

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
DAN BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)
TERHADAP *Blood Disease Bacterium***

Oleh:

HUSNA FIKRIYA BAROROH

105040201111084

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MALANG

2014

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
DAN BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)
TERHADAP *Blood Disease Bacterium***

Oleh:

HUSNA FIKRIYA BAROROH

105040201111084

SKRIPSI

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MALANG

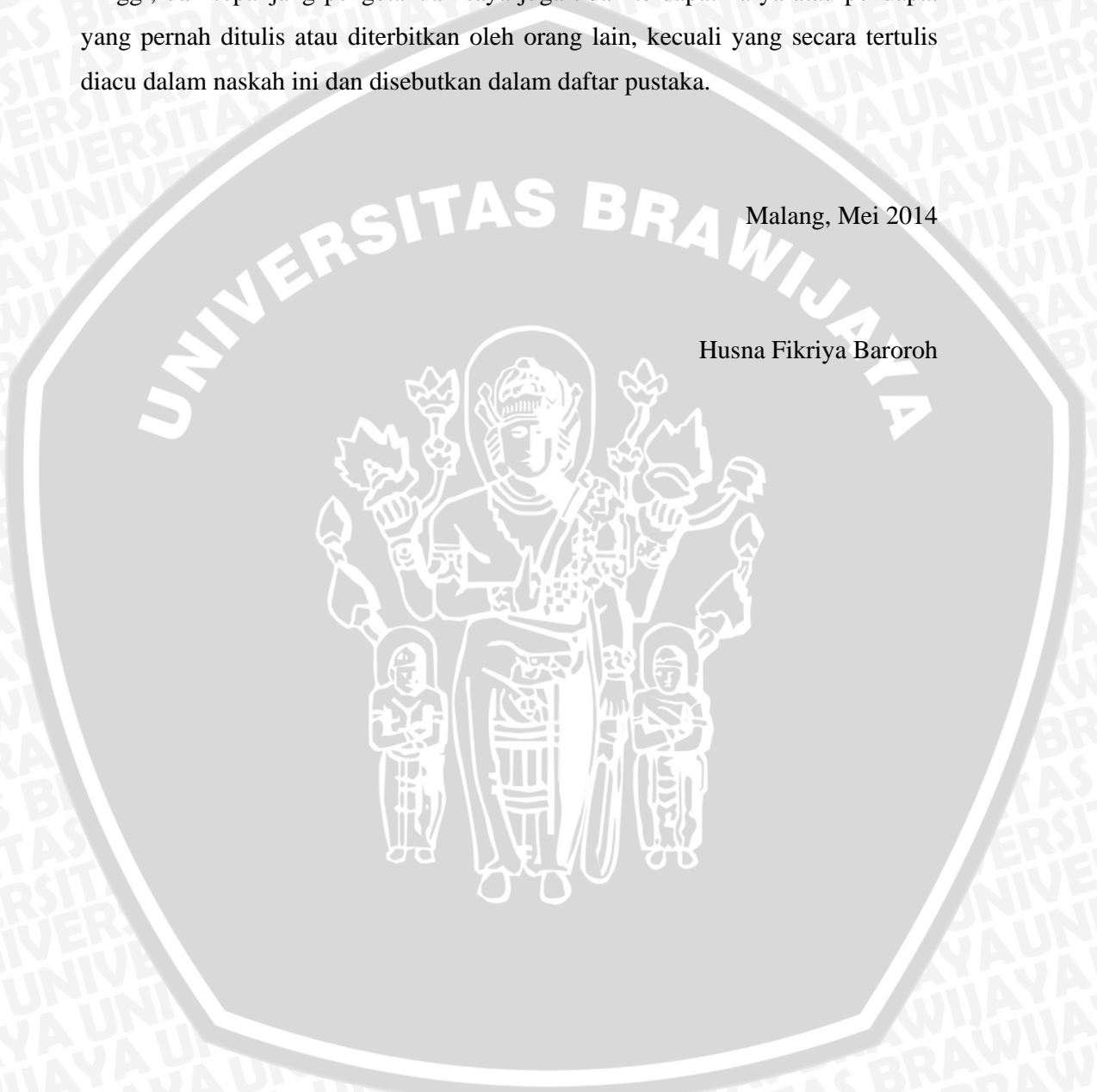
2014

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, Mei 2014

Husna Fikriya Baroroh



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu
(*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap *Blood Disease Bacterium*
Nama : Husna Fikriya Baroroh
NIM : 105040201111084
Program Studi : Agroekoteknologi
Minat : Hama dan Penyakit Tumbuhan
Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS
NIP. 19550821 198002 1 002

Mengetahui,
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
Ketua,

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU.
NIP. 19550403 198303 1 003

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU
NIP. 19550403 198303 1 003

Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS
NIP. 19590705 198601 1 003

Penguji III

Penguji IV

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

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS
NIP. 19550821 198002 1 002

Tanggal Lulus :



RINGKASAN

HUSNA FIKRIYA BAROROH. 105040201111084. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap *Blood Disease Bacterium*. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D dan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.

Penyakit darah yang disebabkan *Blood Disease Bacterium* (BDB) merupakan kendala serius dalam budidaya tanaman pisang di Indonesia karena dapat menyebabkan kehilangan hasil sebesar 20-100% dalam satu luasan lahan. Selama ini pengendalian dilakukan dengan perbaikan teknik budidaya dan penggunaan bahan kimia, namun tingkat keberhasilan masih belum maksimal. Pemanfaatan ekstrak tanaman mengkudu khususnya bagian daun dan buah yang mengandung senyawa antibakteri menjadi alternatif pengendalian BDB yang lebih ramah lingkungan.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Oktober 2013 sampai Februari 2014. Pelaksanaan penelitian meliputi isolasi dan identifikasi bakteri patogen, pembuatan ekstrak daun dan buah mengkudu, uji sensitivitas antibakteri, dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Uji sensitivitas antibakteri dilaksanakan dengan metode difusi agar. Penelitian dilaksanakan dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam macam perlakuan yaitu US1 (ekstrak buah 30%), US2 (ekstrak buah 60%), US3 (ekstrak buah 90%), US4 (ekstrak daun 30%), US5 (ekstrak daun 60%) dan US6 (ekstrak daun 90%). Kontrol terdiri dari aquades, alkohol 96% dan streptomisin. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 3 hari. Sedangkan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang menggunakan RAL dengan sepuluh perlakuan yaitu UP1 (kontrol BDB), UP2 (BDB dan aquades), UP3 (BDB dan streptomisin), UP4 (BDB dan alkohol 96%), UP5 (BDB dan ekstrak daun 30%), UP6 (BDB dan ekstrak daun 60%), UP7 (BDB dan ekstrak daun 90%), UP8 (BDB dan ekstrak buah 30%), UP9 (BDB dan ekstrak buah 60%), dan UP10 (BDB dan ekstrak buah 30%). Perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan pengamatan dilakukan pada hari ketiga setelah inokulasi.

Berdasarkan hasil penelitian, pada uji sensitivitas antibakteri diketahui kontrol aquades dan alkohol tidak mampu menghasilkan zona hambat sedangkan kontrol streptomisin mampu menghasilkan zona hambat pertumbuhan BDB. Perlakuan ekstrak daun dan buah mengkudu mampu menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan BDB. Ekstrak buah mengkudu memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dari ekstrak daun mengkudu, sehingga ekstrak buah mengkudu lebih efektif menghambat pertumbuhan BDB dibandingkan ekstrak daun mengkudu. Ekstrak buah konsentrasi 90% terbaik dalam menekan pertumbuhan BDB media NA.

Pada uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang diketahui ekstrak buah dengan konsentrasi 90% dan streptomisin mampu menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang, sedangkan perlakuan aquades, alkohol, ekstrak daun (konsentrasi 30%, 60% dan 90%) serta ekstrak buah (konsentrasi 30% dan 60%) tidak mampu menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Penggunaan

streptomisin lebih efektif dibandingkan ekstrak buah konsentrasi 90% dalam menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang.



SUMMARY

HUSNA FIKRIYA BAROROH. 105040201111084. Antibacterial Effectiveness of Leaves and Fruit Extract from Morinda's (*Morinda citrifolia* L.) to *Blood Disease Bacterium*. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D dan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.

Blood disease caused by Blood Disease Bacterium (BDB) has been reported caused loss of banana production by 20-100%. The control measure was commonly performed using cultivation technique and by the use of chemicals, but the effectivity were low. Utilization of leaves and fruit extract from Morinda which contains compounds act as antibacterial would be the alternative controlling for BDB and more environmental friendly.

The research was conducted at the Laboratory of Plant Pathology, Departement of Plant Pest and Disease, Faculty of Agriculture, Brawijaya University from October 2013 to February 2014. Implementation of these research included the isolation and identification of bacterial pathogen from banana fruit infected by blood disease, production of leaf and fruit extract of Morinda, assay for antibacterial sensitivity and assay for suppression of BDB on banana fruit. Antibacterial sensitivity assay was carried out by agar diffusion test. Antibacterial sensitivity test were conducted using complete randomized design with six treatments as follows: US1 (30% of fruit extract), US2 (60% of fruit extract), US3 (90% of fruit extract), US4 (30% of leaves extract), US5 (60% of leaves extract), and US6 (90% of leaves extract). Each treatment was repeated three times. The control included sterile distilled water, alcohol 96% and streptomycin. Suppression of BDB growth assay was conducted using complete randomized design with ten treatments as follows: UP1 (BDB or control), UP2 (BDB and sterile distilled water), UP3 (BDB and streptomycin), UP4 (BDB and alcohol 96%), UP5 (BDB and 30% of leaf extract), UP6 (BDB and 60% of leaf extract), UP7 (BDB and 30% of leaf extract), UP8 (BDB and 30% of fruit extract), UP9 (BDB and 60% of fruit extract), UP10 (BDB and 90% of fruit extract). Each treatment was repeated three times. Observations were done on third day after inoculation.

The results of the antibacterial sensitivity assay showed that sterile distilled water and alcohol were not able to produce clear zone, while streptomycin was capable of producing clear zone on the BDB lawn. Leaves and fruit extract of Morinda were capable to produce clear zone on BDB lawn. Fruit extract showed larger diameter of clear zones than leaves extract, indicating that the fruit extract was more effective to inhibit the growth of BDB compared to that of leaves extract. Fruit extract at the concentrations of 90% had the highest activity to suppress the growth of BDB on NA medium.

On suppression assay of BDB on banana fruit, 90% extract of Morinda fruit as well as streptomycin were able to suppress the growth of BDB, while sterile distilled water, alcohol, leaves extract (at the concentration of 30%, 60% and 90%), and fruit extracts (at the concentration of 30% and 60%) were unable to suppress the growth of BDB on banana fruit. Streptomycin showed more effective than 90% of morinda fruit extracts to suppress the growth of BDB on banana fruit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang dengan rahmat dan karunia-Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap *Blood Disease Bacterium*”.

Tujuan dari penulisan ini adalah untuk mengetahui aktivitas kandungan antibakteri pada tanaman mengkudu terhadap *Blood Disease Bacterium* serta untuk memenuhi tugas akhir dalam rangka menyelesaikan program sarjana strata satu (S1) Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang turut serta membantu penulis menyelesaikan proposal skripsi. Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D dan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS selaku dosen pembimbing yang telah memberikan waktu, saran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis.
2. Bapak, Ibu, Kakak, Adek dan Ical yang menjadi motivasi utama penulis untuk menyelesaikan studi secepat mungkin.
3. Bapak Catur Prabowo Widodo, A.Md.ST dan Mbak Istaniyah Huda, A.Md yang telah membantu dan mendampingi penulis dalam menyelesaikan penelitian.
4. Teman-teman BEM FP UB, HPT 2010, Bakterilovers'10, Kelas H Agro'10 dan semua pihak yang selalu memberikan semangat luarbiasa kepada penulis dalam melaksanakan dan menyelesaikan penelitian. Serta semua pihak yang telah membantu, memberi saran dan mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga hasil dari penulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkannya.

Malang, Mei 2014

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara, dilahirkan di Ponorogo pada tanggal 4 Februari 1992 dari pasangan Marwan dan Endang Dwi Setyowati.

Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-kanak Muslimat Sukosari pada tahun 1996-1998. Mulai memasuki jenjang pendidikan dasar di SDN II Sukosari pada tahun 1998-2004. Pendidikan menengah pertama dari tahun 2004-2007 di SMPN 1 Ponorogo. Dan pendidikan menengah atas pada tahun 2007-2010 di SMAN 1 Ponorogo. Pada tahun 2010 penulis memasuki jenjang universitas melalui jalur prestasi akademik di Universitas Brawijaya Program Studi Agroekoteknologi dengan minat Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.

