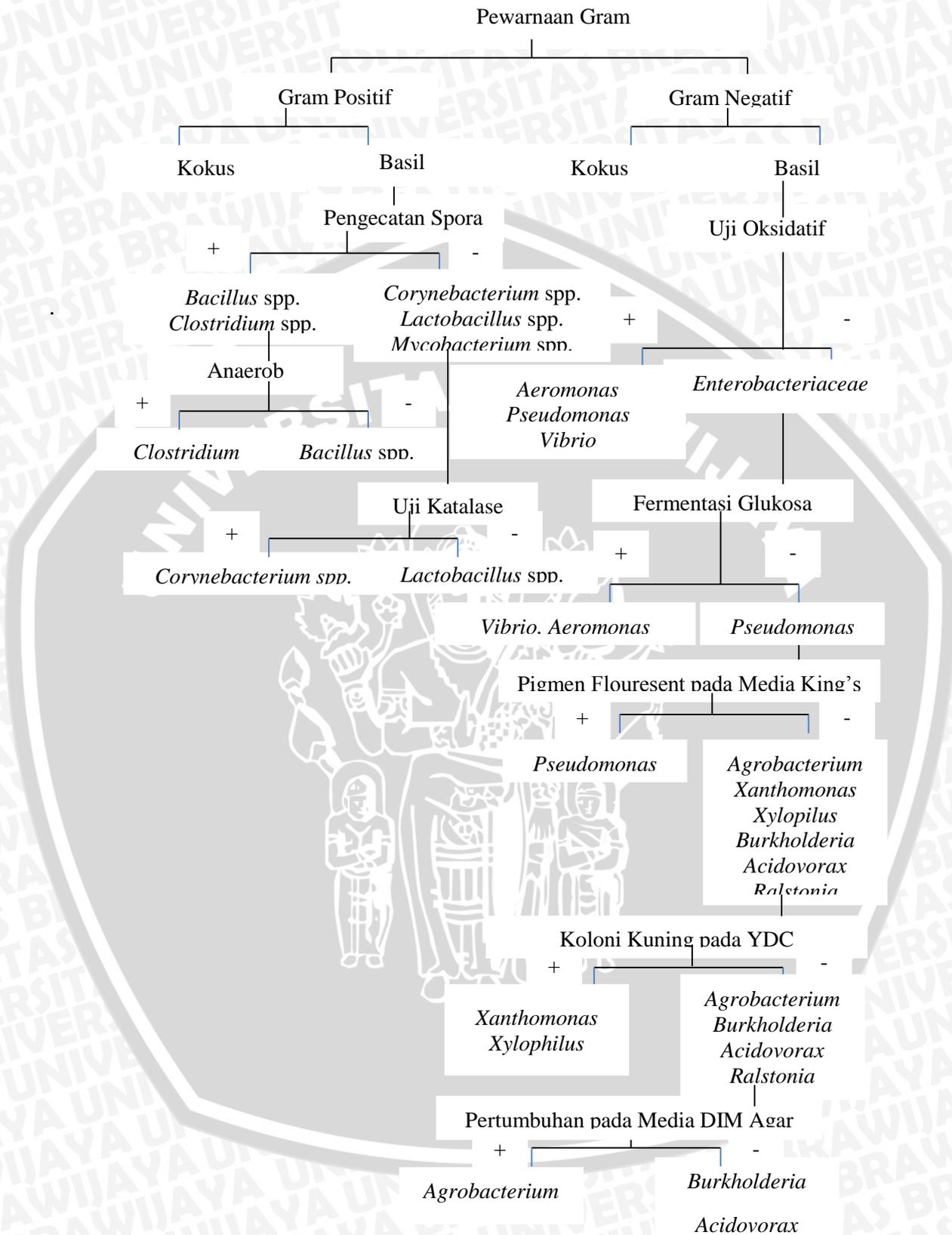
Pengujian ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media selektif King's B dan diinkubasi selama 24-48 jam. Komposisi media King's B terdiri dari protease pepton 20 gram; K_2HPO_4 1,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1,5 g; gliserol 15 ml dan agar 15 g. Bakteri yang telah ditumbuhkan diamati dibawah sinar UV. Jika bakteri nampak berpendar maka bakteri tersebut mampu memproduksi pigmen fluorescent dan sebaliknya. Pada koloni bakteri yang berpendar maka bakteri dapat dimasukan pada genus *Pseudomonas*.

g. Media selektif YDC

Pengujian ini bertujuan untuk menyeleksi apakah bakteri uji masuk pada genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas* atau tidak. Pengujian dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri ada media selektif YDC. Komposisi media YDC yaitu yeast 10 g; glukosa 20 g; $CaCO_3$ 20 g dan agar 15 g dalam 1 liter aquades. Jika bakteri uji yang ditumbuhkan berwarna kuning setelah diinkubasi maka bakteri dapat digolongkan pada genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas*.



Gambar 4. Kerangka identifikasi bakteri sampai tingkat genus (Schaad *et al.*, 2001)



Gambar 5. Kerangka identifikasi bakteri sampai tingkat genus Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*(2001)



3.4.4 Uji Penekanan Terhadap Perkembangan Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi

a. Penanaman tanaman padi

Penanaman padi dilakukan di rumah kaca dengan menggunakan ember. Bahan tanam yang digunakan yakni padi varietas IR-64. Bahan tanam yang akan digunakan direndam dengan air terlebih dahulu untuk menyeleksi benih yang bernas atau tidak. Media tanam yang digunakan yakni tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1 yang disterilisasi terlebih dahulu dengan formalin 4%, ditutup plastik dan dibiarkan selama seminggu. Selanjutnya media tanam dikeringanginkan selama 7 hari. Setelah itu media dimasukkan pada ember.

Sebelum dilakukan penanaman media tanam disiram dengan air terlebih dahulu dan dibuat lubang tanam sedalam ± 5 cm. Pemeliharaan tanaman dilakukan setiap hari sekali. Pemeliharaan yang dilakukan meliputi penyiraman, penyiangan gulma, dan pemupukan. Pemupukan menggunakan pupuk Urea, SP-36 dan KCL sesuai dosis anjuran.

b. Persiapan bakteri

Bakteri hasil eksplorasi dipurifikasi dan diinkubasikan pada media *nutrient agar* (NA). bakteri yang akan diinokulasikan dibuat suspensinya terlebih dahulu. Suspensi bakteri yang digunakan mempunyai kerapatan 10^9 cfu/ml.

c. Inokulasi bakteri antagonis

Inokulasi bakteri antagonis dilakukan pada tanaman yang berumur 1 bulan dengan metode *pin prick* modifikasi dari Volksch and May (2001). Suspensi bakteri antagonis disiapkan terlebih dahulu dengan kerapatan 10^9 cfu/ml. Daun tanaman yang akan diberi perlakuan dilubangi menggunakan jarum sebanyak 3 lubang tiap daun. Penyemprotan antagonis dilakukan pada bagian daun tanaman yang merupakan tempat sering menjadi sasaran serangan bakteri patogen Xoo. Suspensi bakteri antagonis yang telah disiapkan sebelumnya disemprotkan menggunakan *sprayer* pada bagian daun tanaman hingga terbentuk butiran-butiran semprotan yang terlihat oleh mata. Selanjutnya daun yang telah disemprot disungkup dengan menggunakan plastik selama 24 jam.

d. Inokulasi bakteri patogen Xoo

Suspensi bakteri patogen yang akan digunakan disiapkan terlebih dahulu 2 hari sebelum inokulasi. Inokulasi dilakukan satu hari setelah inokulasi antagonis. Suspensi yang digunakan memiliki kerapatan 10^9 cfu/ml. Inokulasi dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi bakteri pada bagian yang telah dilubangi dengan jarum. Penyemprotan dilakukan sampai terbentuk butiran-butiran semprotan yang terlihat oleh mata. Daun selanjutnya daun yang telah disemprot disungkup dengan menggunakan plastik selama 24 jam.

e. Pemberian bakterisida pada perlakuan kontrol

Pada percobaan yang akan dilakukan diberi kontrol negatif dan kontrol positif. kontrol positif menggunakan inokulasi bakteri patogen dan bakterisida, sedangkan kontrol negatif menggunakan bakteri patogen dan aquadest steril. Pemberian bakterisida maupun aquadest steril pada sampel kontrol dilakukan dengan cara disemprot. Bakterisida yang digunakan memiliki bahan aktif streptomisin sulfat.

