EKSPLORASI BAKTERI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES TANAMAN KANTONG SEMAR (*Nepenthes* sp.)

Oleh:

ABDUL KARIM FANANI

Minat Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi Agroekoteknologi

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

EKSPLORASI BAKTERI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES TANAMAN KANTONG SEMAR (*Nepenthes* sp.)

Oleh:

ABDUL KARIM FANANI

115040201111176

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

EKSPLORASI BAKTERI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES TANAMAN KANTONG SEMAR (*Nepenthes* sp.)

Oleh:

ABDUL KARIM FANANI

115040201111176

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

PERNYATAAN

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

Malang, Maret 2015

Abdul Karim Fanani

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul penelitian	: **Eksplorasi Bakteri Patogen Pada Beberapa Spesies Tanaman Kantong Semar** (*Nepenthe* sp.*)*
Nama Mahasiswa	: Abdul Karim Fanani
NIM	:11504020111176
Jurusan	: Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	: Agroekoteknologi
Laboratorium	: Bakteriologi
Menyetujui	: Dosen Pembimbing

Disetujui

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Prof. Dr. Ir. A. Latief Abadi, MS.	Luqman Qurata Aini, SP., MSi., PhD.
NIP. 19550821 198002 1 002	NIP. 19720919 199802 1 001

Diketahui,
Ketua
Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan

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

Tanggal persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I,

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.
NIP. 19521028 197903 1 003

Penguji II,

Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc
NIK.880504 04 32 0021

Penguji III,

Luqman Qurata Aini, SP., MSi., PhD.
NIP. 19720919 199802 1 001

Penguji IV,

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

Tanggal persetujuan:

HALAMAN PERUNTUKAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk

Kedua orangtua tercinta
Serta kakak-kakakku tersayang

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

ABDUL KARIM FANANI. 115040201111176. EKSPLORASI BAKTERI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES TANAMAN KANTONG SEMAR (*Nepenthes*sp.). Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. dan Luqman Qurata Aini, SP., MSi., PhD.

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan alam yang melimpah.Khususnya untuk tanaman yang unik dan eksotis seperti kantong semar (*Nepenthes*sp.*)*.Permintaan akan tanaman ini mulai naik dengan meningkatnya jumlah kolektor dan penghobis.Upaya untuk menghindari eksploitasi di alam adalah perlu dilakukan budidaya tanaman ini untuk memenuhi kebutuhan pasar.Berbagai teknik budidaya diterapkan, namun masalah utama muncul ketika organisme pengganggu tanaman muncul. Pengetahuan akan hama dan penyakit pada tanaman *Nepenthes* masih jarang, khususnya penyakit yang disebabkan oleh bakteri yang sering menjadi kendala budidaya *Nepenthes.*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis bakteri patogen pada bagian daun, batang, akar tanaman *Nepenthes*.Sedangkan hipotesis yang diajukan adalah bahwa pada tanaman *Nepenthes* terdapat penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun, batang, dan akar.Dengan adanya penelitian ini, maka bisa menjadi salah satu penyumbang ilmu pengetahuan tentang bakteri patogen pada *Nepenthes* sehingga penyelamatan dan pelestarian *Nepenthes* semakin baik.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2014 sampai dengan bulan Desember 2014 di Laboratorium Bakteriologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur. Pelaksanaan penelitian dimulai dengan melakukan eksplorasi dan pengambilan sampel tanaman sakit di PKT Kebun Raya Bogor – LIPI. Setelah didapatkan sampel, kemudian dilakukan sterilisasi alat dan sterilisasi bahan Bahan yang telah disterilisasi selanjutnya diisolasi dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) untuk mendapatkanisolat bakteri yang diinginkan dari bagian akar, batang, dan daun. Bakteri yang tumbuh dipurifikasi ke media NA yang baru dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Setelah itu, dibuat suspensi bakteri dengan kerapatan 10^8 sel/ml sebagai bahan uji patogenisitas dan uji reaksi hipersensitif.Inokulasi dilakukan dengan menggunakan jarum injeksi (jarum suntik) untuk uji patogenisitas ke tanaman inang sebenarnya dan uji reaksi hipersensitif ke tanaman tembakau.