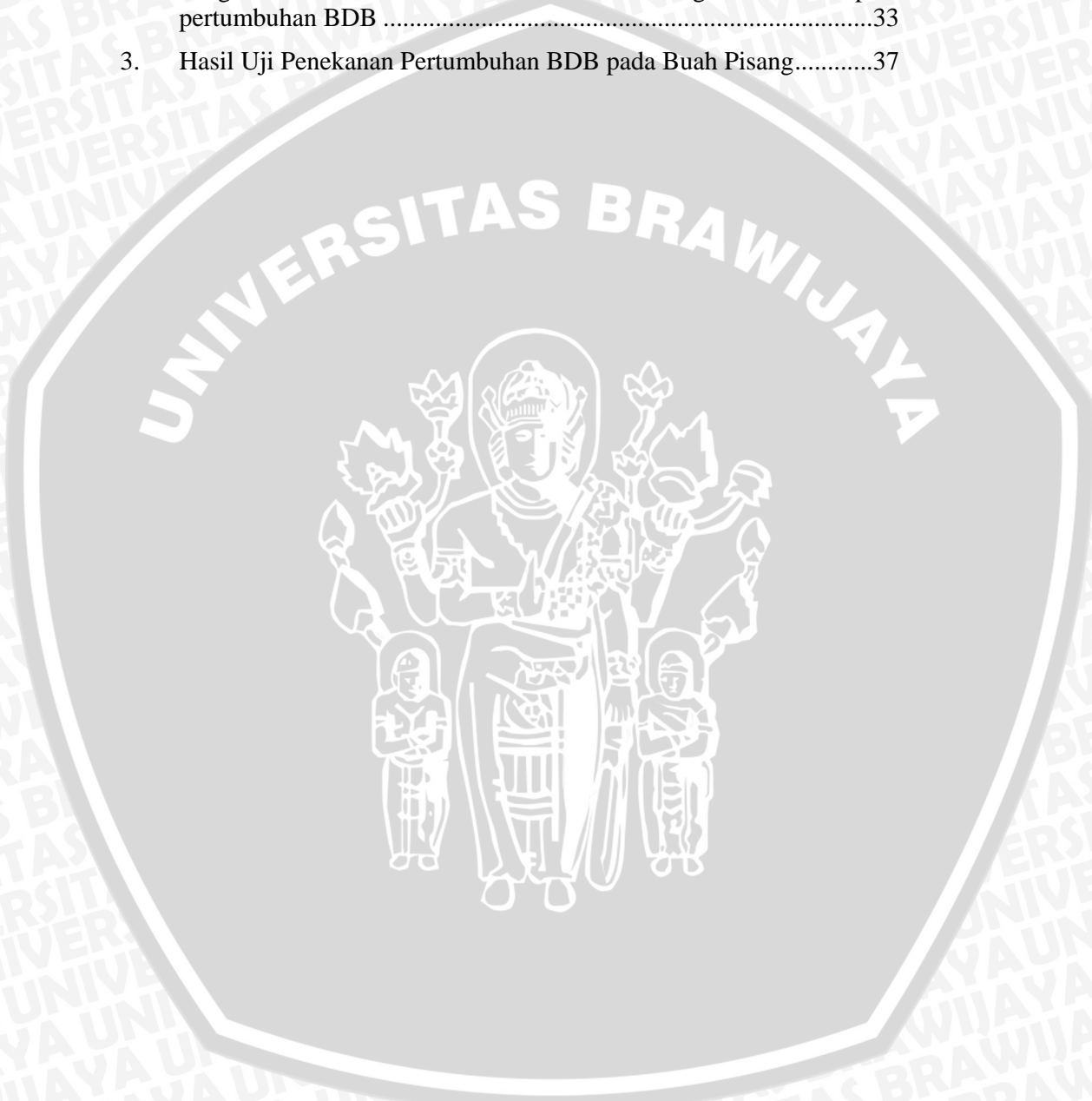
Selama menjadi mahasiswa penulis aktif menjadi asisten praktikum, kepanitiaan dan organisasi. Penulis pernah menjadi asisten Teknologi Produksi Benih, Teknologi Produksi Tanaman, Ilmu Penyakit Tanaman, Mikologi Pertanian dan Bakteriologi Pertanian. Kepanitiaan yang pernah diikuti penulis yaitu RANTAI 2011, Olimpiade Brawijaya 2011, Brawijaya's International Agriculture 2011, POSTER periode 2011 dan 2012, Agriculture Vaganza periode 2011-2013, EKSPEDISI 2013 dan PROTEKSI 2013. Dalam organisasi penulis pernah menjadi anggota Departemen Propaganda dan Aksi Solutif BEM FP UB 2011, menjabat sebagai Sekretaris Biro Kewirausahaan BEM FP UB 2012 dan menjabat sebagai Bendahara Umum BEM FP UB 2013.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	iv
RIWAYAT HIDUP	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Pisang	4
2.2 Penyakit Darah pada Tanaman Pisang	5
2.3 Tanaman Mengkudu	8
2.4 Antibakteri	10
2.5 Pengujian Sensitivitas Antibakteri	11
III. METODOLOGI	
3.1 Tempat dan Waktu	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Metode Penelitian	13
3.4 Pelaksanaan Penelitian	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi BDB dari Buah Pisang	23
4.2 Identifikasi Bakteri	26
4.3 Pengujian Sensitivitas Antibakteri	33
4.4 Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hasil Uji Fisiologi dan Biokimia BDB	32
2.	Penghambatan ekstrak daun dan buah mengkudu terhadap pertumbuhan BDB	33
3.	Hasil Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang.....	37



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Daun pisang layu dan mengering	6
2.	Buah pisang yang baru dipanen menunjukkan gejala BDB	7
3.	Tanaman Mengkudu	8
4.	Pengujian tingkat genus pada bakteri	16
5.	Tanaman pisang yang terserang BDB. Tanda panah berwarna merah menunjukkan bagian tanaman pisang yang layu dan mengering	23
6.	Buah pisang yang terserang BDB berwarna merah pada bagian tengahnya jika dibelah secara melintang.	24
7.	Koloni BDB berwarna merah pada media TZC	24
8.	Hasil uji patogenisitas pada buah pisang	25
9.	Uji patogenisitas pada tanaman jahe. (A) Tanaman yang telah diinokulasi BDB (B) Tanaman tanpa inokulasi BDB	26
10.	Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau, pada bagian yang ditunjuk dengan panah daun menunjukkan gejala nekrosis.	26
11.	Hasil uji KOH. Tanda panah menunjukkan terdapat lendir berwarna putih pada saat ose diangkat.	27
12.	Pada uji pewarnaan Gram koloni BDB yang diamati dengan mikroskop berwarna merah	27
13.	Hasil uji oksidatif fermentatif BDB. (A) Kontrol dengan <i>water agar</i> . (B) Kontrol tanpa <i>water agar</i> . (C) BDB dengan <i>water agar</i> . (D) BDB tanpa <i>water agar</i>	28
14.	Koloni BDB pada media King's B tidak mengeluarkan pigmen fluoresen di bawah sinar UV	29
15.	Koloni BDB berwarna putih pada media YDC	29
16.	Hasil uji pada media DIM agar. Panah menunjukkan koloni bakteri tidak tumbuh setelah 24 jam dan hanya ada koloni awal pada saat bakteri ditanam pada media	30
17.	Hasil uji pada media arginin. (A) Kontrol. (B) BDB	31
18.	Hasil uji perlakuan suhu 40°C. (A) Media NB yang diinokulasikan BDB dan diberi perlakuan suhu. (B) Media NB yang tidak diinokulasikan BDB dan diberi perlakuan suhu. (C) Media NB yang diinokulasikan BDB dan tidak diberi perlakuan suhu.	32

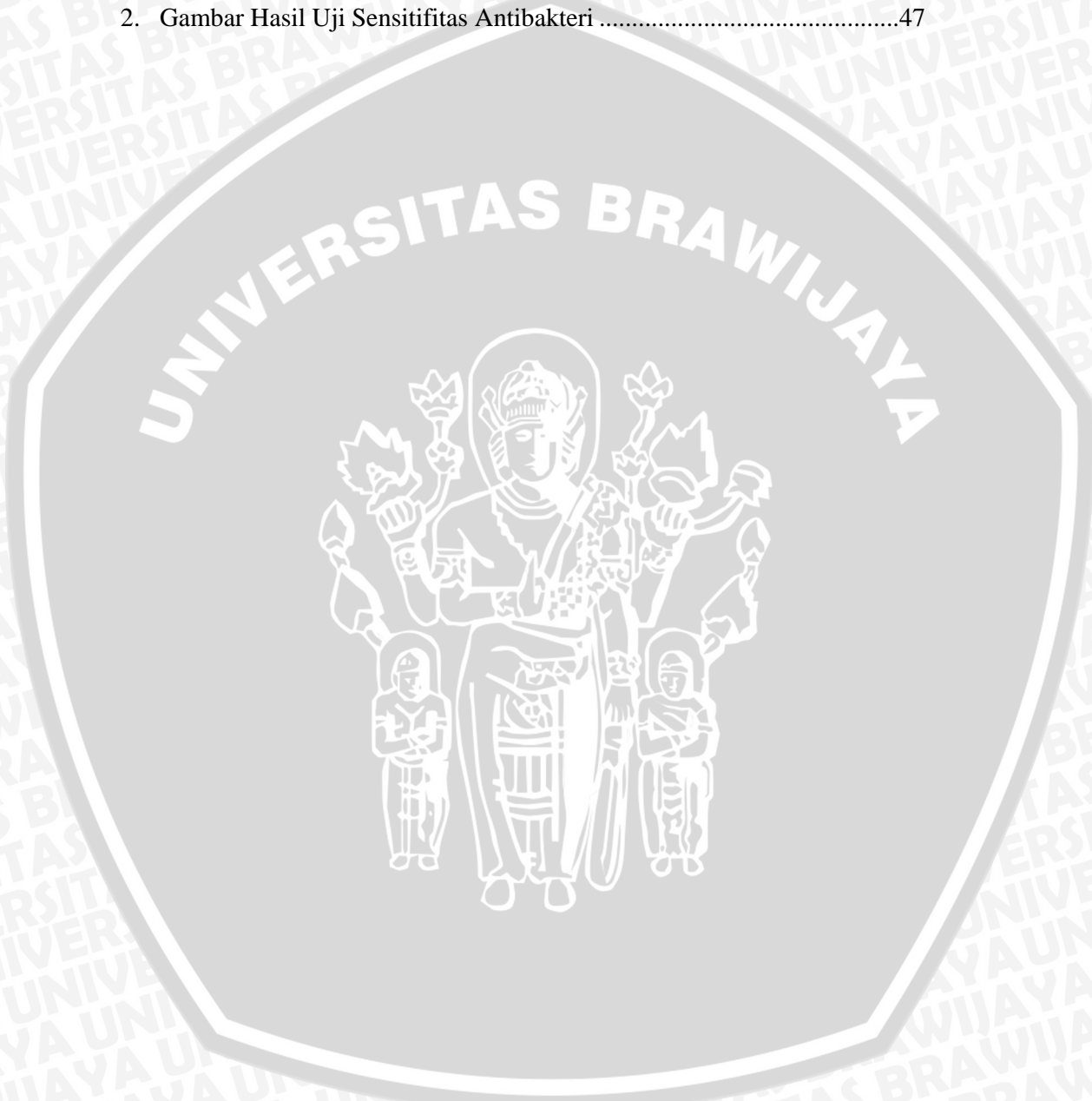
19. Perbandingan hasil uji sensitivitas antibakteri (pengamatan hari pertama).....36

20. Hasil uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang setelah tiga his. Tanda panah berwarna merah menunjukkan gejala BDB pada buah pisang.....39



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel Analisisn Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri dan Tabel Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang	46
2.	Gambar Hasil Uji Sensitifitas Antibakteri	47



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Budidaya tanaman pisang memiliki beberapa kendala serius karena adanya epidemi dari patogen. Salah satu patogen yang menyerang tanaman pisang adalah jenis bakteri yang dapat menyebabkan tanaman layu. Bakteri penyebab penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil produksi tanaman pisang 20-100%. Penyakit ini disebut sebagai penyakit darah yang disebabkan *Blood Disease Bacterium* (BDB). Penyakit tersebut menempati urutan pertama dalam daftar prioritas penyakit tanaman pisang di Indonesia dan bersifat mematikan dengan menginfeksi jaringan pembuluh secara sistemik. Gejala penyakit dijumpai pada semua stadia tumbuh dan menyerang seluruh bagian tanaman. Hal ini merupakan tantangan bagi pengembang pisang karena hampir semua jenis tanaman pisang yang dibudidayakan rentan terhadap BDB (Sulyo, 1992).

Pengendalian yang efektif dan efisien sangat dibutuhkan untuk mencapai produksi pisang yang optimal. Diantaranya yang telah dilakukan yaitu mencabut rumpun yang sakit, memilih bibit dari perdu yang sehat, pemeliharaan dan pemupukan dengan baik, pengelolaan irigasi dan aplikasi bahan kimia sintetis formalin 10% selama 10 menit pada parang tanaman (Semangun, 1989). Penggunaan bahan kimia sintetis tentu mampu membunuh patogen ini, tetapi mikroba bermanfaat yang lain juga terkena dampaknya, ditambah dengan adanya residu kimianya yang berbahaya bagi manusia. Pendekatan yang lebih ramah lingkungan dengan memanfaatkan buah khas Indonesia menjadi alternatif pengendalian yang menarik untuk dikembangkan lebih lanjut.

Mengkudu merupakan jenis tanaman yang buahnya dikonsumsi serta daunnya dimanfaatkan untuk pelengkap bumbu masakan, sementara akar dan kulit batangnya sebagai obat penawar gangguan perut selain itu akarnya juga dapat dimanfaatkan sebagai pewarna kain batik (soga) (Tajoedin dan Iswanto, 2002). Sejak lama diketahui bahwa tanaman mengkudu dapat digunakan sebagai antibakteri. Beberapa senyawa pada tanaman mengkudu yang bersifat antibakteri ialah antrakuinon, alkaloid (Rukmana, 2002) flavonoid, acubin dan alizarin (Bangun dan Sarwono, 2002). Penelitian mengenai pengendalian hayati bakteri patogen tanaman menggunakan tanaman mengkudu sampai saat ini di Indonesia

masih sedikit dilakukan, pada penelitian terdahulu ekstrak mengkudu pernah digunakan untuk penghambatan pertumbuhan bakteri *Ralstonia* sp. (Efri dan Aeny, 2004). Potensi yang dimiliki mengkudu sebagai antibakteri diharapkan dapat menjadi suatu kajian penelitian yang menarik jika diuji pada patogen tanaman khususnya BDB dalam bentuk ekstrak dari buah maupun dari daun mengkudu.

1.2 Rumusan Masalah

BDB merupakan salah satu bakteri penting yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman pisang. Adanya serangan dari bakteri tersebut menurunkan produktivitas tanaman pisang. Selama ini pengendalian yang dilakukan hanya mengarah pada teknik budidaya dan penggunaan bahan kimia, namun hasil yang diperoleh masih kurang maksimal. Sehingga diperlukan suatu cara pengendalian yang lebih aman, efektif dan efisien untuk melindungi tanaman yang terserang agar tidak terjadi kerugian akibat rusaknya bagian tanaman atau matinya seluruh bagian tanaman. Penggunaan antibakteri dari ekstrak tanaman menjadi alternatif dalam pengendalian yang lebih aman, efektif dan efisien. Tanaman mengkudu mengandung senyawa bersifat antibakteri yaitu antrakuinon, flavonoid, alkaloid, acubin dan alizarin yang mampu melawan mikroorganisme patogen. Setiap bagian tanaman mengkudu memiliki kandungan senyawa yang berbeda seperti pada akar, daun, buah, batang dan biji. Dari setiap senyawa yang terdapat pada bagian tanaman khususnya daun dan buah mengkudu diduga memiliki efektivitas yang berbeda sebagai antibakteri. Dengan demikian pengkajian tentang tanaman mengkudu perlu diteliti lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak mengkudu dalam menekan pertumbuhan BDB. Pentingnya pengujian dari bagian tanaman yang berbeda khususnya daun dan buah mengkudu untuk membandingkan efektivitas sifat antibakteri yang terkandung dalam masing-masing bagian tanaman dalam menekan pertumbuhan BDB.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah dan daun mengkudu dalam menekan pertumbuhan BDB.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu:

1. Ekstrak mengkudu mampu menekan pertumbuhan BDB
2. Terdapat perbedaan daya hambat antara ekstrak buah dan daun mengkudu dalam menekan pertumbuhan BDB.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi sifat antibakteri yang terdapat pada tanaman mengkudu digunakan untuk menekan pertumbuhan BDB penyebab penyakit darah pada tanaman pisang.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pisang

Pisang adalah tanaman buah yang berasal dari kawasan di Asia Tenggara. Para ahli botani memastikan daerah asal tanaman pisang adalah India, jazirah Malaya, dan Filipina. Penyebaran tanaman pisang dari daerah asal ke berbagai wilayah negara di dunia terjadi mulai tahun 1000 SM. Penyebaran pisang di wilayah timur antara lain melalui Samudera Pasifik dan Hawaii. Sedangkan penyebaran pisang di wilayah barat melalui Samudera Hindia, Afrika sampai pantai timur Amerika. Tanaman ini kemudian menyebar ke Madagaskar, Amerika Selatan dan Tengah. Di Indonesia pengembangan budidaya tanaman pisang pada awalnya terpusat di daerah Banyuwangi, Palembang, dan beberapa daerah di Jawa Barat. Di Jawa Barat, pisang disebut dengan Cau, di Jawa Tengah dan Jawa Timur dinamakan gedang (Prihatman, 2000).