3.5 Variabel Pengamatan

a. Pengamatan zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen Xoo

Zona hambat merupakan zona bening yang dihasilkan oleh bakteri antagonis sebagai bentuk perlawanan terhadap bakteri patogen. Perhitungan zona hambat dilakukan dengan mengukur jari-jari zona hambat yang terbentuk secara horizontal dan vertikal yang kemudian dijumlah dan dirata-ratakan (Pratiwi, 2005).

b. Masa Inkubasi Penyakit

Periode inkubasi penyakit adalah lamanya waktu (hari) yang diperlukan untuk timbulnya gejala awal penyakit HDB setelah diinokulasi Xoo (Khaeruni *et al.*, 2014).

c. Intesitas penyakit

Perhitungan intesitas penyakit menggunakan metode skoring oleh Khaeruni *et al.* (2014). Skoring dilakukan setiap 1 minggu sekali setelah inokulasi sampai 5 kali pengamatan (Tabel 2).

Tabel 2. Kategori serangan berdasarkan tingkat serangan.

Luas daun yang bergejala hawar (%)	Skor
0	0
1-3	1
4-6	2
7-12	3
13-50	4
51-75	5
>75	6

Hasil skoring intensitas serangan yang didapat dihitung dengan rumus :

$$IP = \frac{\sum(n \times v)}{(Z \times N)} \times 100\%$$

Ket:

n = Jumlah daun pada kategori

v = Kategori Serangan

N = Jumlah daun yang diamati

Z = Kategori serangan tertinggi

d. Pertumbuhan tanaman

Variabel pengamatan pertumbuhan tanaman yang diamati yakni tinggi tanaman. Tinggi tanaman padi diukur mulai dari pangkal batang di atas permukaan tanah hingga ujung daun tertinggi. Pengukuran dilakukan 1 minggu sekali sampai 5 kali pengamatan.

e. Berat kering dan berat basah tanaman

Berat basah tanaman diukur dengan cara menimbang berat tanaman segera setelah panen. Berat kering tanaman diukur dengan menimbang berat tanaman setelah dikeringkan dalam oven pada suhu 65-85°C selama 48 jam (Hafiah *et al.*, 2015).

3.6 Analisis Data

Data pengamatan akan dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kesalahan 5 %. Jika didapatkan hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf 5%.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Seleksi Bakteri Hasil Eksplorasi yang Bersifat Antagonis Terhadap *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* Pada Cawan Petri (*In Vitro*)

Eksplorasi bakteri yang dilakukan pada tanah kawasan organik didapatkan total 21 isolat bakteri. Masing-masing isolat diuji kemampuan antagonisnya terhadap bakteri patogen Xoo. Dari 21 isolat yang diuji, terdapat 5 bakteri hasil eksplorasi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Tabel 3). Penghambatan ditunjukkan dengan adanya zona hambat (zona bening) yang muncul di sekitar kertas saring yang mengandung bakteri hasil eksplorasi.

Tabel 3. Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo pada cawan Petri (*In Vitro*)¹⁾

Kode Isolat	Hasil Seleksi	Kode Isolat	Hasil Seleksi
E1	-	E12	-
E2	-	E13	-
E3	+	E14	+
E4	-	E15	-
E5	-	E16	+
E6	-	E17	-
E7	-	E18	-
E8	-	E19	+
E9	-	E20	-
E10	-	E21	+
E11	-		

¹⁾ (+) terdapat zona bening, (-) tidak terdapat zona bening

4.2 Pengujian Antagonis Bakteri Hasil Eksplorasi Terhadap Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* pada Cawan Petri (*In Vitro*)

Hasil pengujian daya antagonis bakteri hasil eksplorasi dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil analisis menggunakan uji sidik ragam (ANOVA) dengan taraf kesalahan 5% menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel Lampiran 1). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perlakuan dalam menghambat pertumbuhan Xoo selama 48 jam.

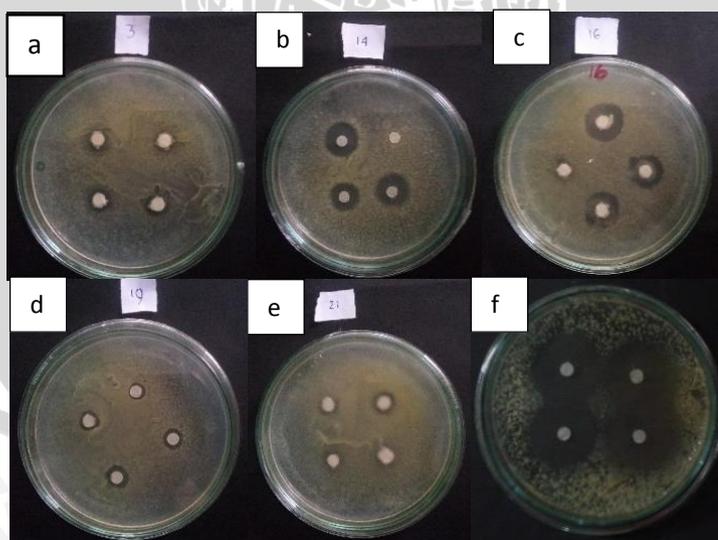
Tabel 4. Rerata zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen Xoo.

Perlakuan	Rerata zona hambat bakteri hasil eksplorasi terhadap Xoo (mm) pada 1 dan 2 HSI ¹⁾	
	1 ²⁾	2 ²⁾
Isolat E3	11,25 abc	11,25 abc
Isolat E14	13,75 bc	13,75 bc
Isolat E16	15,00 c	15,00 c
Isolat E19	9,75 ab	9,75 ab
Isolat E21	8,88 a	8,88 a
Bakterisida	24,25 d	24,25 d

¹⁾Hari Setelah Inokulasi.

²⁾Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan dan kontrol positif menggunakan bakterisida

Pada pengamatan 1 HSI dan 2 HSI diperoleh hasil yang sama. Diketahui semua isolat bakteri uji mampu menghasilkan zona hambat. Rerata zona hambat yang dihasilkan oleh semua isolat lebih kecil daripada bakterisida. Zona hambat terbesar terdapat pada P6 (Bakterisida), dengan rerata zona hambat sebesar 24,25 mm. Pada perlakuan bakteri hasil eksplorasi rerata zona hambat pada P1 (Isolat E3), P2 (Isolat E14) dan P3 (Isolat E16) menunjukkan hasil yang sama. Sedangkan rerata zona hambat pada P4 (Isolat E19) dan P5 (Isolat E21) memiliki rerata terkecil diantara semua perlakuan.