Setelah didapatkan gejala yang sama pada uji patogenisitas, maka dilakukan karakterisasi bakteri untuk mendapatkan identifikasi hingga genus. Pertama dilakukan karakterisasi morfologi koloni yang meliputi bentuk, warna, tepi, dan permukaan koloni serta bentuk sel bakteri.Setelah itu dilakukan uji Gram dengan pewarnaan Gram dan dengan uji kelarutan KOH 3% untuk mengetahui bakteri jenis Gram positif ataukan Gram negatif. Kemudian uji Oksidatif-Fermentatif untuk mengetahui jenis bakteri aerob ataukah anaerob, dan uji pigmen fluorescent dengan menggunakan media King's B untuk mengetahui jenis bakteri yang dapat memproduksi pigmen fluorescent ataukah tidak. Dilanjutkan dengan

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

uji pertumbuhan pada media YDC dengan suhu 33^{o}C.Setelah didapatkan data, maka bakteri yang diduga merupakan patogen bisa diidentifikasikan hingga tingkat genus dan dibandingkan dengan literature.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat bakteri patogen yang menyeran tanaman *Nepenthes.*Bakteri yang ditemukan berasal dari genus *Erwinia, Pseudomonas,* dan *Xanthomonas.* Karakterisitik bakteri tersebut juga berbeda, ketiga bakteri merupakan bakteri Gram negatif, dari genus *Erwinia* mampu hidup dalam keadaan anaerob, sedangkan dari kedua genus yang lain bersifat aerob. Pada uji pigmen fluorescent, hanya bakteri genus *Pseudomonas* yang mampu memproduksi pigmen dan menunjukkan pendar hijau saat diamati dibawah sinar UV.Sedangkan untuk genus *Xanthomonas* berwarna kuning pada media YDC dan dapat tumbuh pada suhu 3^{o}C.

SUMMARY

ABDUL KARIM FANANI. 115040201111176. EXPLORATION PATHOGENIC BACTERIA IN SOME SPECIES OF PITCHER PLANT (*Nepenthes*sp.). Under guidance of Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. and Luqman Qurata Aini, SP., MSi., PhD.

Indonesia is a country with abundant natural resource. Especially for the unique and exotic plants such as pitcher plants (*Nepenthes*sp.). The demand for pitcher plants increases as the increasing of collectors and hobbyist. To avoid exploitation in nature, it is necessary to cultivate this plant for market needs. Various cultivation techniques are applied, but the main problem is pest and disease. There's still a little knowled of *Nepenthes*' pests and disease, especially bacterial disease.

This research aimed to find out the types of pathogenic bacteria on the leaves, stems, roots of *Nepenthes* plants. The hypothesis was there are pathogenic bacteria on the leaves, stems, and roots that caused *Nepenthes* plant diseases. The result of this research was expected tocontribute a knowledge about bacterial disease on *Nepenthes* plant so that saving and preservation of *Nepenthes* could be better.

Research was conducted at October to December 2014 in the Laboratory of Bacteriology, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya, Malang, East Java.The experiment began with exploration and took sampling of diseased plants in Bogor Botanical Gardens - LIPI. Then the samples were sterilized and isolated using Nutrient Agar (NA) to obtain desired bacteria that isolated from the roots, stems, and leaves. The growing bacteriawere purified on new NA media and incubated for 48 hours. After that, made a bacterial suspension with a density of 10^8 cells / ml as pathogenicity test materials and hypersensitivity reactions. Inoculation was performed by using a syringe for pathogenicity test to the actual host plant and hypersensitive reaction to tobacco plants.

After getting same symptoms in pathogenicity test, then characterization was done to obtain genus identity of bacteria. The first characterization was colony morphology that includes shape, color, edge, size, surface colonies, and the bacteria cell shape. The second characterization was to determine bacterial Gram (Gram-positive or Gram-negative). The third characterization was oxidative-fermentative test to determine the type of aerobic or anaerobic bacteria. The forth characterization was fluorescence pigments test using King's B medium. Then gwoeth test with YDC medium at 33^{o}C. After the data was collected, the pathogenic bacteria can be identified to the genus level and compared with the literature.