Berdasarkan Tjitrosoepomo (2000) tanaman pisang diklasifikasikan sebagai divisi Spermatophyta, sub divisi Angiospermae, kelas Monocotyledonae, famili Musaceae, genus *Musa*, dan spesies *Musa paradisiaca* L. Pohon pisang berakar serabut yang tumbuh pada umbi batang. Tanaman pisang berbatang sejati berupa umbi batang yang berada di dalam tanah. Sementara bagian yang berdiri tegak menyerupai batang adalah batang semu yang terdiri dari atas pelepah-pelepah daun yang saling membungkus dan menutupi. Tinggi batang semu berkisar antara 3–8 meter. Helaian daun berbentuk lanset memanjang, dan mudah robek karena tidak mempunyai tulang daun pada bagian pinggirnya yang berfungsi menguatkan lembaran daun.

Bunga berkelamin satu, berumah satu dan tersusun dalam tandan. Pelindung bunga berukuran panjang 10–25 cm, berwarna merah tua, berlilin, dan mudah rontok. Bunga tersusun dalam dua baris yang melintang. Bakal buah berbentuk persegi, sedangkan bunga jantan tidak ada. Setelah bunga keluar, bunga membentuk sisir pertama, kedua dan seterusnya. Buah pisang tersusun dalam tandan. Setiap tandan terdiri atas beberapa sisir, setiap sisir terdiri dari 6-22 buah pisang atau tergantung varietasnya (Rukmana, 1999).

Buah pisang dapat berkembang tanpa pembuahan dan perkembangan biji. Peristiwa tersebut dikenal sebagai partenokarpi. Bakal bijinya cepat mengerut

sebelum terjadi pembuahan, bakal biji yang abortif ini masih dapat dijumpai dengan bintik-bintik kecil berwarna cokelat dalam buah matang. Pada perkembangannya dinding buah sering menebal, bahkan berdaging. Buah pisang dapat dibedakan menjadi beberapa lapisan, yaitu epicarp (bagian luar buah yang lebih keras), mesocarp (lapisan bagian tengah yang terdiri dari jaringan renggang, berdaging atau berserat dan merupakan bagian terlebar), endocarp yaitu lapisan paling dalam yang tipis berupa selaput dan plasenta (saluran makanan menuju biji) (Limbongan, 2011).

2.2 Penyakit Darah pada Tanaman Pisang

Penyakit darah pertama kali diketahui pada tahun 1920 menyerang pisang di kepulauan Selayar, Sulawesi Selatan. Selanjutnya penyakit ini menyebar ke berbagai daerah pertanaman pisang di Indonesia. Istilah penyakit darah diambil dari penampakan gejala tanaman sakit yang apabila batang atau bonggol pisang dipotong, maka akan keluar lendir berwarna kemerahan seperti darah (Semangun, 1994).

Pada penelitian sebelumnya penyebab penyakit darah adalah bakteri *Pseudomonas celebensis* (Semangun, 1994). Strain bakteri penyebab penyakit darah pada pisang mempunyai sifat-sifat fenotipik yang agak berbeda dengan *Ralstonia solanacearum* (Eden-Green dan Sastraatmadja, 1990), tetapi secara genotipik (berdasarkan urutan DNA) sangat mirip dengan *R. solanacearum* (Fegan dkk., 1996). Taksonomi yang tepat untuk menyatakan bakteri penyebab penyakit darah pada tanaman pisang sampai saat ini belum ada, sehingga bakteri ini hanya dikenal sebagai *blood disease bacterium* (BDB) (Fegan dan Prior, 2005).

Patogen penyakit darah dapat menyerang berbagai jenis pisang seperti pisang Ambon, pisang Nangka, dan pisang Mas, pisang Raja dan pisang Kepok (Eden-Green dan Sastraatmadja, 1990). Baharuddin (1994) menyatakan bahwa patogen ini mampu menimbulkan gejala penyakit pada *Heliconia collinsiana*, *H. revolata*, *Strelizia reginae*, *Canna indica*, *Solanum nigrum*, dan *Asclepias currasiva*, tetapi tidak mampu menimbulkan gejala pada beberapa tanaman yang merupakan inang utama bagi *R. solanacearum* seperti tomat, buncis, tembakau, cabai, kacang tanah, kentang dan terong.

BDB termasuk kelompok bakteri Gram negatif. Koloni BDB pada medium *tetrazolium chloride* (TZC) berukuran kecil, agak lengket, merah di tengah dan putih di bagian pinggirnya. Pada medium King's B, bakteri ini tidak mengeluarkan pigmen fluorescens dan menunjukkan reaksi hipersensitif pada tanaman tembakau (Baharuddin, 1994).

Gejala penyakit darah ditandai dengan terjadinya layu dan warna daun berubah menjadi kuning secara cepat, selanjutnya mengering dan mati. Pada tanaman berbuah, ibu tulang daun dan tangkai daun menjadi lemah dan tangkai daun patah mendekati batang semu. Daun muda menjadi kuning terang, kemudian nekrotik dan mengering. Infeksi BDB tidak selalu sistemik sehingga anakan yang sehat dari tanaman yang bergejala penyakit darah kadang-kadang dapat menghasilkan buah (Eden-Green dan Sastraatmadja, 1990).



Gambar 1. Daun pisang layu dan mengering (Anonim a, 2006).

Gejala penyakit darah juga dapat diketahui dengan memotong batang sejati tanaman pisang atau bagian dalam buah pisang yang terinfeksi. Pada bagian batang pisang serta buah pisang yang dipotong melintang akan mengeluarkan lendir berwarna merah kecoklatan yang mengandung massa bakteri dan busuk pada bagian tengahnya. Pada umumnya permukaan kulit buah pisang yang terinfeksi tidak memperlihatkan gejala dan ukuran buah normal (Eden-Green dan Sastratmadja, 1990).



Gambar 2. Buah pisang yang baru dipanen menunjukkan gejala BDB (Anonim a, 2006).

Serangga yang mengunjungi bunga pisang dapat berperan sebagai pembawa patogen yang terkontaminasi pada bagian luar jaringan tubuh serangga. Selanjutnya bakteri melakukan penetrasi pada bunga pisang. Serangga ordo Diptera famili Chloropidae, Platypezidae, dan Drosophilidae berpotensi sebagai vektor dan pembawa patogen karena BDB ditemukan di dalam jaringan tubuh serangga, sedangkan serangga lain dari ordo Diptera famili Tephritidae, Culicidae, Calliphoridae, Anthomyidae, dan Muscidae; ordo Lepidoptera famili Coleophoridae; ordo Hymenoptera famili Apidae; dan ordo Blattaria famili Blattidae ditemukan adanya kontaminasi BDB di luar jaringan tubuh serangga tersebut (Leiwakabessy, 1999).

Selain itu BDB dapat menginfeksi tanaman pisang melalui perakaran. Bakteri masuk dalam jaringan akar tanaman melalui lubang alami, luka buatan akibat alat pertanian, maupun luka akibat tusukan stilet nematoda (Rustam, 2007). Berdasarkan Subandiyah dkk. (2005) genus nematoda yang ditemukan pada pisang terinfeksi BDB seperti *Pratylenchus* sp., *Meloidogyne* sp., *Haplolaimus* sp. dan *Rhizopholus* sp.

Direktorat Perlindungan Hortikultura (2011) memberikan beberapa rekomendasi untuk mengendalikan penyakit darah pada tanaman pisang, yaitu eradikasi rumpun terserang dengan membongkar sampai ke akar-akarnya, injeksi herbisida untuk membunuh tanaman atau anakan yang terserang penyakit darah, memotong bunga jantan segera setelah sisir terakhir terbentuk untuk menghindari infeksi serangga penular dan membungkus bunga pisang yang sudah terbentuk. Teknik pengendalian ini belum efektif menekan penularan penyakit darah karena penerapannya sulit dilakukan dan biaya tambahan yang harus dikeluarkan oleh

petani. Strategi jangka panjang dilakukan dengan menghasilkan varietas pisang yang tidak berjantung sehingga mengurangi infeksi BDB melalui bunga. Selain itu pengembangan teknik pengendalian hayati terhadap penyakit darah yang telah diteliti. Berdasarkan Rustam (2005) penggunaan isolat *Bacillus* sp. BRA61 dan *Pseudomonas fluorescens* ES32 menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan BDB secara in vitro, tetapi tidak mampu menekan gejala penyakit darah pada kondisi di rumah kaca.

2.3 Tanaman Mengkudu

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang tersebar hampir di seluruh Indonesia. Tanaman mengkudu diklasifikasikan sebagai filum Angiospermae, subfilum Dicotyledonae, divisi Lignosae, famili Rubiaceae, genus *Morinda*, spesies *Morinda citrifolia* L. Beberapa spesies mengkudu yang ada di Indonesia adalah *M. citrifolia* L., *M. elliptica*, *M. bracteata*, *M. speciosa*, *M. lincitoria*, dan *M. oleifera*. Dari spesies-spesies tersebut diatas, yang telah umum dimanfaatkan yaitu *M. citrifolia* L. Spesies ini yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Djauhariya, 2003).



Gambar 3. Tanaman Mengkudu (Anonim b, 2012).

Mengkudu termasuk jenis tanaman yang rendah dan umumnya memiliki banyak cabang dengan ketinggian pohon sekitar 3-8 meter di atas permukaan tanah. Mengkudu dapat tumbuh di berbagai tipe lahan dan iklim pada ketinggian tempat dataran rendah sampai 1.500 m di atas permukaan laut dengan curah hujan 1500–3500 mm/tahun, pH tanah 5-7, suhu 22-30°C dan kelembaban 50-70% (Rukmana, 2002). Buah mengkudu memiliki bentuk bulat sampai lonjong,

panjang ± 10 cm, berwarna kehijauan tetapi menjelang masak menjadi putih kekuningan (Djauhariya, 2003). Daun mengkudu merupakan daun tunggal berwarna hijau, bersilang hadapan, ujung meruncing dan bertepi rata dengan ukuran panjang 10-40 cm dan lebar 15-17 cm. Bunga mengkudu berwarna putih, berbau harum dan mempunyai mahkota berbentuk terompel (Heyne, 1987).

Pada tahun 2012 produksi nasional buah mengkudu sebesar 8.967.750 kg/tahun (BPS, 2012). Berdasarkan Rukmana (2002) hampir seluruh bagian dari tanaman mengkudu dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Pada akar tanaman mengkudu mengandung zat *damnacanthal*, sterol, resin, morindon, antrakuinon dan glikosida.

Bunga tanaman mengkudu mengandung glikosida dan antrakuinon. Buah mengkudu mengandung alkaloid, skopoletin, antrakuinon, asam benzoat, asam oleat, asam palmitat dan glukosa (Rukmana, 2002), flavonoid, acubin, alizarin (Bangun dan Sarwono, 2002). Daun tanaman mengkudu mengandung zat kapur, protein, zat besi, karoten, asam askorbat (Rukmana, 2002), antrakuinon, alkaloid, saponin, flavonoid, terpenoid (Kameswari dkk., 2013), glikosida flavonol, iridoid dan triterpen (Rahmawati, 2009). Dari beberapa senyawa yang terkandung dalam mengkudu terdapat senyawa yang bersifat antibakteri. Senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri pada tanaman mengkudu yaitu alkaloid, acubin, alizarin flavanoid dan antrakuinon (Rukmana, 2002).

Senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Robinson, 1995). Senyawa antrakuinon efektif dalam menghambat bakteri gram negatif dengan menghambat sintesis DNA bakteri, sehingga tidak terjadi replikasi DNA bakteri dan bakteri tidak dapat terbentuk secara utuh (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Senyawa flavonoid menyebabkan kerusakan struktur protein yang terkandung di dalam dinding sitoplasma bakteri (Mojab dkk., 2008). Sedangkan acubin dan alizarin merupakan turunan dari senyawa fenol yang memiliki sifat antimikrobia. Kedua senyawa ini mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein pada bakteri sehingga dinding sel bakteri akan mengalami

kerusakan karena terjadinya penurunan permeabilitas yang memungkinkan terganggunya transport ion-ion organik penting yang akan masuk ke sel bakteri. Hal ini akan mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat dan sel akan mengalami kematian (Dwidjoseputro, 1994).

2.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan sifat dari suatu bahan yang menunjukkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 sifat yaitu aktivitas bakteriostatik dan aktivitas bakterisidal. Suatu bahan bersifat bakteriostatik jika mampu menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh bakteri sedangkan sifat bakterisidal jika mampu membunuh bakteri (Brooks dkk, 2005).

Mekanisme kerja antibakteri secara umum adalah merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas membran, mempengaruhi metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis protein, mengganggu sintesis asam nukleat dan mengganggu aktivitas enzim. Antibakteri yang merusak dinding sel contohnya penisilin, sefalosporin, dan vankomisin. Serta mengganggu permeabilitas sel, contohnya penisilin sefalosporin dan vankomisin. Sedangkan menghambat sintesis protein dan asam nukleat contohnya kloramfenikol, rifampisin, streptomisin dan tetrasiklin. Dan mengganggu aktivitas enzim contohnya [basitrasin](#), [sikloserin](#), dan [ampisilin](#) (Cowan, 1999).

Beberapa senyawa kimia yang terdapat pada tanaman juga berperan sebagai antibakteri seperti fenol, flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid. Mekanisme fenol sebagai antibakteri dengan merusak sitoplasma dan berkoagulasi dengan protein. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Volk dan Wheller, 1984). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah dapat

mengubah sifat fisik dan kimiawi sitoplasma yang mengandung protein dan mendenaturasi dinding sel bakteri, dengan cara berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen. Aktivitas ini akan mengganggu fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein (Pelzar dan Chan, 1998). Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Sifat antibakteri dapat berbeda satu dengan yang lainnya. Antibakteri termasuk ke dalam jenis spektrum luas bila menghambat atau membunuh bakteri gram negatif dan gram positif. Antibakteri termasuk ke dalam jenis spektrum sempit bila menghambat atau membunuh bakteri gram negatif atau gram positif saja (Jones, 2000). Efektivitas kerja antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, bahan organik, suhu, dan pH lingkungan (Cowan, 1999).