Gambar 6. Hasil pengujian antagonis bakteri hasil eksplorasi terhadap bakteri patogen Xoo pada cawan Petri (*in vitro*) pada 48 jam, (a) P1 (Isolat E3) (b) P2 (Isolat E14) (c) P3 (Isolat E16) (d) P4 (Isolat E19) (e) P5 (Isolat E21) (f) P6 (Bakterisida)

Zona hambat yang terbentuk pada saat pengujian diduga karena bakteri bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo, dengan menghasilkan senyawa antibiosis tertentu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen Xoo.

Menurut Cook dan Baker (1983) ada beberapa bakteri yang mampu menghasilkan suatu senyawa beracun yang didifusikan kedalam media buatan (NA) yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme lain. Beberapa senyawa tersebut yakni antibiotik dan lipopeptide seperti yang dimiliki oleh bakteri *B. subtilis* (Raaijmakers *et al.*, 2002). Secara umum, agens hayati memiliki mekanisme penghambatan terhadap patogen dengan cara menghasilkan senyawa antibiotik, kompetisi terhadap nutrisi, maupun parasitisme langsung terhadap patogen (Soesanto, 2004). Beberapa agens hayati yang telah diketahui memiliki mekanisme penghambatan terhadap bakteri patogen yaitu *Streptomyces* sp., *P. fluorescens*, *Trichoderma viride* (Maharina *et al.*, 2014), *Corynebacterium* sp (Ismail *et al.*, 2011; Patihong, 2012), *B. subtilis* (Asaka dan Shoda, 1996; Raaijmakers *et al.*, 2002; Bais *et al.*, 2004; Hanudin *et al.*, 2012;).

Bakteri *Bacillus* sp. tergolong bakteri yang memiliki mekanisme antagonis berupa antibiosis (Abidin *et al.*, 2015). Spesies *Bacillus* dapat melindungi tanaman dari patogen melalui beberapa mekanisme, termasuk induksi resistensi sistemik (Kloepper *et al.*, 2004), kompetisi untuk ruang dan nutrisi dan oleh sekresi senyawa antijamur, seperti antibiotik lipopeptide, surfactin, iturin dan fengycin (Kumar *et al.*, 2011). Selain itu, terdapat beberapa bakteri lain yang mampu menghasilkan senyawa yang bersifat antibiotik dan mampu menghambat pertumbuhan patogen, seperti *P. fluorescens* dan *B. subtilis* yang mampu mengendalikan penyakit karat pada krisan (Hanudin *et al.*, 2010), mampu menekan sporulasi jamur patogen *Peronosclerospora maydis* (Jatnika *et al.*, 2013). *Corynebacterium* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen Xoo (Ismail *et al.*, 2011; Patihong, 2012).

4.3 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis

Karakteristik Morfologi

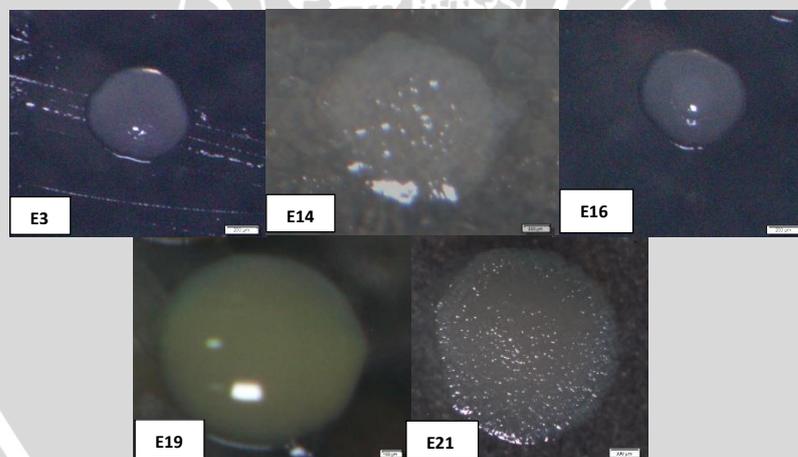
Bakteri yang diamati ditumbuhkan pada media NA dengan metode *streak* tunggal dengan umur 24 jam. Pengamatan morfologi koloni mengacu pada

Cappucino (2005). Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk, warna, tepi, elevasi dan terdapat mucoid atau tidak. Hasil pengamatan morfologi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Ciri-ciri morfologi koloni tunggal bakteri antagonis

Isolat	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi	Mucoid
E3	Bulat	Putih Keruh	Rata	Cembung	Mucoid
E14	Bulat	Putih Keruh	Bergelombang	Datar	Mucoid
E16	Bulat	Putih Keruh	Rata	Cembung	Mucoid
E19	Bulat	Kuning Keruh	Rata	Cembung	Mucoid
E21	Bulat	Putih Keruh	Bergelombang	Datar	Mucoid

Pada hasil pengamatan morfologi koloni yang telah dilakukan didapatkan hasil yang bervariasi. Hasil pengamatan menunjukkan semua isolat memiliki koloni berbentuk bulat. Warna isolat didominasi oleh warna putih keruh, kecuali pada isolat E19 yakni berwarna kuning keruh. Pada isolat E3, E16 dan E19 memiliki tepi yang rata, sedangkan pada isolat E14 dan E21 memiliki tepi bergerigi. Elevasi pada isolat E3, E16 dan E19 cembung, sedangkan pada isolat E14 dan E21 datar. Semua isolat bersifat mucoid.



Gambar 7. Koloni tunggal bakteri hasil eksplorasi yang bersifat antagonis

Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Pengujian secara fisiologi dan biokimia mengacu pada metode identifikasi menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt, 1994) dan Schaad *et al.* (2001). Berikut hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia pada bakteri antagonis:

1. Pengujian hipersensitif

Pengujian hipersensitif dilakukan dengan menginfiltrasi suspensi bakteri pada daun tanaman tembakau. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri tersebut bersifat patogen atau non patogen (Agrios, 2004). Hasil uji hipersensitif ditunjukkan dengan munculnya gejala nekrosis pada bagian yang telah diinfiltrasi suspensi bakteri. Reaksi positif akan muncul dalam waktu 24-48 jam (Lelliot dan Stead, 1987).



Gambar 8. Hasil uji hipersensitif bakteri isolat E16 pada daun tembakau, Lingkaran merah merupakan titik infiltrasi suspensi bakteri

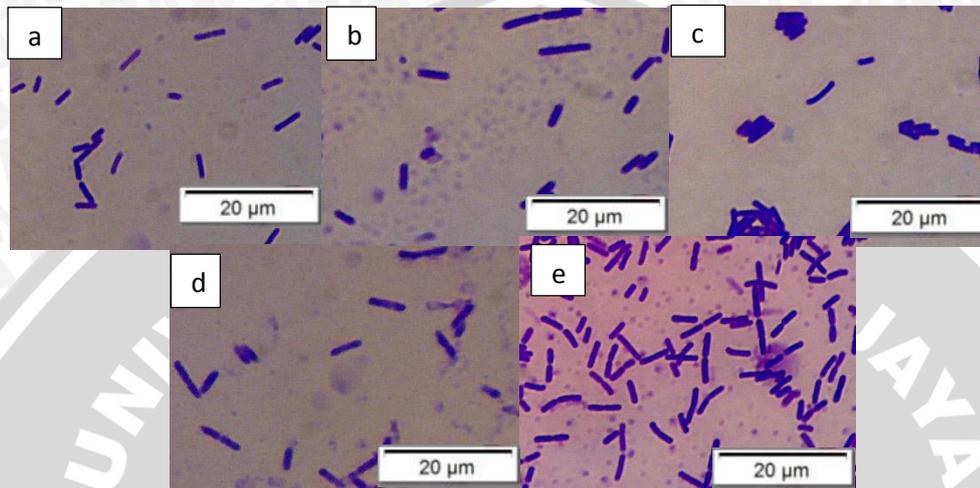
Pada pengamatan uji hipersensitif selama 24-72 jam, 5 isolat bakteri yang diuji menunjukkan reaksi negatif atau tidak terjadi nekrosis pada bagian yang telah diinfiltrasi suspensi bakteri uji. Hal ini menunjukkan isolat bakteri yang diuji diduga termasuk bakteri non-patogen.

2. Pengujian Gram

Bakteri Gram positif ditandai dengan terlihatnya warna ungu sampai kehitaman, sedangkan bakteri Gram negatif terlihat berwarna merah dengan pengamatan dibawah mikroskop (Schaad *et al.*, 2001). Pengecatan Gram juga digunakan untuk mengetahui bentuk sel dari bakteri. Hasil uji Gram menunjukkan bahwa 5 isolat yang diuji termasuk dalam Gram positif dengan bentuk sel batang (Gambar 9).

Pada bakteri Gram positif bila dilihat dibawah mikroskop terlihat berwarna ungu kemerahan, sedangkan bakteri Gram negatif terlihat berwarna merah cerah. Perbedaan hasil pewarnaan gram disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat pewarna Kristal violet, sehingga akan tampak berwarna ungu

tua. Sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan pada saat ditetesi dengan pewarna lainnya yaitu dengan zat pewarna safranin akan tampak berwarna merah. Perbedaan warna ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding selnya (Pelezar, 1989).

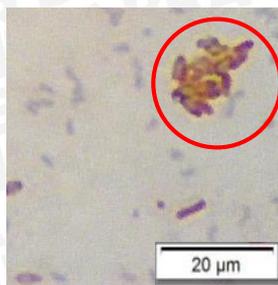


Gambar 9. Hasil uji Gram. (a) isolat E3, (b) isolat E14, (c) isolat E16, (d) isolat E19, dan (e) isolat E21

Sebagian besar dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan bakteri Gram negatif terdiri dari kandungan lipid yang tinggi dibandingkan bakteri Gram positif. Seperti yang dikatakan Jawetz (1995), perbedaan kepekaan pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif terhadap zat antibakteri karena perbedaan struktur dinding sel, seperti jumlah peptidoglikan, jumlah lipid, ikatan silang, aktivitas enzim yang menentukan penetrasi, peningkatan dan aktivitas antibakteri.

3. Pengecatan endospora

Pengecatan endospora dimaksudkan untuk mengetahui bakteri uji memiliki endospora atau tidak. Pengujian ini dilakukan terhadap bakteri Gram positif. Spora yang terdapat pada bakteri akan tampak berwarna kehijauan, dan terdapat warna merah disekitarnya yang menunjukkan sel vegetatif dari bakteri (Schaad *et al.*, 2001). Dari hasil pengujian yang dilakukan spora terlihat hanya pada isolat E19 (Gambar 10).



Gambar 10. Bakteri isolat E19, spora bakteri berwarna hijau

4. Uji katalase

Pengujian katalase dilakukan pada bakteri Gram positif yang tidak memiliki endospora. Keempat bakteri yang diuji katalase menunjukkan reaksi positif, yakni dengan terbentuknya gelembung udara (Gambar 11). Dari hasil pengujian dapat diketahui bakteri yang diuji memiliki enzim katalase yang mampu merubah hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen, sehingga terbentuk gelembung pada koloni bakteri yang ditetesi H_2O_2 . Hal tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Lay (1994) terbentuknya gelembung udara pada saat pengujian katalase menunjukkan bahwa bakteri uji mampu menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen.

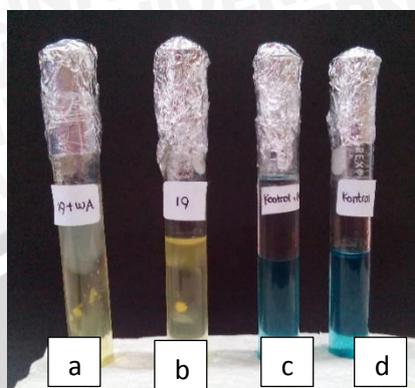


Gambar 11. Hasil uji katalase pada isolat E3

5. Uji Oksidatif fermentatif

Uji oksidatif dilakukan pada bakteri yang memiliki endospora. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri uji masuk pada genus *Bacillus* atau genus *Clostridium*. Bakteri yang diuji hanya bakteri dengan kode E19. Hasil pengujian ditentukan dengan perubahan warna yang terjadi pada media uji dari biru menjadi kuning. Jika perubahan warna terjadi pada media yang tidak tertutup parafin maka bakteri bersifat oksidatif. Jika perubahan warna terjadi pada media yang ditutup parafin maka bakteri bersifat fermentatif (Schaad *et al.*, 2001).

Dari hasil pengujian dapat diketahui bahwa isolat E19 bersifat fermentatif, yang berarti isolat E19 masuk pada genus *Clostridium* sp. (Gambar 12).



Gambar 12. Hasil pengujian oksidatif-fermentatif. Pada isolat E19, a) isolat E19, b) isolat E19 + parafin, c) kontrol+parafin, d) kontrol

Hasil Identifikasi Bakteri hasil eksplorasi

Lima isolat yang menunjukkan zona hambat diidentifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia sampai tingkat genus berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001) sebagai berikut (Tabel 6):

Tabel 6. Hasil uji fisiologi dan biokimia isolat bakteri antagonis¹⁾

Uji Fisiologi dan Biokimia	E3	E14	E16	E19	E21
Uji Hipersensitif	-	-	-	-	-
Pengujian KOH 3%	-	-	-	-	-
Pengujian Gram	+	+	+	+	+
Bentuk	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Endospora	-	-	-	+	-
Katalase	+	+	+	TU	+
Oksidatif-Fermentatif	TU ²⁾	TU	TU	+	TU

¹⁾(-) bereaksi negatif; (+) bereaksi positif,

²⁾Tidak uji. E3, E14, E16, dan E21 genus *Corynebacterium* sp. E19 genus *Clostridium* sp.

a. Isolat E3

Bakteri dengan kode isolat E3 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mucoid. Hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia menunjukkan reaksi negatif pada uji hipersensitif, termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk sel basil pada pengujian KOH 3% dan pewarnaan Gram. Pada pengujian katalase bakteri

bereaksi positif, yakni dengan terbentuknya gelembung udara. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Corynebacterium*.

b. Isolat E14

Bakteri dengan kode isolat E14 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi bergelombang, elevasi datar dan bersifat sedikit mucoid. Hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia menunjukkan reaksi negatif pada uji hipersensitif, termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk sel basil pada pengujian KOH 3% dan pewarnaan Gram. Pada pengujian katalase bakteri bereaksi positif, yakni dengan terbentuknya gelembung udara. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Corynebacterium*.

c. Isolat E16

Bakteri dengan kode isolat E16 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mucoid. Hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia menunjukkan reaksi negatif pada uji hipersensitif, termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk sel basil pada pengujian KOH 3% dan pewarnaan Gram. Pada pengujian katalase bakteri bereaksi positif, yakni dengan terbentuknya gelembung udara. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Corynebacterium*.

d. Isolat E19

Bakteri dengan kode isolat E19 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna kuning keruh, tepi rata, elevasi cembung dan bersifat mucoid. Hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia menunjukkan reaksi negatif pada uji hipersensitif, termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk sel basil pada pengujian KOH 3% dan pewarnaan Gram, memiliki endospora, dan pada pengujian oksidatif-fermentatif menunjukkan hasil positif pada kedua media uji yang menunjukkan bakteri mampu hidup secara aerob dan anaerob. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Clostridium*.