2.5 Pengujian Sensitivitas Antibakteri

Uji sensitivitas antibakteri merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibakteri. Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari suatu antibiotik dalam membunuh bakteri. Pada prinsipnya uji sensitivitas terhadap antibakteri adalah penentuan kepekaan bakteri penyebab penyakit yang kemungkinan menunjukkan resistensi terhadap suatu antibakteri atau kemampuan suatu antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang tumbuh *in vitro*, sehingga dapat dipilih sebagai antibakteri yang berpotensi untuk pengobatan. Uji sensitivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Hermawan dkk., 2007).

Berdasarkan Kusmayati dan Agustini (2007) metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang atau sumuran dan metode cakram kertas. Metode silinder dapat dilakukan dengan memasang silinder dari besi tahan karat atau porselen secara tegak lurus pada lapisan agar padat dalam

cawan petri atau lempeng. Sehingga mikroorganisme yang ditambahkan dihambat pertumbuhannya pada daerah berupa lingkaran atau zona di sekeliling silinder yang berisi larutan antibiotik.

Metode lubang atau sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Metode cakram kertas yaitu metode yang menggunakan cakram kertas yang telah diresapi antibiotik, desinfektan atau antiseptik diletakkan pada permukaan cawan yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap adanya zona penghambatan atau daerah jernih di sekeliling cakram kertas. Ini menunjukkan organisme itu dihambat pertumbuhannya oleh senyawa antibiotika, desinfektan atau antiseptik yang diresap dari cakram kertas ke dalam agar (Kusmayati dan Agustini, 2007).



III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Pelaksanaan Penelitian dimulai dari bulan Oktober 2013 hingga Februari 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, kompor listrik, gelas ukur, panci, *autoclave*, pisau, cawan petri, jarum ose, mikroskop kamera SZX7 series, bunsen, *beaker glass*, timbangan, tabung reaksi, pinset, pipet, jarum suntik, kertas saring, botol media, gelas ukur, jangka sorong, kamera, *micropipet*, gunting, gelas objek, *cover glass*, blender, *cork borer*, spektrofotometer, *ependorf*, oven, *shaker*, *rotary evaporator* dan *laminar air flow cabinet* (L AFC).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan buah mengkudu segar dengan berat masing-masing 5 kg, *Blood Disease Bacterium* (BDB), buah pisang kepok, tanaman tembakau, tanaman jahe, aquades steril, media nutrient agar (NA), media *tetrazolium clorida* (TZC), spirtus, media King's B, media basal (anaerob), media *yeast extract dextrose carbonat* (YDC), media DIM, media arginin, media nutrient broth, tissue steril, KOH 3%, *streptomycin*, dan alkohol 96%.

3.3 Metode Penelitian

Dalam penelitian ini dilakukan dua metode uji yaitu uji sensitivitas antibakteri dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Uji sensitivitas antibakteri menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam macam perlakuan yaitu US1 (ekstrak buah 30%), US2 (ekstrak buah 60%), US3 (ekstrak buah 90%), US4 (ekstrak daun 30%), US5 (ekstrak daun 60%), US6 (ekstrak daun 90%). Perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Kontrol terdiri dari K1 (aquades), K2 (alkohol) dan K3 (streptomisin).

Uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang menggunakan RAL dengan sepuluh macam perlakuan yaitu UP1 (kontrol BDB), UP2 (aquadest dan BDB), UP3 (streptomisin dan BDB), UP4 (alkohol dan BDB), UP5 (ekstrak daun

30% dan BDB), UP6 (ekstrak daun 60% dan BDB), UP7 (ekstrak daun 90% dan BDB), UP8 (ekstrak buah 30% dan BDB), UP9 (ekstrak buah 60% dan BDB), UP10 (ekstrak buah 90% dan BDB). Perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Pembuatan NA bertujuan untuk perbanyakan dan peremajaan bakteri di media padat. Agar 20 gram dilarutkan ke dalam 0,75 liter aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih, nutrient broth 8 gram yang telah dilarutkan dalam 0,25 liter aquades dicampur, kemudian dibagi ke dalam beberapa botol steril masing-masing berisi 100 ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut di sterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama 25 menit (Devi, 2013).

Pembuatan Media Tetrazolium Chloride (TZC)

Media TZC sebagai media selektif untuk bakteri BDB, yang mampu menghasilkan koloni berwarna merah. Agar 15 gram dilarutkan ke dalam 1 liter aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih, 0,5 gram kasein hidrolisat, 5 gram pepton dan 2,5 gram glukosa ditambahkan. Kemudian dibagi ke dalam beberapa botol steril masing-masing berisi 100 ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut di sterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama 25 menit. Sebelum dituang ke dalam petri dicampurkan 2,5% solution TZC ke dalam botol (Devi, 2013).

Isolasi Patogen

Metode isolasi patogen mengikuti Kerr (1980), sampel diambil dari buah pisang yang terserang penyakit darah dengan ciri-ciri sebagai berikut: busuk, berlendir dan berwarna coklat kemerahan pada bagian tengah daging buah. Sampel dicuci dan dipotong kurang lebih 2 x 1 cm dan direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit kemudian dicuci dengan aquades steril 10 ml sebanyak dua kali, kemudian ditiriskan menggunakan tissue steril. Potongan sampel selanjutnya diisolasi pada media NA.

Uji Patogenisitas

Berdasarkan Devi (2013) uji patogenisitas dapat dilakukan pada buah pisang dan tanaman jahe. Pengujian pada buah pisang dilakukan pada buah pisang kepek.

Inokulum BDB dibiakkan dalam NA selama 24 jam. Kemudian dari biakan dibuat suspensi dengan aquades steril. Suspensi bakteri diatur dengan spektrofotometer pada $OD_{660}=1$. Inokulasi dilakukan dengan menginjeksikan suspensi inokulum BDB 1 ml/buah pada bagian tengah buah pisang. Sebagai kontrol, buah pisang yang lain diinokulasikan dengan aquades. Selanjutnya diamati hingga muncul gejala. Patogen yang diamati harus menimbulkan ciri-ciri gejala yang sama dengan yang diamati sebelumnya.

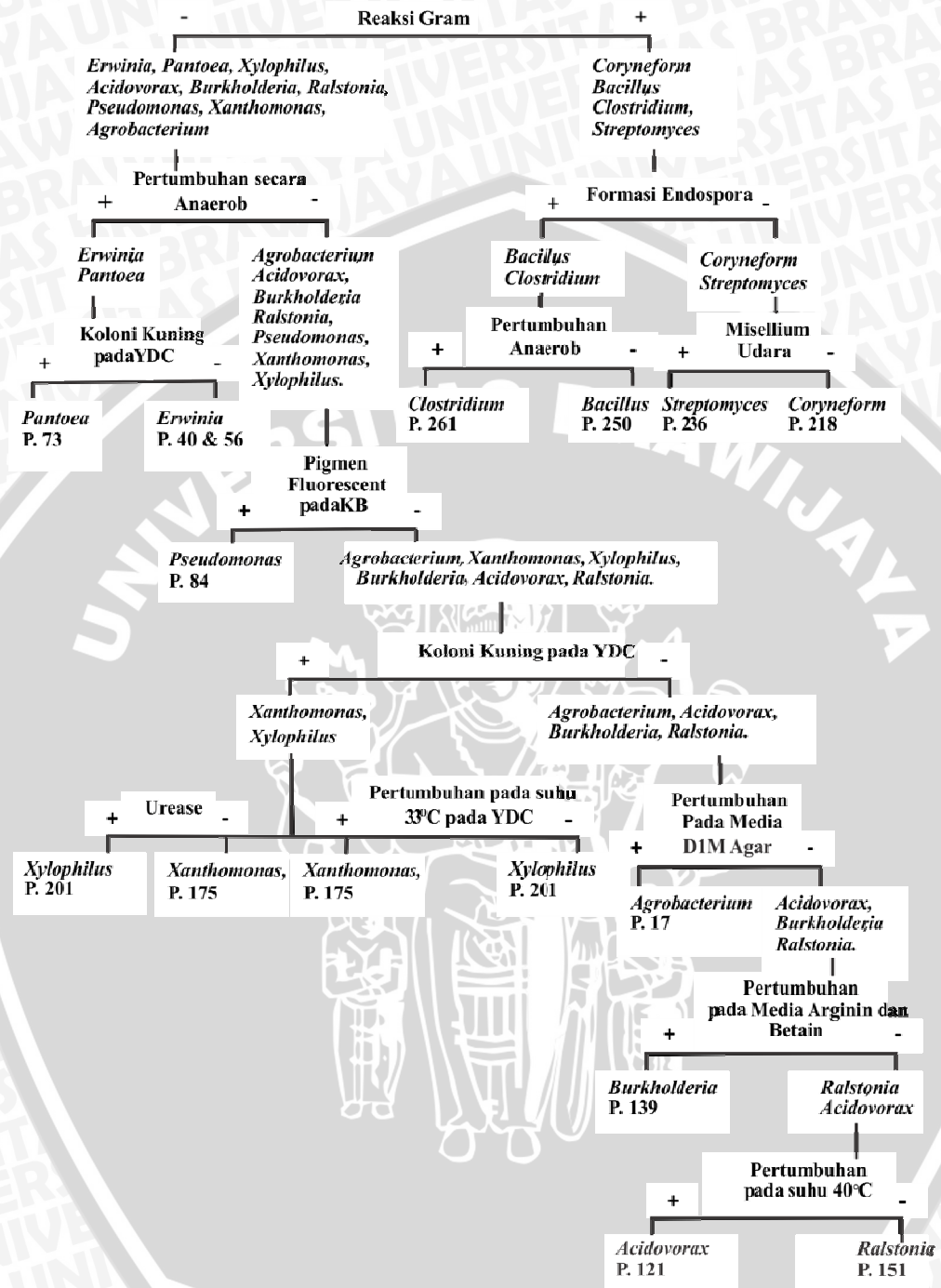
Uji patogenisitas pada tanaman jahe mengikuti Devi (2013) dengan metode pelukaan akar dan injeksi. Inokulasi dilakukan dengan menginjeksikan 25 ml/tanaman suspensi BDB kedalam rimpang jahe yang lain diinokulasikan dengan 25 ml aquades. Pengamatan dilakukan 20 hari setelah inokulasi (hsi). Jika hasil uji patogenisitas BDB pada tanaman jahe tidak menimbulkan gejala layu, maka bakteri yang diinokulasikan tersebut adalah BDB. Karena tanaman jahe bukan merupakan inang BDB melainkan inang alternatif dari *R. solanasearum* (Baharudin, 1994).

Uji Hipersensitif

Biakan murni bakteri berumur 24 jam disuspensikan menggunakan aquadest steril, kemudian 1 ml suspense BDB diinjeksikan pada daun tembakau melalui tulang daun sekunder. Reaksi positif jika daun tembakau menunjukkan reaksi gejala nekrosis disertai layu pada jaringan yang diinokulasikan suspensi bakteri, pengamatan dilakukan 24 hingga 96 jam (Lacy dan Lukezic, 2004).

Identifikasi Bakteri

BDB termasuk dalam genus *Ralstonia* spesies kompleks (Cook dkk., 1989). Untuk membuktikan bahwa BDB merupakan salah satu spesies dalam genus *Ralstonia* maka perlu dilakukan serangkaian uji untuk identifikasi. Berdasarkan Schaad dkk. (2001) pengujian genus *Ralstonia* dilakukan dengan cara isolat bakteri patogen yang telah dimurnikan diuji melalui serangkaian uji fisiologis dan biokimia (Gambar 4).



Gambar 4. Pengujian tingkat genus pada bakteri (Schaad dkk., 2001).

1. Reaksi Gram

Pengujian reaksi dengan KOH. Biakan murni bakteri berumur 24 jam disuspensikan diatas gelas objek yang sebelumnya telah ditetesi dengan KOH

3%. Bakteri gram negatif akan tampak lengket berlendir pada ose, sedangkan bakteri gram positif tidak lengket.

Pewarnaan gram. Bakteri berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquadest steril di atas gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan di atas lampu bunsen. Kemudian dilakukan pengecatan dengan kristal violet (5%) sebanyak 2-3 tetes selama 20 detik. Lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Setelah itu ditetesi dengan iodin sebanyak 1-2 tetes dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Selanjutnya ditetesi alkohol 70% dibiarkan hingga 20 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Proses terakhir ditetesi safranin (0,1%) dibiarkan selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir, dikeringanginkan dan diamati di bawah mikroskop. Sel bakteri gram negatif berwarna merah, sedangkan sel bakteri gram positif berwarna ungu.

2. Uji Oksidatif – Fermentatif (Anaerob)

Bakteri yang bersifat gram negatif diuji pertumbuhannya secara anaerob dengan menginokulasikan bakteri dalam media sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi dan dilapisi dengan *water agar*. Media terdiri atas : pepton 2 g; NaCl 5g; KH_2PO_4 0,3g; agar 3g; Bromothymolblue (1%) 3 ml. Bahan-bahan dilarutkan dalam akuades 1 L dan diatur pada pH 7,1. Media disterilisasi pada 121°C selama 20 menit. Setelah disterilisasi, setiap tabung ditambahkan larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml.

Pengujian dilakukan dengan menggunakan dua tabung reaksi, salah satu tabung ditutup dengan *water agar* steril sebanyak 2 ml, sedangkan tabung lain tanpa *water agar*. Pada tabung tanpa *water agar* reaksi positif terjadi jika warna media dari biru menjadi kuning hal tersebut menunjukkan bakteri dapat tumbuh secara aerob. Sedangkan pada tabung yang diberi parafin reaksi positif terjadi jika tidak adanya perubahan warna dari biru menjadi kuning hal tersebut menunjukkan bakteri tidak dapat tumbuh secara anaerob.

3. Pigmen Fluorescent pada Media King's B

Pengujian pigmen fluorescent bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri uji dalam memproduksi pigmen fluorescent. Pengujian pigmen fluorescent dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji pada media King's B dan

diinkubasi selama 24 jam. Media King's B terdiri dari proteose pepton 20 g; K_2HPO_4 1,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1,5 g; gliserol 15 ml dan agar 15 g. Selanjutnya bahan dicampur dan dilarutkan dengan akuades 1 L. Media disterilisasi pada $121^\circ C$ selama 25 menit. Bakteri uji hasil inkubasi selama 24-48 jam kemudian diamati dibawah sinar UV apakah berpendar atau tidak. Jika bakteri tersebut berpendar hijau kekuningan berarti bakteri tersebut mengeluarkan pigmen fluorescent, dan jika bakteri tersebut tidak berpendar hijau kekuningan maka bakteri tersebut tidak mengeluarkan pigmen fluorescent. Reaksi positif terjadi jika bakteri uji tidak mengeluarkan pigmen fluorescent.