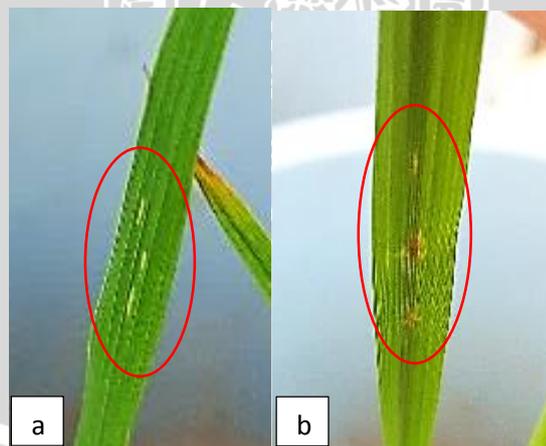
e. Isolat E21

Bakteri dengan kode isolat E21 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, berwarna putih keruh, tepi bergelombang, elevasi datar dan bersifat sedikit mucoid. Hasil pengujian secara fisiologis dan biokimia menunjukkan reaksi negatif pada uji hipersensitif, termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk sel basil pada pengujian KOH 3% dan pewarnaan Gram. Pada pengujian katalase bakteri bereaksi positif, yakni dengan terbentuknya gelembung udara. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk dalam genus *Corynebacterium*.

4.4 Pengujian Penekanan Bakteri Antagonis Terhadap Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

Masa Inkubasi

Hasil pengamatan masa inkubasi menunjukkan bahwa semua daun yang diinokulasi menunjukkan gejala yang sama, yakni terdapat bercak hawar berwarna kuning yang tidak teratur, semakin lama semakin menyebar dan berubah warna dari kuning menjadi kuning pucat hingga putih dan layu. Gejala tersebut serupa dengan yang dikemukakan oleh Wahyudi *et al.* (2001) dan Muneer *et al.* (2007).



Gambar 13. Gejala penyakit HDB, (a) Gejala pada 3 MST dan (b) Gejala pada 4 MST

Pada pengamatan masa inkubasi semua perlakuan memunculkan gejala yang bervariasi dan berbeda nyata pada uji sidik ragam (ANOVA) (Tabel lampiran 2). Pada uji lanjutan diketahui bahwa semua perlakuan dengan bakteri antagonis

menunjukkan hasil yang berbeda dengan perlakuan kontrol negatif. Sedangkan pada perlakuan bakteri antagonis memiliki rerata masa inkubasi yang sama. Dari hasil tersebut diketahui bahwa perlakuan bakteri hasil eksplorasi yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo mampu menekan perkembangan penyakit HDB pada tanaman padi, kemampuannya sama dengan menggunakan bakterisida.

Tabel 7. Hasil pengamatan masa inkubasi penyakit

Perlakuan	Rerata masa inkubasi (hari) ¹⁾
Isolat E3	3,25 b
Isolat E14	3 b
Isolat E16	3,75 b
Isolat E19	3 b
Isolat E21	3,5 b
Bakterisida	3,25 b
Aquadest	2,25 a

¹⁾Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan

Intensitas penyakit

Pengamatan intensitas penyakit yang terjadi relatif kecil. Pada minggu pertama hingga minggu ke-3 didapatkan hasil yang sama. Pada minggu ke-4 dan ke-5 hasil analisis sidik ragam (ANOVA) intensitas penyakit HDB didapatkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 3).

Intensitas penyakit pada semua perlakuan bakteri antagonis lebih rendah dibandingkan kontrol menggunakan aquadest. Hal ini menunjukkan bahwa semua perlakuan bakteri antagonis dapat menurunkan intensitas penyakit HDB pada tanaman padi. Intensitas penyakit pada semua perlakuan bakteri antagonis tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan intensitas penyakit pada perlakuan bakterisida. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri antagonis dalam menekan perkembangan penyakit HDB sama dengan kemampuan yang ada pada aplikasi bakterisida.

Tabel 8. Hasil pengamatan uji antagonis secara *in vivo*¹⁾

Perlakuan	Intensitas penyakit (%) pada 1-5 MST ²⁾				
	1	2	3	4	5
Isolat E3	16,7	16,7	16,7	16,7 a	16,7 a
Isolat E14	16,7	16,7	16,7	16,7 a	16,7 a
Isolat E16	16,7	16,7	16,7	16,7 a	16,7 a
Isolat E19	16,7	16,7	16,7	16,7 a	16,7 a
Isolat E21	16,7	16,7	16,7	16,7 a	16,7 a
Bakterisida	16,7	16,7	16,7	16,7 a	16,7 a
Aquadest	16,7	16,7	16,7	30,5 b	30,5 b

¹⁾Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan

²⁾Minggu setelah inokulasi

Pada hasil pengamatan intensitas penyakit dapat diketahui bahwa bakteri antagonis mampu menekan perkembangan penyakit HDB pada daun tanaman padi. Hal ini disebabkan bakteri antagonis dapat menghasilkan senyawa antibiotik atau memiliki kemampuan menghasilkan enzim tertentu yang mampu menekan perkembangan penyakit HDB akibat bakteri patogen Xoo. Antibiotik berasal dari kata “anti” yang berarti lawan dan “bios” yang berarti hidup, merupakan senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme terutama jamur dan bakteri yang memiliki sifat mematikan dan menghambat pertumbuhan kuman (mikroorganisme yang merugikan) (Panagan, 2011).

Pada hasil karakterisasi dan identifikasi telah diketahui masing-masing genus isolat yang digunakan pada pengujian. Isolat E3, E14, E16 dan E21 termasuk kedalam genus *Corynebacterium* sp. Sedangkan E19 termasuk kedalam genus *Clostridium* sp.

Corynebacterium sp. termasuk kedalam salah satu jenis bakteri yang bersifat antagonis seperti yang telah diketahui pada beberapa penelitian sebelumnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Patihong (2012) yakni pengujian bakteri *Corynebacterium* sp. pada tanaman padi dengan perendaman benih dan penyemprotan saat dilapang, menunjukkan hasil perlakuan dengan perendaman dapat mengurangi tingkat serangan penyakit kresek akibat Xoo. Begitu pula hasil yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan Syahri dan Somantri (2015), bahwa *Corynebacterium* sp. efektif dalam mengendalikan penyakit kresek. Penggunaan bakteri *Corynebacterium* sebagai agens pengendali hayati juga dilakukan pada tanaman krisan untuk mengendalikan penyakit karat (Hanudin *et al.*, 2010).

Corynebacterium sp. juga terbukti mampu mengendalikan dan mencegah penyebaran penyakit hawar pada jagung (Stepanus, 2014).

Sedangkan *Clostridium* sp. merupakan bakteri yang kebanyakan hidup ditanah dan memiliki spora yang tahan terhadap panas dan neurotoksin (Meryandini, 2002). Bakteri ini mempunyai morfologi koloni beragam, bersifat gram positif berbentuk batang dengan spora di daerah subterminal (Brazier *et al.*, 2002). *Clostridium* sp. dapat menyebabkan penyakit pada hewan dan manusia pada spesies tertentu misalnya *Clostridium botulinum* yang mudah sekali mengkontaminasi makanan, sehingga dapat menyebabkan keracunan (Meryandini, 2002). Bakteri *Clostridium* sp. ini mampu menghasilkan toksin yang berbeda setiap spesiesnya (Health protection agency, 2008). Gao *et al.* (2003) menyebutkan bahwa *Clostridium* sp. merupakan salah satu bakteri yang telah diketahui dapat menghasilkan enzim kitinase atau dapat disebut kitinolitik. Dari beberapa pernyataan tersebut diduga bahwa mekanisme kerja antagonis dari bakteri jenis *Clostridium* sp. berupa toksin atau enzim kitinase. Enzim kitinase telah banyak ditemukan pada mikroorganisme yang diperoleh dari alam,, terutama jenis jamur dan bakteri. Aktifitas kitinase secara kualitatif dapat diketahui adanya zona bening disekitar pertumbuhan koloni pada media yang mengandung kitin (Herdyastuti *et al.*, 2009).

Tinggi Tanaman

Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) terhadap tinggi tanaman (Tabel 9) menunjukkan tidak berbeda nyata (Tabel Lampiran 4). Hal ini dapat disebabkan karena intensitas penyakit yang muncul pada setiap perlakuan adalah rendah, sehingga tidak berpengaruh pada tinggi tanaman.

Tabel 9. Hasil pengamatan tinggi tanaman padi

Perlakuan	Tinggi tanaman padi (cm) pada 1-5 MSI ¹⁾				
	1	2	3	4	5
Isolat E3	23,3	29,5	36,6	43,9	48,8
Isolat E14	24,0	32,1	39,1	45,0	53,8
Isolat E16	23,0	32,8	39,3	45,8	54,5
Isolat E19	25,3	34,0	41,3	47,3	57,0
Isolat E21	23,8	31,8	37,8	45,6	53,3
Bakterisida	23,8	33,8	41,1	44,0	51,8
Aquadest	23,5	33,5	43,5	49,5	57,0

¹⁾Minggu setelah inokulasi

Berat basah dan berat kering tanaman

Pada pengamatan berat basah dan berat kering tanaman (Tabel 10) didapatkan hasil yang selaras dengan tinggi tanaman, yakni pada analisis sidik ragam (ANOVA) tidak berbeda nyata (Tabel lampiran 5 dan Tabel Lampiran 6). Hal ini diduga karena sedikitnya gejala dan intensitas serangan yang muncul. Sehingga tidak berpengaruh terhadap berat basah dan berat kering tanaman.

Tabel 10. Hasil pengamatan berat basah dan berat kering tanaman padi

Perlakuan	Berat basah (gram)	Berat kering (gram)
Isolat E3	5,65	2,73
Isolat E14	10,78	5,15
Isolat E16	15,63	7,48
Isolat E19	8,10	3,93
Isolat E21	17,05	8,53
Bakterisida	12,50	5,78
Aquadest	11,93	5,78

Berat basah dan berat kering tanaman selain dipengaruhi kerusakan jaringan tanaman akibat serangan penyakit juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain. Diantaranya yakni, kadar air (Hendriyani dan Setiari, 2009; Nurwahyuningsih *et al.*, 2013), jumlah daun dan banyaknya akar serta intensitas cahaya (Sukarjo, 2004). Jumlah kadar air dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, kelembaban udara (Kusumaningrum *et al.*, 2007) dan volume air yang diterima tanaman (Hendriyani dan Setiari, 2009).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

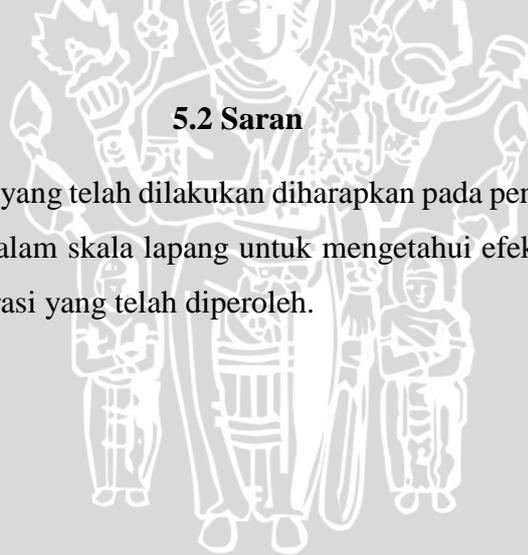
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada tanah kawasan organik kebun percobaan cangar ditemukan 21 isolat bakteri. Dari ke-21 isolat yang diperoleh terdapat 5 isolat dengan kode E3, E14, E16, E19 dan E21 yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo dan mampu menekan perkembangan penyakit HDB pada tanaman padi. Penghambatan terbesar dihasilkan oleh isolat dengan kode E16 sebesar 15 mm. Sedangkan untuk pengujian penekanan penyakit bakteri antagonis pada tanaman padi kelima isolat bakteri antagonis memiliki kemampuan yang sama.

Berdasarkan hasil karakterisasi dan identifikasi dari kelima isolat tersebut diketahui bahwa isolat dengan kode E3, E14, E16, dan E21 termasuk pada genus *Corynebacterium* sp. Sedangkan isolat dengan kode E19 termasuk pada genus *Clostridium* sp.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan pengujian dalam skala lapang untuk mengetahui efektifitas dari bakteri antagonis hasil eksplorasi yang telah diperoleh.



DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., L.Q. Aini, dan A.L. Abadi. 2015. Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai. J. HPT. 3(1):1-10.
- Agrios, G. N. 2004. Plant Pathology. Fifth Edition. San Diego. California: Academic Press. Diterjemahkan oleh Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Al-Khatib, M., K. Alhussaen, N. Elbanna, and M. Zyadeh,. 2010. Biological control of olive leaf spot (peacock spot disease) caused by *Cyloconium oleaginum* (*Spilocea oleaginea*). J. Microbiology and Antimicrobials. 2(6):64-67.
- Asaka, O. and Makoto S. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping-Off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB14. J. Applied and Environmental Microbiology. 62(11):4081-4085.
- Atmojo, S.W. 2003. Peranan Bahan Organik Terhadap Kesuburan Tanah Dan Upaya Pengelolaannya. Surakarta. Sebelas Maret University Press
- Bais, H.P., R. Fall, and J.M. Vivanco. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against Infection of Arabidopsis Roots by *Pseudomonas syringae* Is Facilitated by Biofilm Formation and Surfactin Production. Plant Physiol. 123:307-319.
- Baker, K. F dan R. J. Cook. 1974. Biological control of microbial plant pathogen. San Fransisco: Freeman WH.
- Bradbury, J.F. (1984) Genus II. Xanthomonas Dowson. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Krieg, N.R. and Holt, J.G., eds), p. 199–210. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Brazier, J.S., B.I. Duerden, V. Hall, J.E. Salmon, J.Hood, M.M. Brett, J. Mclauchlint, and R.C. George, 2002. Isolation and identification of *Clostridium* spp. from infections associated with the injection of drugs: experiences of a microbiological investigation team. J. Med Microbil. 51:985-989.
- Caravaca, F., H. Maboreke, F. Kurth, S. Herrmannm, M. T. Tarkkac, and L. Ruess. 2014. Synergists and antagonists in the rhizosphere modulate microbial communities and growth of *Quercus robur* L. J. Soil biology and biochemistry. 82:65-73.
- Cook, R.J., and K.F Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant patogens. APS Press. St. Paul. Minnesota USA.
- Dye. 1980. Bacterial Leaf Blight. (online) <http://www.knowledgebank.irri.org/smta/index.php/importance-of-seed-health-in-seedgermplasm-exchange-mainmenu-84/282>. Diakses pada tanggal 4 Februari 2016.
- Gao, J., M.W. Bauer, K.R. Shockley, M.A. Pysz, and R.M. Kelly. 2003. Growth of Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus furiosus* on Chitin Involves Two