4. Pertumbuhan pada Media YDC

Pengujian pertumbuhan pada media YDC bertujuan untuk melihat koloni bakteri uji yang tumbuh pada media YDC untuk membedakan bakteri uji dari genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas* dengan. Media YDC terdiri dari yeast ekstrak 10 g; glukosa 20g; $CaCO_3$ 20 g dan agar 15 g. Selanjutnya bahan dicampur dan dilarutkan dengan akuades 1 L. Media disterilisasi pada $121^\circ C$ selama 25 menit. Bakteri uji ditumbuhkan pada media YDC kemudian inkubasikan pada suhu $30^\circ C$ selama 24-48 jam. Amati warna koloni yang tumbuh, apakah berwarna kuning atau tidak. Reaksi positif jika bakteri yang ditumbuhkan tidak berwarna kuning.

5. Pertumbuhan pada DIM Agar

DIM merupakan media semiselektif untuk pertumbuhan bakteri *Agrobacterium* sp. Pengujian pada media DIM agar bertujuan untuk membedakan bakteri genus *Ralstonia* dengan genus *Agrobacterium*. Media DIM agar terdiri dari *cellobiose* 5g, NH_4Cl 1 g, NaH_2PO_4 1 g, K_2HPO_4 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3 g, *malachite green* 10 mg dan agar 15 g. Selanjutnya bahan dicampur dan dilarutkan dengan akuades 1 L. Media disesuaikan pada pH 7. Media disterilisasi pada $121^\circ C$ selama 25 menit. Bakteri patogen ditumbuhkan dalam medium DIM agar kemudian inkubasikan pada suhu $30^\circ C$ selama 24-48 jam. Koloni diamati apakah dapat tumbuh pada media tersebut. Reaksi positif terjadi jika bakteri yang ditumbuhkan tidak mampu tumbuh pada media DIM agar.

6. Pengujian pada Media Arginin

Pengujian pada media arginin bertujuan untuk membedakan bakteri genus *Ralstonia* dengan genus *Burkholderia*. Pembuatan media arginin mengikuti Lelliot dan Steade (1987), pepton 1 g; NaCl 5 g; K₂HPO₄ 0,3 g; *phenol red* 0,01 g; L-arginine HCl 10 g dan agar 3 g dicampur dalam 1 L aquades. Media disesuaikan pada pH 7. Selanjutnya 3 ml media dimasukkan kedalam tabung reaksi. Media disterilisasi pada 121°C selama 15 menit. Pengujian dilakukan dengan memasukkan inokulum bakteri pada tabung reaksi yang masing-masing telah berisi media arginin dengan cara menusukkannya hingga kedalaman 0,5 cm, kemudian ditutup dengan menggunakan parafin steril. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari orange menjadi merah muda yang menunjukkan bakteri uji merupakan genus *Burkholderia*. Sedangkan untuk genus *Ralstonia* warna media akan tetap berwarna orange.

7. Pertumbuhan pada Suhu 40°C

Bakteri ditumbuhkan dalam media nutrient broth (NB) sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 40°C. Pertumbuhan dicatat pada 24 jam. Reaksi positif terjadi jika bakteri uji tidak mampu tumbuh pada perlakuan suhu 40°C.

Ekstraksi Mengkudu

Buah dan daun mengkudu segar dicuci, kemudian masing-masing ditimbang dengan berat 5 kg buah dan 5 kg daun. Buah dan daun mengkudu segar masing-masing dipotong kecil-kecil. Potongan selanjutnya dikeringkan dengan cara dioven selama 24 jam. Sehingga diperoleh daun dan buah yang telah kering. Potongan buah yang sudah kering, berbentuk kepingan, dipisahkan antara daging buah dengan bijinya. Daging buah dan daun yang sudah kering selanjutnya dibuat serbuk (*simplisia*) dengan cara dihancurkan dengan blender. *Simplisia* dimaserasi dengan merendam ke dalam pelarut etanol 96% sampai terendam seluruhnya dan dikocok menggunakan *shaker* selama ± 24 jam, kemudian disaring dengan kertas penyaring. Ekstrak atau filtrat hasil maserasi ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 80°C, sampai pelarut habis

menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental buah dan daun mengkudu (Dewi, 2010).

Selanjutnya dilakukan 3 perlakuan konsentrasi pada masing-masing ekstrak. Konsentrasi larutan dibuat dengan cara dilakukan penambahan pelarut (aquades steril) sebanyak 700 μl untuk 300 μl ekstrak, 400 μl untuk 600 μl ekstrak dan 100 μl untuk 900 μl ekstrak. Sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 30%, 60% dan 90% ekstrak daun dan buah mengkudu.

Pengujian Sensitivitas Antibakteri

Metode yang digunakan untuk pengujian sensitivitas antibakteri adalah metode difusi agar dengan lubang sumuran. Media yang digunakan adalah media NA dan dicairkan dengan cara dididihkan. Selanjutnya jika suhu media sudah menurun, 20 ml media NA dicampur dengan 100 μl suspensi bakteri yang telah diatur dengan spektrofotometer pada $\text{OD}_{660}=1$, kemudian dituang ke dalam petri. Setelah media memadat maka dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *cork borer* yang memiliki diameter 0,5 cm.

Dalam pengujian sensitivitas antibakteri digunakan 6 perlakuan ekstrak dengan konsentrasi berbeda, yaitu ekstrak buah 30%, ekstrak buah 60%, ekstrak buah 90%, ekstrak daun 30%, ekstrak daun 60%, ekstrak daun 90%. Pada pengujian sensitivitas antibakteri diberi 3 kontrol, yaitu aquades (H_2O), alkohol 96% ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) dan streptomisin ($\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{N}_7\text{O}_{12}$). Kontrol aquades bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh aquades pada zona hambat pertumbuhan BDB. Pemberian kontrol alkohol 96% bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan BDB. Sedangkan kontrol streptomisin bertujuan untuk membandingkan kemampuan aktivitas antibakteri sintetik dengan antibakteri dari tanaman mengkudu dalam menghambat BDB. Masing-masing kontrol dan ekstrak mengkudu dengan konsentrasi berbeda dimasukkan kedalam lubang sumuran. Selanjutnya ditunggu hingga 24 jam untuk diamati.

Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak tanaman mengkudu dalam menghambat pertumbuhan BDB secara langsung pada buah pisang. Uji penekanan pertumbuhan BDB dilakukan dengan cara menginjektikan

ekstrak dengan berbagai konsentrasi sebanyak 1000 μ l ke dalam buah pisang dan didiamkan selama satu jam agar meresap pada buah pisang. Kemudian suspensi BDB sebanyak BDB 500 μ l yang telah diatur dengan spektrofotometer pada $OD_{660}=1$ diinjeksikan ke dalam buah pisang yang telah diberi perlakuan ekstrak. Selanjutnya ditunggu hingga 3 hsi untuk diamati.

Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan yang dilakukan terdiri dari data kuantitatif dan kualitatif. Pada uji sensitivitas antibakteri pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari dihitung 24 jam setelah inokulasi patogen yang disertai inokulasi antibakteri. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali selama 3 hari. Penilaian kemampuan ekstrak mengkudu dalam menghambat pertumbuhan BDB dengan mengukur zona bening atau zona hambat disekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong secara vertikal dan horizontal. Selanjutnya dirata-rata dalam millimeter sehingga diperoleh data kuantitatif zona hambat ekstrak mengkudu terhadap pertumbuhan BDB (Pratiwi, 2005). Foto hasil pengamatan zona hambat merupakan data kualitatif yang diperoleh dari uji sensitivitas antibakteri.

Pengamatan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dilakukan terhadap daya hambat yang dihasilkan ekstrak mengkudu dengan konsentrasi berbeda dalam menekan kerusakan jaringan pada buah pisang. Buah pisang dipotong melintang, kemudian kerusakan jaringan diukur panjangnya menggunakan jangka sorong. Variabel yang diamati adalah panjang gejala kerusakan pada plasenta buah pisang. Dari perhitungan panjang plasenta buah pisang terserang BDB maka diperoleh variabel kuantitatif. Berdasarkan Devi (2013) untuk mendapatkan proporsi kerusakan plasenta buah digunakan rumus:

$$P=A/B \times 100\%$$

Keterangan: P = Proporsi panjang gejala kerusakan plasenta buah (%)
A = Panjang gejala plasenta buah yang rusak (cm)
B = Panjang plasenta buah (cm)

Foto hasil pengamatan merupakan variabel kualitatif untuk menunjukkan tingkat penekanan pertumbuhan BDB oleh ekstrak tanaman yang diberikan. Pengambilan gambar dilakukan pada hari ke tiga setelah inokulasi.

Analisis Data

Pada uji sensitivitas antibakteri dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang, data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam F pada taraf kesalahan 5%. Jika terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi BDB dari Buah Pisang

Buah pisang yang diduga bergejala BDB diambil dari kebun pisang di Desa Sukosari, Kecamatan Babadan, Kabupaten Ponorogo. Buah diambil dari tanaman pisang yang menunjukkan gejala layu hingga seluruh bagian daun mengering (Gambar 5). Berdasarkan Eden-Green dan Sastraatmadja (1990) gejala penyakit darah pada tanaman pisang biasanya ditunjukkan oleh pelepah daun melemah kemudian patah pada bagian pangkalnya sehingga daun terlihat menggantung. Warna daun menjadi kuning kemudian nekrosis dan kering.



Gambar 5. Tanaman pisang yang terserang BDB. Tanda panah berwarna merah menunjukkan bagian tanaman pisang yang layu dan mengering.

Untuk melihat gejala lebih lanjut buah terserang dipotong secara melintang. Pada buah terserang menunjukkan gejala penyakit BDB yaitu terlihat adanya warna merah kecoklatan pada daging buah dan terdapatnya lendir berwarna merah disepanjang plasenta pisang yang merupakan ciri khas dari penyakit BDB (Gambar 6). Ciri-ciri tersebut sesuai dengan Semangun (1989) bahwa buah bergejala BDB yang dipotong bagian dalam buahnya kelihatan berwarna merah kecoklatan atau menjadi busuk berlendir.



Gambar 6. Buah pisang yang terserang BDB berwarna merah pada bagian tengahnya jika dibelah secara melintang.

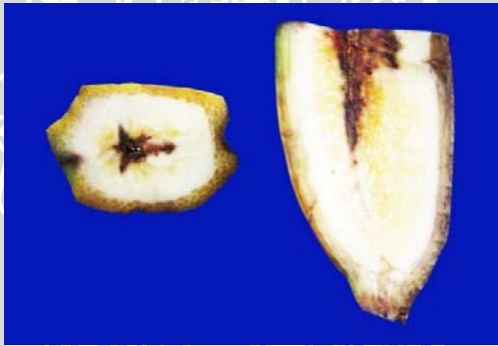
Bakteri diisolasi dari buah pisang yang diduga terserang BDB dan ditumbuhkan pada media TZC pada suhu ruang. Pada TZC mula-mula koloni tumbuh berwarna putih bening tipis dan pada hari keempat setelah ditumbuhkan, koloni berwarna merah dan pada bagian pinggir berwarna putih bening. Karakter lain yang ditemukan pada TZC yaitu permukaan koloni cembung, berbentuk bulat, berukuran 1-5 mm. Selain itu koloni BDB cenderung lengket (mucoid) pada media sehingga sedikit sulit jika diambil menggunakan jarum ose (Gambar 7). Karakter tersebut sesuai dengan Supriadi (1997) yaitu BDB mempunyai bentuk koloni bulat (berukuran 2-5 mm) setelah 4 hari pada suhu 28°C, pinggiran koloninya jelas dan bening, dengan bagian tengahnya sedikit keruh. Ciri lainnya adalah koloninya cenderung lengket pada permukaan media sehingga agak sulit kalau diambil dengan jarum ose. Sifat ini tidak dijumpai pada bakteri *Ralstonia solanacearum* dan *Pseudomonas syzygii*.



Gambar 7. Koloni BDB berwarna merah pada media TZC

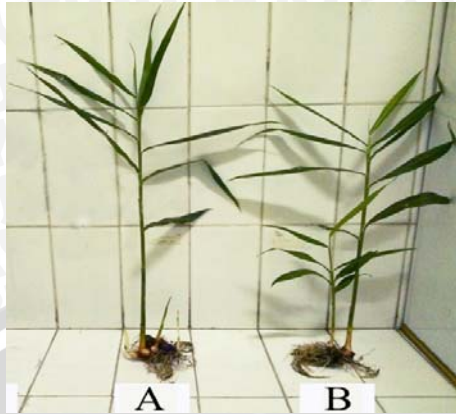
Uji Patogenisitas

Hasil uji patogenisitas yang dilakukan pada buah pisang memiliki gejala yang sama dengan buah pisang yang telah diisolasi sebelumnya dan diduga bergejala BDB. Setelah tujuh hari setelah inokulasi (hsi), pengamatan dilakukan dengan membelah buah pisang secara vertikal dan horizontal. Buah yang dibelah menunjukkan gejala terjadi perubahan warna menjadi cokelat kemerahan dan terdapat lendir berwarna merah, serta bakteri menyebar searah dengan panjang plasenta buah pisang (Gambar 8). Hal tersebut sesuai dengan yang dilaporkan peneliti sebelumnya Devi (2013) bahwa hasil uji patogenisitas BDB pada buah pisang menunjukkan gejala perubahan warna kuning hingga kecoklatan serta menimbulkan warna merah pada daging buah. Selain itu gejala yang khas dari patogen ini yaitu BDB hanya mampu melakukan infeksi dan menyebar pada bagian plasenta buah. Hal tersebut membedakan gejala yang ditimbulkan oleh BDB dengan gejala yang ditimbulkan oleh patogen lain seperti *R. solanacearum*.



Gambar 8. Hasil uji patogenisitas pada buah pisang. Tanda panah berwarna merah menunjukkan gejala BDB pada plasenta buah pisang.

Hasil uji patogenisitas pada tanaman jahe tidak menunjukkan infeksi oleh BDB setelah 20 hsi. Tanaman masih terlihat sehat baik daun batang maupun rimpang tanpa adanya gejala layu pada tanaman. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman jahe bukan merupakan inang dari BDB. Pada pengujian ini sesuai dengan Baharudin (1994) bahwa BDB tidak mampu menyerang tanaman jahe yang merupakan inang alternatif dari bakteri *R. solanacearum*.