- Family 18 Chitinases. J. Applied And Environmental Microbiology. 69(6):3119-3128.
- Gnanamanickam, S.S. 1999. Biological Control of Rice Diseases. Springer. New York.
- Goel, A.K., Rajagopal, L, R.V. Sonti. 2001. Pigment and Virulence Deficiencies Associated with Mutations in the *aroE* Gene of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Applied And Environmental Microbiology. 67:245–250.
- Gowsalya, A., V. Ponnusami and K.R. Suguran. 2014. Isolation of Bacteria from Soil sample for Exo Polysaccharide production. International Journal of ChemTech Research. 6(5):2925-2928.
- Hafiah, W., A.L. Abadi, dan L.Q. Aini. 2015. Ketahanan Lima Galur Padi (*Oryza sativa* L.) Terhadap Dua Isolat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi. J. Hpt. 3(2):9-17.
- Hanudin, W.N., E. Silvia, I. Djatnika, B. Marwoto. 2010. Formulasi Biopestisida Berbahan Aktif *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Corynebacterium* Non Patogenik Untuk Mengendalikan Penyakit Karat Pada Krisan. J. Hort. 20(3):247-261.
- Hanudin, Marwoto, B, Hersanti dan Muharam. 2012. Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma harzianum* untuk Mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Kentang. J. Hort. 22(2):173-180.
- Health Protection Agency. 2008. Identification of *Clostridium* species. National Standard Method BSOP ID 8 Issue 3. (online) http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp. 9 Juni 2016
- Hendriyani, I.S. dan N. Setiari. 2009. Kandungan Klorofil Dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) Pada Tingkat Penyediaan Air Yang Berbeda. J. Sains dan Mat. 17(3):145-150.
- Herdyastuti, N., T.J. Raharjo, Mudasir dan S. Matsjeh. 2009. Kitinase dan Mikroorganisme Kitinolitik : Isolasi, Karakterisasi dan Manfaatnya. J. Chem. 9(1):37-47.
- Herigstad, B., M.Hamilton, and J. Heersink. 2001. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. Journal of Microbiological Methods. 44(2):121-129.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Maryland, USA: Williams and Wilkins.
- Ismail, N., A. Luice dan Bahtiar. 2011. Potensi *Corynebacterium* Sebagai Pengendali Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi. Seminar Nasional Serealia 2011. BPTP Sulawesi Utara.
- Jatnika, W., A.L. Abadi, dan L.Q. Aini. 2013. Pengaruh Aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Perkembangan Penyakit Bulai Yang Disebabkan Oleh Jamur Patogen *Peronosclerospora maydis* Pada Tanaman Jagung. J. HPT. 1(4):19-29.

- Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg, G.F. Brooks, J.S. Bute, L.N. Ornston. 1995. Mikrobiologi Kedokteran, ed. 20. San Francisco: University of California.
- Kawaguchi, A., K. Inoue, and Y. Ichinose. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, and Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. . *Phytopathology*. 98(11):1218-1225.
- Khaeruni, A., G.A.K. Sutariati dan S. Wahyuni. 2010. Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Bakteri Rizosfer Lahan Ultisol Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman Dan Agensia Hayati Cendawan Patogen Tular Tanah Secara In Vitro. *HPT Tropika*. 10(2):123-130.
- Khaeruni, A., M.Taufik, T. Wijayanto, dan E.A. Johan. 2014. Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tiga Varietas Padi Sawah yang Diinokulasi pada Beberapa Fase Pertumbuhan. *J. Fitopatologi Indonesia*. 10(4):119-125.
- Kharis, M. 2012. Hubungan Karakteristik Lahan Dengan Produksi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) di Kecamatan Bumiaji Kota Batu. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Kheirandish, Z and B. Harighi. 2015. Evaluation of bacterial antagonists of *Ralstonia solanacearum*, causal agent of bacterial wilt of potato. *Jurnal of biological control*. 86:14-19.
- Kloepper, J. W., C. M. Ryu dan S. Zhang. 2004. Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. *The American Phytopathological Society*. 94(11):1259-1266.
- Kumar, R.M., O. Prakash, A.K. Tiwari, A. Pandey, M. Alam and A. Dikshit. 2011. Culture Filtrate Antibiosis of Plant Growth Promoting Rhizobacteria PGPRs Against Phytopathogens Infecting Medicinal and Aromatic Plants. *International Journals of Research in Biological Sciences*.
- Lay, W. B. 1994. Analisis Mikrobial di Laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lelliott, R. A. dan D.E. Steed. 1987. Methods For The Diagnosis of Bacterial
- Leyns, F., M.D. Cleene, J.G. Swings, J.D. Ley. 1984. The Host Range of the Genus *Xanthomonas*. *The Botanical Review*. 50:308-356.
- Liu, D.N., P.C. Ronald dan A.J. Bogdanove. 2006. *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. *Molecular Plant Pathology* (2006). 7(5):303-324.
- Maharina, K.E., L.Q. Aini dan T. Wardiyati. 2014. Aplikasi Agens Hayati dan Bahan Nabati Sebagai Pengendalian Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Budidaya Tanaman Tomat. *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(6):506-513.
- Makarim, A.K. dan E. Suhartatik. 2009. Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi.
- Meryandini, A. 2002. Identifikasi Isolat *Clostridium botulinum* Asal Bogor. *J. Hayati*. 9(1):24-26.