Gambar 9. Uji patogenesis pada tanaman jahe. (A) Tanaman yang telah diinokulasi BDB (B) Tanaman tanpa inokulasi BDB.

Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan pada tanaman tembakau dan diamati selama 7 hsi. Hasil uji hipersensitif pada tembakau menunjukkan adanya reaksi tanaman tembakau terhadap BDB dengan ditandai adanya gejala nekrosis daun pada pengamatan 2 hsi dan disertai gejala layu pada seluruh bagian tanaman pada pengamatan 7 hsi. Berdasarkan Lelliott dan Stead (1987), bakteri yang bersifat patogen pada tanaman dapat menginduksi respon hipersensitif jika diinjeksikan ke dalam jaringan tanaman inang yang tidak rentan dalam waktu 24-72 jam setelah inokulasi.



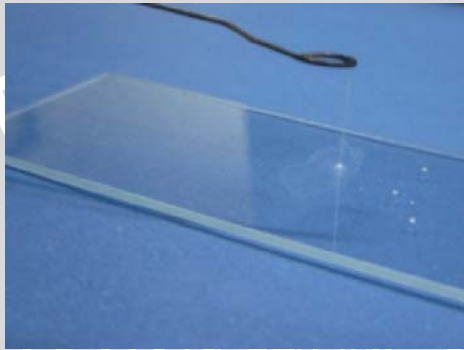
Gambar 10. Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau, pada bagian yang ditunjuk dengan panah daun menunjukkan gejala nekrosis.

4.2 Identifikasi Bakteri

Untuk membuktikan patogen yang diduga BDB termasuk salah satu spesies dalam genus *Ralstonia* maka proses identifikasi dilakukan mengikuti Schaad dkk. (2001). Berikut hasil identifikasi melalui serangkaian uji biokimia dan fisiologis yaitu:

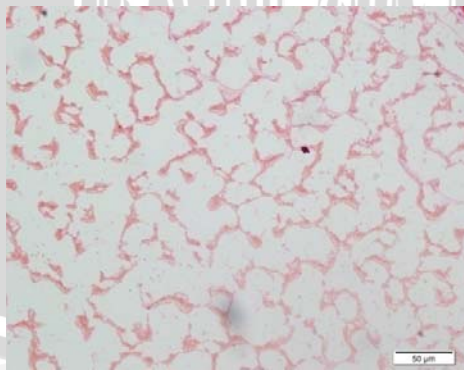
1. Reaksi Gram

Pengujian Gram dilakukan dengan pengujian reaksi menggunakan KOH dan pewarnaan Gram. Hasil uji KOH menunjukkan setelah BDB dicampur dengan larutan KOH 3% terdapat lendir berwarna putih pada saat suspensi BDB diangkat dengan jarum ose sehingga dapat diketahui bahwa BDB merupakan bakteri Gram negatif. Hal tersebut sesuai dengan Schaad dkk. (2001) bahwa pada pengujian KOH bakteri Gram negatif menjadi berlendir jika ose diangkat, sedangkan bakteri Gram positif tidak berlendir.



Gambar 11. Hasil uji KOH. Tanda panah menunjukkan terdapat lendir berwarna putih pada saat ose diangkat.

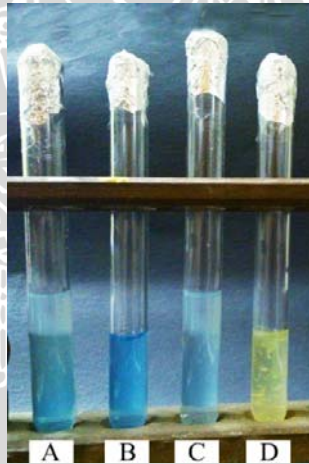
Pada uji pewarnaan Gram, setelah diamati dengan mikroskop koloni BDB berwarna merah. Berdasarkan Schaad dkk. (2001) hasil uji Gram dengan teknik pewarnaan untuk bakteri Gram positif berwarna ungu sampai biru kehitaman, sedangkan Gram negatif berwarna merah. Sehingga dapat diketahui bahwa BDB termasuk dalam golongan bakteri Gram negatif.



Gambar 12. Pada uji pewarnaan Gram koloni BDB yang diamati dengan mikroskop berwarna merah

2. Uji Oksidatif Fermentatif (Anaerob)

Pada uji oksidatif fermentatif, BDB ditumbuhkan pada media yang dilapisi *water agar* (sedikit oksigen) dan tidak dilapisi *water agar* (kaya oksigen). Pengujian oksidatif fermentatif bertujuan untuk melihat kemampuan tumbuh dalam kondisi kaya oksigen dan sedikit oksigen. Hasil uji oksidatif fermentatif setelah 7 his, pada media yang tidak dilapisi *water agar* terjadi perubahan warna Pmedia yang semula biru menjadi kuning, sedangkan pada media yang dilapisi *water agar* warna media tetap biru. Menurut Schaad dkk. (2001) pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan warna media dari warna biru menjadi kuning pada tabung yang tidak dilapisi *water agar* tetapi tidak terjadi perubahan warna pada tabung yang dilapisi *water agar*, hal tersebut menunjukkan metabolisme oksidatif dari glukosa atau bakteri dapat tumbuh secara aerob. Sedangkan jika terjadi perubahan warna media menjadi kuning pada kedua tabung, menunjukkan adanya metabolisme oksidatif fermentatif atau bakteri dapat tumbuh secara aerob maupun anaerob. Dari hasil uji oksidatif fermentatif diketahui bahwa BDB mampu tumbuh secara aerob dan tidak mampu tumbuh pada kondisi anaerob.

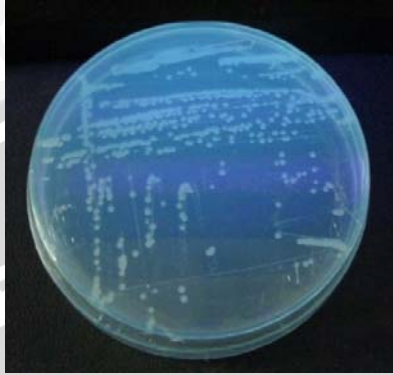


Gambar 13. Hasil uji oksidatif fermentatif BDB. (A) Kontrol dengan *water agar*. (B) Kontrol tanpa *water agar*. (C) BDB dengan *water agar*. (D) BDB tanpa *water agar*.

3. Pigmen Fluorescent pada Media King's B

Pengujian pigmen fluorescent bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri uji dalam memproduksi pigmen fluorescent. BDB yang ditumbuhkan pada media King's B dan inkubasi selama 24 jam, setelah diamati di bawah sinar UV terlihat tidak berpendar hijau kekuningan. Hal tersebut menunjukkan BDB tidak

mengeluarkan pigmen fluorescent. Berdasarkan Schaad dkk. (2001) adanya pigmen fluorescent setelah bakteri ditumbuhkan pada medium King's B menunjukkan bahwa bakteri termasuk golongan *Pseudomonas fluorescens*. Sehingga dapat diketahui bahwa BDB tidak termasuk dalam genus *Pseudomonas*.



Gambar 14. Koloni BDB pada media King's B tidak mengeluarkan pigmen fluorescent di bawah sinar UV.

4. Pertumbuhan pada Media YDC

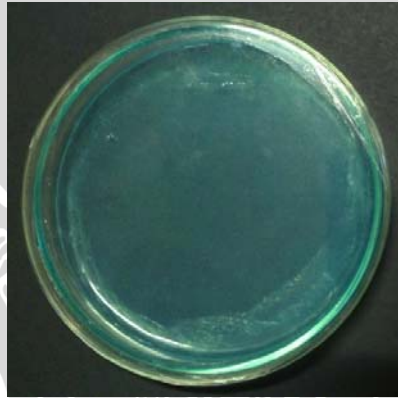
Pengujian pertumbuhan pada media YDC bertujuan untuk membedakan bakteri uji dari genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas* dengan melihat koloni bakteri yang tumbuh pada media YDC. Hasil pengujian pertumbuhan pada media YDC menunjukkan koloni BDB yang diinkubasi selama 24-48 jam berwarna putih. Berdasarkan Schaad dkk. (2001) untuk genus *Ralstonia*, *Agrobacterium*, *Acidovorax* dan *Burkholderia* koloni bakteri tidak berwarna kuning pada media YDC. Sedangkan untuk genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas* pada media YDC akan menghasilkan koloni bakteri dengan warna kuning. Sehingga dapat diketahui bahwa BDB bukan termasuk dalam genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas*.



Gambar 15. Koloni BDB berwarna putih pada media YDC

5. Pertumbuhan pada DIM Agar

Pengujian pada media DIM agar bertujuan untuk membedakan genus *Agrobacterium* dari genus *Acidovorax*, *Burkholderia*, dan *Ralstonia*. Bakteri uji yang diinkubasi pada media DIM agar selama 48 jam tidak menunjukkan adanya pertumbuhan pada media, hanya terlihat goresan awal pada saat *streak* bakteri pada media. Menurut Schaad dkk. (2001) bakteri yang dapat tumbuh pada media ini menunjukkan hasil positif, yaitu jenis bakteri dari genus *Agrobacterium*. sedangkan bakteri genus *Acidovorax*, *Burkholderia*, dan *Ralstonia* tidak mampu tumbuh pada media DIM agar. Sehingga dapat diketahui bahwa BDB tidak termasuk dalam genus *Agrobacterium*.



Gambar 16. Hasil uji pada media DIM agar. Panah menunjukkan koloni bakteri tidak tumbuh setelah 24 jam dan hanya ada koloni awal pada saat bakteri ditanam pada media.

6. Pengujian pada Media Arginin

Pengujian pada media arginin dilakukan untuk dapat mengetahui pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Pengujian ini bertujuan untuk membedakan genus *Burkholderia* dari genus *Acidovorax* dan genus *Ralstonia*. Hasil dari pengujian pada media arginin menunjukkan bahwa pada kondisi media yang dilapisi *water agar* tidak terjadi perubahan warna media, media tetap berwarna *orange* setelah 7 hsi. Berdasarkan Lelliot dan Steade (1987) reaksi positif pengujian pada media arginin apabila terjadi perubahan warna media menjadi merah muda. Menurut Schaad dkk. (2001) bakteri dari genus *Burkholderia* mampu menunjukkan reaksi positif sedangkan bakteri dari genus *Acidovorax* dan *Ralstonia* menunjukkan reaksi negatif jika diuji pada media arginin. Dengan demikian pengujian tersebut menunjukkan

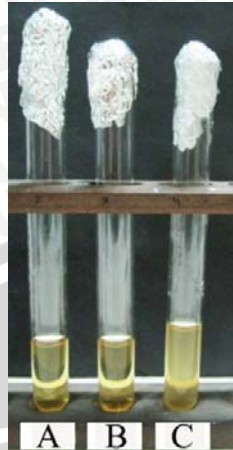
bahwa BDB tidak dapat tumbuh pada kondisi anaerob. Sehingga dapat diketahui bahwa BDB tidak termasuk dalam genus *Burkholderia*.



Gambar 17. Hasil uji pada media arginin. (A) Kontrol. (B) BDB.

7. Pertumbuhan pada Suhu 40°C

Pengujian pertumbuhan pada suhu 40°C dilakukan untuk membedakan genus *Ralstonia* dengan genus *Acidovorax*. Pada perlakuan suhu 40°C dan diinkubasi selama 24 jam BDB tidak mampu tumbuh pada media. Menurut Nasrun dkk. (2007) bakteri genus *Ralstonia* mampu tumbuh dan berkembang pada suhu 13-37°C, dan tidak dapat tumbuh pada suhu 41°C. Untuk memastikan bahwa BDB tidak mampu tumbuh pada suhu 40°C maka diberikan kontrol dan perbandingan. Kontrol merupakan media NB steril yang tidak diinokulasikan BDB dan diberi perlakuan suhu 40°C, sedangkan perbandingan yang digunakan adalah BDB yang diinokulasikan pada media NB namun diinkubasi pada suhu ruang 26°C. Berdasarkan Schaad dkk. (2001) genus *Acidovorax* mampu memberikan reaksi positif yaitu mampu tumbuh jika diberi perlakuan suhu 40°C, sedangkan untuk genus *Ralstonia* tidak mampu tumbuh pada perlakuan suhu 40°C. Sehingga dapat diketahui bahwa BDB tidak termasuk dalam genus *Acidovorax* dan merupakan salah satu spesies dalam genus *Ralstonia*.



Gambar 18. Hasil uji perlakuan suhu 40°C. (A) Media NB yang diinokulasikan BDB dan diberi perlakuan suhu. (B) Media NB yang tidak diinokulasikan BDB dan diberi perlakuan suhu. (C) Media NB yang diinokulasikan BDB dan tidak diberi perlakuan suhu.

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri BDB disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fisiologi dan Biokimia BDB

Uji Fisiologi dan Biokimia	Reaksi	Reaksi (Schaad dkk., 2001)
Uji KOH 3%	+	+
Uji pengecatan gram	+	+
Uji oksidatif-fermentatif	-	-
Pigmen Fluoresen pada Media King's B	-	-
Pertumbuhan pada media YDC	-	-
Pertumbuhan pada D1M Agar	-	-
Pengujian pada Media Arginin	-	-
Pertumbuhan pada Suhu 40°C	-	-

Hasil identifikasi dari serangkaian uji fisiologi dan biokimia terhadap BDB sesuai yang telah dilaporkan Schaad dkk. (2001) bahwa karakter genus *Ralstonia* bereaksi positif pada uji KOH 3%, pewarnaan gram, serta bereaksi negatif pada media standar seperti pada uji oksidatif-fermentatif, uji pigmen fluoresen pada media King's B, uji pertumbuhan pada media YDC, pertumbuhan pada D1M agar, pengujian pada media arginin, dan pertumbuhan pada suhu 40°C. Sehingga hasil identifikasi tersebut dapat dijadikan dasar bahwa BDB yang diisolasi dari buah pisang yang bergejala busuk coklat kemerahan termasuk salah satu spesies dalam genus *Ralstonia*.

4.3 Pengujian Sensitivitas Antibakteri

Pada pengujian sensitivitas antibakteri parameter yang diamati adalah diameter zona bening disekitar lubang sumuran. Zona bening merupakan bentuk penghambatan (zona hambat) yang dihasilkan oleh ekstrak mengkudu. Zona hambat merupakan reaksi aktivitas antibakteri dari ekstrak mengkudu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil uji sensitivitas antibakteri terhadap BDB diperoleh zona hambat yang berbeda baik dari ekstrak daun dan buah mengkudu serta ketiga kontrol yaitu aquades, alkohol dan streptomisin. Hasil uji sensitivitas disajikan dalam Tabel 2. Tabel 2 memberikan gambaran tingkat penghambatan pertumbuhan BDB oleh ekstrak daun dan buah mengkudu yang diuji pada media NA dan diamati selama tiga hari.