- Mew, T.W., C.M. Cruz, and E.S. Medalla. 1992. Changes in Race Frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Response to Rice Cultivar Planted in the Philippines. Manila, Philippines. International Rice Research Institute.
- Muneer, N., A. Rafi, and M.A. Akhtar 2007. Isolation And Characterization Of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolats From North West Frontier Province (Nwfp) Pakistan. *Sarhad J. Agric.* 23(3):743-751.
- Nurhayati, 2011. Penggunaan Jamur dan Bakteri dalam Pengendalian Penyakit tanaman Secara Hayati yang Ramah Lingkungan. Prosiding Semirata.
- Ou, S.H. 1972. Rice Diseases. Kew, Surrey: Commonwealth Mycological Institute.
- Patihong, H.R. 2012. Uji Efektivitas Bakteri Antagonis *Corynebacterium* Untuk Mengendalikan Penyakit Kresek (*Xanthomonas campestris* pv *oryzae*) Pada Tanaman Padi. Dinas Pertanian Tanaman Pangan Dan Holtikultura UPTD Balai Proteksi Tanaman Pangan Dan Holtikultura Propinsi Sulawesi Selatan.
- Pelezar, C. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi. UI Press: Jakarta.
- Peraturan Menteri Pertanian Nomor 64 Tahun 2013 Tentang Sistem Pertanian Organik. 2013. Jakarta.
- Plantamor, 2012. Padi. (online) <http://www.plantamor.com/index.php?plant=926>. Diakses pada tanggal 18 Januari 2016.
- Pratiwi, R. 2005. Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal. 38(2):64-67.
- Prihastuti. 2011. Struktur Komunitas Mikroba Tanah Dan Implikasinya Dalam Mewujudkan Sistem Pertanian Berkelanjutan. 1(4):174-181.
- Raaijmakers, J.M., M. Vlami and Jorge T. D. S. 2002. Antibiotic Production By Bacterial Biocontrol Agents. 81:537-547.
- Schaad, N. W., J.B. Jones dan W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. Ed ketiga. APS Press. St. Paul Minnesota.
- Soesanto, L., E. Mugiastuti dan R.F. Rahayu. 2010. Kajian Mekanisme Antagonis *Pseudomonas fluorescens* P60 Terhadap *Fusarium oxysporum* F.Sp. *lycopersici* Pada Tanaman Tomat *In Vivo*. J. HPT Tropika. 10(2):108-115.
- Starr, M.P. 1981. The Genus *Xanthomonas*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 62:742-763.
- Stepanus, B. 2014. Serapan Nitrogen Oleh 20 Varietas Jagung Manis Pada Sistem Pertanian Organik. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Sudadi, H. Widiyanto, dan L.H.E. Putri. 2011. Isolasi Mikroba Asli Tanah Andisol Dieng Dan Kajian Potensinya Sebagai Inokulan Pupuk Hayati Pelarut Fosfat. 10(2):81-90.
- Sudir, B. Nuryanto dan T.S. Kadir. 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Iptek tanaman pangan. 7(2):79-87.

- Sukarjo, E.I. 2004. Toleransi Beberapa Jenis *Curcuma* spp. Terhadap Intensitas Naungan. *J. Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 6(2):97-103.
- Supriyadi, S. 2008. Kandungan Bahan Organik Sebagai Dasar Pengelolaan Tanah di Lahan Kering Madura. *Embryo*. 5(2):176-183.
- Susilawati, Mustoyo, E. Budhisurya, R.C.W. Anggono, B.H. Simanjuntak. 2013. Analisis Kesuburan Tanah Dengan Indikator Mikroorganisme Tanah Pada Berbagai Sistem Penggunaan Lahan Di Plateau Dieng. *J. AGRIC*. 25 (1):64-72.
- Swings, J., M.V.D.L. Mooter., Vauterin, B. Hoste, M. Gillis, T.W. Mew And K. Kersters. 1990. Reclassification of the Causal Agents of Bacterial Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and Bacterial Leaf Streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of Rice as Pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *International Journal Of Systematic Bacteriology*. 40(3):309-311
- Syahri dan R.U. Somantri. 2015. Keragaan Pertumbuhan dan Hasil Padi pada Budidaya Ramah Lingkungan di Daerah Endemis Penyakit Kresek Kabupaten OKU Timur. *Proseding Seminar Nasional Lahan Suboptimal 2015*. Palembang 8-9 Oktober 2015. Hlm 1-8.
- Syekhfani, 2013. Padi. (online) <http://syekhfanismd.lecture.ub.ac.id/files/2013/03/PADI-PUSRI.pdf>. Diakses pada tanggal 15 Januari 2016.
- Van Loon, L. C. 2000. Systemic induced resistance dalam Susarenko, A., Fraser, R.S.S., Van Loon, L. C. editor. *Mechanisms of resistance to plant diseases*. Netherland:Kluwr academic publisher. 521-574.
- Volksch, B., and R. May. 2001. Biological Control Of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* By Epiphytic Bacteria Under Field Conditions. *J.Microbial ecology* (41):132-139.
- Wahyudi, A.T., S. Meliah dan A.A. Nawangsih. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun Pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, dan Telaah Mutagenesis dengan Transposon. *Makara, Sains*. 15(1):89-96.
- Widyati, E. 2008. Peranan Mikroba Tanah Pada Kegiatan Rehabilitasi Lahan Bekas Tambang (Roles of Soil Microbes in Ex-Mining Land Rehabilitation). *Info hutan*. 5(2):151-160.
- Zhang. H and S. Wang. 2013. Rice versus *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: a unique Pathosystem. *Plant Biology*. 16:188-195.

LAMPIRAN

Tabel lampiran 1. Tabel Analisis Sidik Ragam Uji Antagonis Bakteri Hasil Eksplorasi Terhadap *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	5	631,22	126,24	17,06**	
Galat	15	133,19	7,39		2,66
Total	23	764,4	33,24		

Tabel lampiran 2. Tabel Analisis Sidik Ragam Masa Inkubasi Penyakit.

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	0	0	0	
Perlakuan	6	5,43	0,90	4,07**	2,66
Galat	18	4	0,22		
Total	27	9,43			

Tabel lampiran 3. Tabel Analisis Sidik Ragam Intensitas Penyakit.

Minggu ke-4 dan ke-5

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	4,40	1,47	1	
Perlakuan	6	661,01	110,17	110,17**	2,66
Galat	18	26,40	1,47		
Total	27	691,81			

Tabel lampiran 4. Tabel Analisis Sidik Ragam Tinggi Tanaman Padi

Minggu ke-1

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	19,00	6,33	0,44	
Perlakuan	6	12,71	2,12	0,15	2,66
Galat	18	261,0	14,50		
Total	27	292,71			

Minggu ke-2

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	565,79	188,60	0,12	
Perlakuan	6	1812,37	302,06	0,20	2,66
Galat	18	27801,41	1544,52		
Total	27	30179,57			

Minggu ke-3

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	848,95	282,98	0,12	
Perlakuan	6	2724,13	454,02	0,19	2,66
Galat	18	42032,09	2335,12		
Total	27	45605,17			

Minggu ke-4

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	1126,94	375,65	0,12	
Perlakuan	6	3610,78	601,80	0,19	2,66
Galat	18	56233,67	3124,09		
Total	27	60971,40			

Minggu ke-5

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	1545,97	515,32	0,12	
Perlakuan	6	4958,83	826,47	0,19	2,66
Galat	18	76642,15	4257,90		
Total	27	83146,96			

Tabel lampiran 5. Tabel Analisis Sidik Ragam Berat Basah Tanaman Padi.

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	5,63	1,88	0,107	
Perlakuan	6	18,16	3,03	0,172	2,66
Galat	18	316,34	17,57		
Total	27	340,13			

Tabel lampiran 6. Tabel Analisis Sidik Ragam Berat Kering Tanaman Padi.

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	3	2,82	0,94	0,11	2,66
Perlakuan	6	9,06	1,51	0,17	
Galat	18	159,33	8,85		
Total	27	171,21			

Gambar lampiran 1. Dokumentasi pengambilan sampel

Titik pengambilan sampel 1



Titik pengambilan sampel Titik 2



Titik pengambilan sampel Titik 3



Gambar lampiran 2. Bentang lahan pengambilan sampel tanah