Tabel 2. Penghambatan ekstrak daun dan buah mengkudu terhadap pertumbuhan BDB

Perlakuan	Rerata zona hambat ekstrak terhadap BDB pada pengamatan hingga hari ketiga (mm)		
	1	2	3
Kontrol aquades	0.00 a	0.00 a	0.00 a
Kontrol alkohol	2.10 ab	0.00 a	0.00 a
Kontrol streptomisin	28.43 f	24.40 d	23.30 d
Ekstrak buah 30%	11.70 cd	10.57 bc	9.87 bc
Ekstrak buah 60%	17.73 de	13.17 bc	12.40 bc
Ekstrak buah 90%	22.10 ef	16.93 c	15.40 c
Ekstrak buah 30%	9.17 bc	7.97 b	7.17 b
Ekstrak buah 60%	9.83 bcd	8.37 b	7.40 b
Ekstrak buah 90%	11.53 cd	9.93 bc	8.87 bc

Keterangan:

Angka disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan.

Analisis menggunakan uji Duncan taraf kesalahan 0,05 menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan dalam menghambat pertumbuhan BDB selama tiga hari pengamatan (Tabel 2). Penelitian menunjukkan terjadinya perbedaan yang signifikan antara perlakuan ekstrak daun dan buah mengkudu jika dibandingkan dengan kontrol aquades, alkohol dan streptomisin. Pada kontrol aquades tidak terdapat zona hambat disekeliling lubang sumuran, sehingga dapat diketahui pemberian aquades tidak berpengaruh terhadap penghambatan BDB.

Pada kontrol alkohol zona hambat yang terbentuk tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol aquades. Hal tersebut menunjukkan bahwa alkohol tidak berpengaruh nyata pada penekanan pertumbuhan BDB, sehingga pelarut yang digunakan untuk pembuatan ekstrak tidak berpengaruh sebagai antibakteri terhadap BDB. Pada kontrol streptomisin terdapat adanya zona hambat pertumbuhan terhadap BDB. Penggunaan kontrol streptomisin mampu menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 28.43 mm pada 1 hsi, zona hambat tersebut paling besar jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal tersebut karena streptomisin merupakan antibakteri sintetik yang mampu menekan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Volk dan Wheeler (1993) streptomisin merupakan zat yang bersifat antibakteri dengan cara menghambat sintesis protein pada bakteri.

Perlakuan ekstrak daun 30% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 9.17 mm pada 1 hsi. Zona hambat yang dihasilkan berbeda nyata dengan kontrol aquades, sehingga diketahui ekstrak daun 30% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Perlakuan ekstrak daun 60% menghasilkan zona hambat sebesar 9.83 mm pada 1 hsi, zona hambat tersebut tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak daun 30%. Pada perlakuan ekstrak daun 90% menghasilkan zona hambat sebesar 11.53 mm pada 1 hsi. Zona hambat tersebut tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak daun 60% namun berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak daun 30%. Dapat diketahui penggunaan ekstrak daun 90% dapat menekan pertumbuhan BDB lebih baik jika dibandingkan ekstrak daun 30% dan 60%.

Perlakuan ekstrak buah 30% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 11.70 mm pada pengamatan 1 hsi. Zona hambat yang terbentuk berbeda nyata terhadap kontrol aquades sehingga diketahui penggunaan ekstrak buah 30% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Pada perlakuan ekstrak buah 60% menghasilkan zona hambat sebesar 17.73 mm pada 1 hsi. Zona hambat yang terbentuk berbeda nyata dengan kontrol aquades maupun perlakuan ekstrak buah 30% sehingga kemampuan ekstrak buah 60% lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan BDB. Sedangkan pada perlakuan ekstrak buah 90% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 22.10 mm pada pengamatan 1 hsi. Zona hambat yang dihasilkan

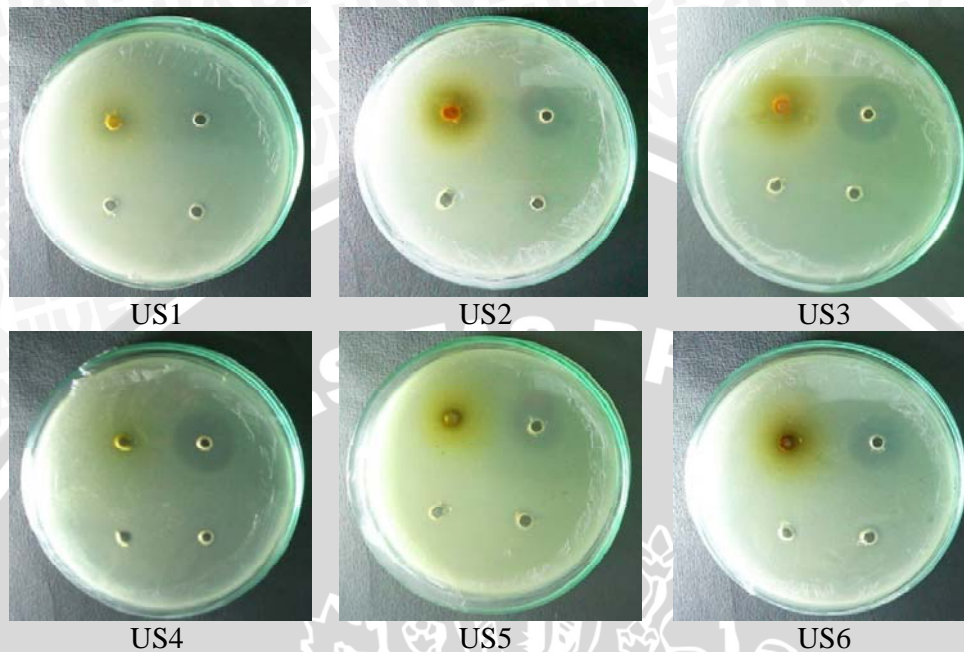
lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak buah 30% dan 60%, sehingga penggunaan ekstrak buah 90% lebih baik dalam menekan pertumbuhan BDB. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka zona hambat yang terbentuk semakin lebar. Sesuai dengan hasil penelitian Ajizah (2004) bahwa semakin pekat konsentrasi suatu ekstrak maka senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya akan semakin banyak sehingga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

Pada 1 hsi perlakuan ekstrak daun 90% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 11.53 mm sedangkan perlakuan ekstrak buah 90% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 22.10 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak buah mengkudu lebih efektif untuk menekan pertumbuhan BDB jika dibandingkan ekstrak daun mengkudu. Berdasarkan Rukmana (2002) buah mengkudu mengandung zat yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu senyawa antrakuinon dan alkaloid. Senyawa lain yang bersifat antibakteri pada buah mengkudu adalah flavonoid, alizarin dan acubin (Bangun dan Sarwono, 2002). Sedangkan pada daun mengkudu mengandung alkaloid, antrakuinon dan flavonoid (Kameswari, 2013). Zat antibakteri ini diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti BDB.

Selama tiga hari pengamatan masing-masing perlakuan mampu menghasilkan zona hambat yang berbeda nyata. Diameter zona hambat paling tinggi pada pengamatan pada hari pertama dan mengalami penurunan setelah pengamatan pada hari kedua dan ketiga. Berdasarkan Dani dkk. (2010) lebar zona hambat dari ekstrak tanaman semakin lama semakin mengalami penurunan, hal ini menunjukkan efektifitas zat antibakteri yang terkandung juga semakin menurun.

Dari hasil uji sensitivitas antibakteri dapat diketahui bahwa ekstrak buah dan ekstrak daun mengkudu pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan mampu menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Kemampuan ekstrak daun dan buah mengkudu semakin mengalami penurunan selama tiga hari pengamatan. Ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 90% lebih efektif jika dibandingkan perlakuan ekstrak yang lainnya. Penggunaan kontrol streptomisin

paling efektif dalam menekan pertumbuhan BDB jika dibandingkan seluruh perlakuan. Berikut hasil dokumentasi uji sensitivitas antibakteri (Gambar 19).



Gambar 19. Perbandingan hasil uji sensitivitas antibakteri (pengamatan hari pertama).

Keterangan:

US1: ekstrak buah 30%, US2: ekstrak buah 60%, US3: ekstrak buah 90%, US4: ekstrak daun 30%, US5: ekstrak daun 60%, US6: ekstrak daun 90%, A: ekstrak daun/buah mengkudu, B: aquades, C: alkohol, D: streptomisin.

4.3 Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Uji penekanan pertumbuhan BDB pada pisang dilakukan untuk melihat efektivitas ekstrak daun dan buah mengkudu jika diaplikasikan secara langsung pada tanaman inang dalam menghambat pertumbuhan BDB. Pengamatan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dilakukan setelah 3 hsi dengan mengukur tingkat kerusakan pada plasenta buah serta melihat gejala kerusakan disekitar plasenta buah. Hasil pengamatan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang tersaji dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Perlakuan	Rerata presentase panjang plasenta buah yang terserang BDB
Kontrol (BDB)	50.91 c
Aquades	52.48 c
Streptomisin	0 a
Alkohol 96%	41.05 c
Ekstrak daun konsentrasi 30%	51.63 c
Ekstrak daun konsentrasi 60%	49.36 c
Ekstrak daun konsentrasi 90%	48.12 c
Ekstrak buah konsentrasi 30%	43.08 c
Ekstrak daun konsentrasi 60%	40.79 c
Ekstrak daun konsentrasi 90%	18.13 b

Keterangan:

Angka disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan.

Analisis menggunakan uji Duncan taraf kesalahan 0,05 menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada perlakuan streptomisin dan perlakuan konsentrasi ekstrak buah 90% dibandingkan perlakuan yang lainnya dalam penghambatan pertumbuhan BDB. Pada kontrol tingkat kerusakan plasenta buah pisang memiliki presentase yang tinggi yaitu sebesar 50,91%. Gejala yang ditimbulkan adanya perubahan warna coklat kemerahan mengikuti panjang plasenta pisang. Berdasarkan Eden-Green dan Sastratmadja (1990) buah pisang yang dipotong melintang akan mengeluarkan lendir berwarna merah kecoklatan yang mengandung massa bakteri dan busuk pada bagian tengahnya.

Pada perlakuan pemberian aquades yang disertai inokulasi BDB memiliki tingkat kerusakan plasenta yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, dengan gejala terjadinya perubahan warna menjadi coklat kemerahan disekitar plasenta pisang.

Perlakuan streptomisin memiliki tingkat kerusakan plasenta buah yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Pada perlakuan streptomisin gejala yang muncul yaitu adanya warna coklat pudar pada tepi plasenta buah, sedangkan pada plasenta buah masih berwarna putih tanpa ada perubahan warna. Hal tersebut menunjukkan BDB tidak mampu tumbuh dengan baik pada buah pisang yang diberi perlakuan streptomisin. Berdasarkan Flanagan (2004) streptomisin bersifat bakterisida untuk organisme yang peka dengan cara penghambatan sintesis protein.

Pada perlakuan alkohol tingkat kerusakan plasenta buah tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Gejala yang muncul adalah pada buah pisang nampak putih pada bagian tengah namun terjadi perubahan warna merah kecoklatan di tepi plasenta pisang, sehingga perlakuan alkohol tidak berpengaruh pada penekanan pertumbuhan BDB.

Perlakuan ekstrak daun mengkudu pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% menghasilkan tingkat kerusakan plasenta pisang yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Dengan demikian perlakuan ekstrak daun dengan tiga konsentrasi berbeda tidak mampu menghambat pertumbuhan BDB pada buah pisang. Pada buah pisang yang dibelah terlihat perubahan warna coklat kehijauan dibagian tengah plasenta pisang, perubahan warna tersebut diduga sebagai persebaran dari ekstrak daun mengkudu. Selain itu terjadi perubahan warna coklat kemerahan pada tepi plasenta pisang yang diduga persebaran BDB. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun mengkudu tidak berpengaruh terhadap penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang.

Pada perlakuan ekstrak buah konsentrasi 60% dan 30% tingkat kerusakan plasenta buah yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Pada buah pisang yang dibelah terdapat perubahan warna coklat muda dibagian tengah plasenta pisang yang diduga persebaran ekstrak buah mengkudu. Selain itu terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerahan dibagian tepi plasenta pisang yang merupakan gejala BDB.

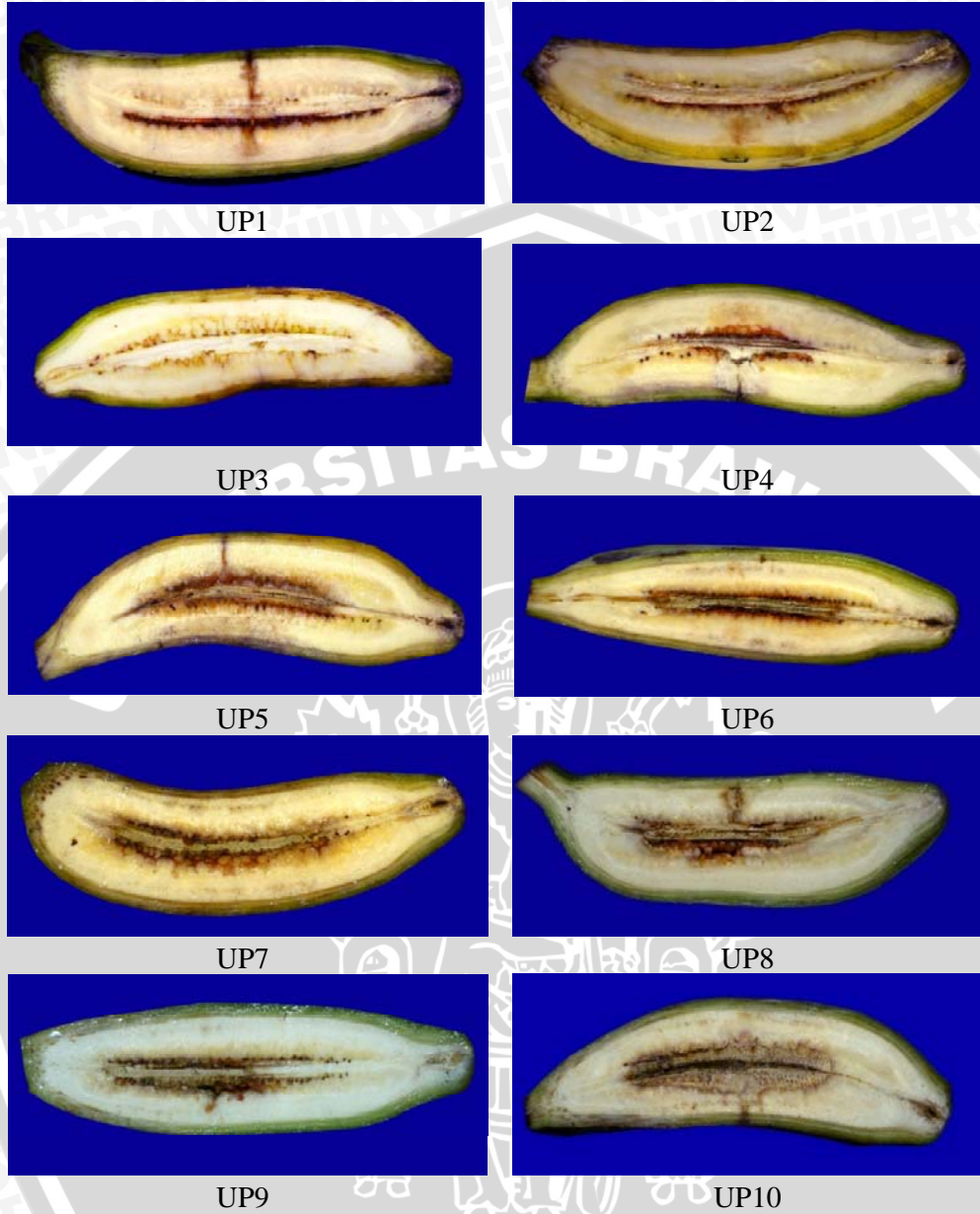
Pada perlakuan ekstrak buah dengan konsentrasi 90% tingkat kerusakan yang dihasilkan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Tingkat kerusakan yang dihasilkan relatif kecil yaitu sebesar 18,13%. Gejala yang muncul adalah adanya warna coklat muda pada sekeliling plasenta buah yang merupakan persebaran ekstrak dan adanya warna coklat kehitaman tipis dibagian tepi ekstrak yang diduga BDB. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 90% efektif dalam menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang, sedangkan ekstrak buah konsentrasi 30% dan 60% tidak efektif dalam menekan pertumbuhan BDB. Menurut Pelczar dan Chan (1988), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin besar pula. Dengan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kandungan senyawa

ataupun zat antibakteri didalamnya juga akan semakin banyak (Efri dan Aeny, 2004).

Ekstrak buah pada konsentrasi 90% mampu menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang, sedangkan ekstrak daun tidak mampu menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Kemampuan menghambat buah mengkudu tersebut berkaitan dengan kandungan antibakteri yang terdapat pada buah mengkudu. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam buah mengkudu diantaranya adalah alkaloid, antrakuinon, flavonoid (Singh, 2012), acubin dan alizarin (Bangun dan Sarwono, 2002). Pada daun mengkudu mengandung alkaloid, flavonoid, dan antrakuinon (Kameswari dkk., 2013). Beberapa senyawa yang bersifat antibakteri lebih terakumulasi pada buah mengkudu daripada daun mengkudu (Singh, 2012). Dengan demikian pada penelitian ini penggunaan ekstrak buah mengkudu lebih efektif dibandingkan penggunaan ekstrak daun mengkudu.

Hasil pengujian tersebut diketahui bahwa buah pisang yang sudah dipotong dari pohonnya dapat digunakan dalam pengujian penekanan pertumbuhan BDB. Pada uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dapat diketahui perlakuan ekstrak buah mengkudu konsentrasi 90% efektif dalam menekan pertumbuhan BDB. Namun tingkat penekanan pertumbuhan BDB paling efektif yaitu pada perlakuan streptomisin.





Gambar 20. Hasil uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang setelah tiga hsi. Tanda panah berwarna merah menunjukkan gejala BDB pada buah pisang.

Keterangan:

UP1: kontrol (BDB), UP2: aquades, UP3: streptomisin, UP4: alkohol 96%, UP5: konsentrasi 30% ekstrak daun mengkudu, UP6: konsentrasi 60% ekstrak daun mengkudu, UP7: konsentrasi 90% ekstrak daun mengkudu, UP8: konsentrasi 30% ekstrak buah mengkudu, UP9: konsentrasi 60% ekstrak buah mengkudu, UP10: konsentrasi 90% ekstrak buah mengkudu.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan hasil identifikasi dari serangkaian uji fisiologi dan biokimia BDB yang diisolasi dari buah pisang yang bergejala busuk coklat kemerahan termasuk salah satu spesies dalam genus *Ralstonia*.
2. Hasil uji sensitifitas antibakteri dapat diketahui bahwa ekstrak buah dan ekstrak daun mengkudu pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Kemampuan ekstrak daun dan buah mengkudu semakin mengalami penurunan selama tiga hari pengamatan. Ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 90% lebih efektif jika dibandingkan perlakuan ekstrak yang lainnya.
3. Buah pisang yang sudah dipotong dari pohonnya dapat digunakan dalam pengujian penekanan pertumbuhan BDB.
4. Dari uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dapat diketahui perlakuan ekstrak buah mengkudu konsentrasi 90% efektif dalam menekan pertumbuhan BDB.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian bahan aktif yang terdapat pada ekstrak mengkudu untuk mengetahui secara pasti bahan manakah yang menghambat pertumbuhan BDB.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella thypimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. J. Bioscientiae 1 (1): 31-38.
- Anonim a. 2006. Bacterial Wilt of Banana Diagnostics Manual (Online). Diunduh dari <http://www.planthealthaustralia.com.au/wp-content/uploads/2013/03/Banana-bacterial-wilt-or-Moko-DP-2006.pdf> tanggal 18 Februari 2014.
- Anonim b. 2012. Tanaman Obat Mengkudu (Online). Diunduh dari <http://kedondoong.blogspot.com/2012/09/tanaman-obat-mengkudu.html> pada tanggal 18 Februari 2014.
- Baharuddin, B. 1994. Pathological, Biochemical, and Serological Characterization of the *Blood Disease Bacterium* Affecting Banana and Plantain (*Musa* sp.). Molecular Plant Pathology. 84 (6) : 570-575.
- Bangun, A.P. dan Sarwono, B. 2002. Khasiat dan Manfaat Mengkudu. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- BPS. 2012. Produksi Tanaman Obat-Obatan di Indonesia 1997-2012 (Online). Diunduh dari http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=3&tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬ab=25 pada tanggal 18 Januari 2014.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Buddenhagen, I. W., dan Elssaser, T. A. 1962. An Insect-Spread Bacterial Wilt Epiphytotic of Bluggue Banana. Nature 194 (4824):164-165.
- Cook, E., Barlow dan Sequeira, L. 1989. Genetic diversity of *P. solanacearum* detection of retraction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensitivity respons. Mol. Plant_Microbe Interactions. 2:113-121.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews 12: 564-82.
- Dani, I. W., Nurtjahja, K. dan Zuhra, C. F. 2010. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *Fusarium moniliforme* Oleh Ekstrak Salam (*Eugenia polyantha*) dan Kunyit (*Curcuma domestica*).Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

- Devi, R. K. 2013. Uji Metode Inokulasi dan Patogenisitas *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada Buah Pisang. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Direktorat Perlindungan Hortikultura. 2011. Penyakit Layu Bakteri (Penyakit Darah/Moko Disease): *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* E.F. Smith pv. *celebensis* (Online). Diunduh dari <http://www.deptan.go.id/ditlinhorti> pada tanggal 16 Juni 2013.
- Djauhariya, E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. J Pengemb. Tek. TRO. 15(1) : 1-16.
- Dwidjoseputro, D. 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djembatan. Jakarta. Hal 97-99.
- Eden-Green, S. J. dan Sastraatmadja. 1990. Blood Disease Present in Java. FAO Plant Prot. Bull. 38:49-50.
- Efri dan Aeny, T. N. 2004. Keefektifan Ekstrak Mengkudu pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia* sp. Secara *In Vitro*. J Hama dan Peny. Tumb. Tropika. Vol 4 No. 2 : 83 – 88.
- Fegan, M., Taghavi, M., Sly, L. dan Hayward, A. C. 1998. Phylogeny, diversity and molecular diagnostics of *R. solanacearum*. Springer-Verlag Berlin, Germany. Hal 19-33.
- Fegan, M., dan Pior, P. 2005. Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. Acta Horticulturae. Hal: 127-136.
- Flanagan, B., Riley, E., Cohen, S.E. dan Rubenstein, A. J. Prevention of hypertension after spinal for cesarean section: 6% hetastarch versus lactated ringer's solution. Anest Analog 1995. 81:838-42.
- Hermawan, A., Hana, W. dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia vol 3. Badan Litbang Kehutanan. Jakarta. Hal: 1795-1799.
- Jones, C. L. A. 2000. The Antibiotic Alternative: The Natural Guide to Fighting Infection and Maintaining a Healthy Immune System. Inner Traditions / Bear & Company. Canada.
- Kameswari M. S., Mahatmi. H., dan Besung. I. N.K. 2013. Perasan Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. Indonesia Medicus Veterinus 2013 2(2) : 216 – 224.

- Kerr, F. D. Morgan. 1980. Plant Protection. Press Etching Pty Ltd. Melbourne.
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). Biodiversitas. 8(1) : 48-53.
- Lacy, G. H. and Lukezic, F. L. 2004. Laboratory Exercises for Plant Pathogenic Bacteria. In: Trigiano, R.N., M.T. Windham and A.S.Windham (eds.), Plant Pathology, Concepts and Laboratory Exercises. CRC Press. New York. Hal 53–60.
- Leiwakabessy, C. 1999. Potensi beberapa jenis serangga dalam penyebaran penyakit layu bakteri *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* Yabuuchi *et al.* pada pisang di Lampung. Tesis. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lelliott, R. A. dan Steed, D. E. 1987. Methods For The Diagnosis of Bacterial Disease of Plants. British Society For Plant Pathology. London.
- Limbongan, J. 2011. Karakteristik Morfologis dan Anatomi Klon Harapan Tahan Penggerek Buah Kakao sebagai Sumber Bahan Tanam. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan. 31 (1).
- Mojab, F., Poursaeed, M., Mehrgan, H. dan Pakdaman, S. 2008. Antibacterial Activity of Thymus daenensis methanolic Extract. Pak. J. Pharm. Sci. 21 (3): 210-213.
- Nasrun, Christanti, Arwiyanto, T., dan Mariska, I. 2013. Karakteristik Fisiologis *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri Nilam. Jurnal Littri 13(2).
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid ke-1, Penerjemah : Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pratiwi, R. 2005. Perbedaan Daya Hambat Terhadap *Streptococcus mutans* dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal. Vol. 38 No. 2 April – Juni : Maj. Ked. Gigi: 64 - 67.
- Prihatman, K. 2000. Pisang (*Musa spp*). Sistem informasi Manajemen Pembangunan di Pedesaan, BAPPENAS. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Permasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Jakarta (Online). Diunduh dari <http://www.ristek.go.id> pada 18 Maret 2014.
- Rahmawati, A. 2009. Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*). Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Institut Pertanian Bogor. Bandung. 132-6.
- Rukmana, R. 1999. Usaha Tani Pisang. Kanisius. Yogyakarta.

- Rukmana, R. 2002. Mengkudu Budi Daya dan Prospek Agribisnis. Kanisius. Yogyakarta.
- Rustam. 2007. Uji Metode Inokulasi dan Kerapatan Populasi *Blood Disease Bacterium* pada Tanaman Pisang. J. Hortikultura. 17 (4):387-392.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. dan Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. Ed ketiga. APS Press. St. Paul Minnesota.
- Semangun, H. 1989. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikulturadi Indonesia. UGM Press. Yogyakarta.
- Singh, D. R. 2012. *Morinda citrifolia* L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties. J. of Diabetes and Endocrinology Vol. 3 (6). Hal: 77-91.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. Kimia Medisinal. Universitas Airlangga Press. Surabaya.
- Subandiyah, S., Indarti, S., dan Harjaka, T. 2005. *Bacterial wilt disease complex of banana in Indonesia*. In: C. Allen, P. Prior, & A.C. Hayward (Eds.). Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex. APS Press, Minnesota. Hal: 415-422.
- Sulyo, Y. 1992. Major Banana Disease and Their Control. IARD Journal 14 (3 & 4) : 55-62.
- Supriadi. 1997. Bacteriophage Typing of *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syzygii* and Blood Disease Bacterium of Banana. Hayati 4(3):72-76.
- Tajoedin, T. H. dan Iswanto, H., 2004. Mengebunkan Mengkudu secara Intensif. Penerbit Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G., 2000. Taksonomi Tumbuhan Spermathophyta. Cetakan ke-9, UGM Press. Yogyakarta.
- Volk, W.A and M.F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri dan Tabel Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Tabel Lampiran 1. Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri pada Hari Pertama Setelah Inokulasi

SK	Db	JK	KT	F hit	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	8	1972.87	246.61	14.62**	2.51	3.71
Galat	18	303.57	16.87			
Total	26	2276.45				

Tabel Lampiran 2. Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri pada Hari Kedua Setelah Inokulasi

SK	Db	JK	KT	F hit	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	8	1417.17	177.15	14.10**	2.51	3.71
Galat	18	226.10	12.56			
Total	26	1643.27				



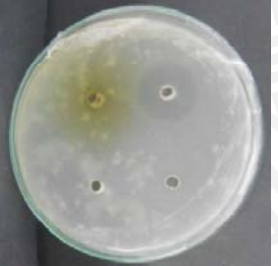









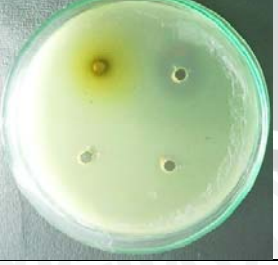


Tabel Lampiran 3. Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

SK	Db	JK	KT	F hit	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	8	1273.25	159.16	14.53**	2.51	3.71
Galat	18	197.16	10.95			
Total	26	1470.41				

Tabel Lampiran 4. Analisis Ragam Diameter Kerusakan Plasenta Buah pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

SK	db	JK	KT	F hit	F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	9	7952.76	883.64	13.44**	2.4	3.45
Galat	20	1314.78	65.74			
Total	29	9267.56				

Lampiran 2. Gambar Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri

Perlakuan	Pengamatan		
	Hari Pertama Setelah Inokulasi	Hari Kedua Setelah Inokulasi	Hari Ketiga Setelah Inokulasi
US1			
US2			
US3			
US4			
US5			

US6



Gambar Lampiran 1. Hasil pengamatan uji sensitivitas antibakteri hari pertama hingga ketiga setelah inokulasi BDB.

Keterangan:

US1: ekstrak buah 30%, US2: ekstrak buah 60%, US3: ekstrak buah 90%, US4: ekstrak daun 30%, US5: ekstrak daun 60%, US6: ekstrak daun 90%, A: ekstrak daun/buah mengkudu, B: aquades, C: alkohol, D: streptomisin.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