The results showed that there were bacterial pathogensof pitcher plants. Found bacteria were suspected to belong to genus *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. Characteristics of these bacteria were also different, the third of bacteria were Gram negative, *Erwinia*bacteria was able to live in an anaerobic condition, while the other two genera were aerobic. *Pseudomonas*was the only

bacteria that capable to produce pigment and show green fluorescence when observed under UV light. *Xanthomonas*was yellow on YDC medium and could grow at 33^{o}C.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya yang telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **"**EKSPLORASI BAKTERI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES TANAMAN KANTONG SEMAR (*Nepenthes*sp.)**".**

Penulis menyadari telah banyak menerima bantuan dalam menyelesaikan Skripsi. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih banyak atas segala bantuan dari semua pihak, terutama kepadaProf. Dr. Ir. A. Latief Abadi,MS. dan Luqman Qurata Aini, SP., MSi., PhD. selaku dosen pembimbing atas segala kesabaran, nasihat dan bimbingan kepada penulis. Kepada Ibu Yupi Isnaini, MSi. yang telah memberikan banyak ilmu bermanfaat tentang tanaman *Nepenthes.* Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Bambang Tri Raharjo, SU.selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada Ayah Soenjoto dan Ibu Sarah dan Mbak Ratna, Mbak Rizki, serta Mbak Laili yang selalu memberikan dukungan, cinta, kasih sayang dan doanya kepada penulis. Juga kepada Ajeng, Afni, Adit, Eka, Mukti, Yoanita, Widdi, dan Wahyunitaatas ilmu, bantuan, dukungan, dan kerja sama selama ini. Dan teman-teman Agroekoteknologi 2011 serta seluruh pihak yang telah memberikan dukungan.

Penulis berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pemikiran bagi ilmu pengetahuan.

Malang, Maret 2015

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kota Pasuruan pada tanggal 16 Februari 1992 sebagai putra keempat dari empat bersaudara dari Bapak Moch. Achsan Soenjoto dan Ibu Sus Maysarah.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Wonosari, Gondangwetan, Pasuruan pada tahun 1999 hingga tahun 2005, kemudian penulis melanjutkan ke SMP N 2 Gondangwetan pada tahun 2005 hingga tahun 2008. Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan ke SMA N 1 Gondangwetan pada tahun 2008 hingga tahun 2011. Di tahun yang sama penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, melalui jalur SNMPTN Undangan. Kemudian pada tahun 2013 terdaftar sebagai mahasiswa Minat Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum Mata Kuliah Teknologi Produksi Tanaman pada tahun 2013-2014.Selain itu penulis pernah aktif dalam kepanitian RANTAI II pada tahun 2011.

DAFTAR ISI

PERNYATAAN i
LEMBAR PERSETUJUAN v
LEMBAR PENGESAHAN vi
HALAMAN PERUNTUKAN vii
RINGKASAN viii
SUMMARY x
KATA PENGANTAR xii
RIWAYAT HIDUP xiii
DAFTAR ISI xiv
DAFTAR TABEL xvi
DAFTAR GAMBAR xvii
DAFTAR LAMPIRAN xviii
I. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Tujuan 3
1.3 Hipotesis 3
1.4 Manfaat 3
II. TINJAUAN PUSTAKA 4
2.1 Kantong Semar (*Nepenthes*) 4
2.2 Bakteri 10
2.3 Klasifikasi Bakteri 12
III. METODE PENELITIAN 14
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan 14
3.2 Alat dan Bahan 14
3.3 Persiapan Pelaksanaan 14
3.4 Pelaksanaan Penelitian 15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 21
4.1 Deskripsi Gejala 21
4.2 Hasil Eksplorasi 25
4.3 Isolasi dan Pemurnian Bakteri 27
4.4 Hasil Uji Patogenisitas 28

4.5 Hasil Uji Reaksi Hipersensitif 32
4.6 Hasil Karakterisasi 34
4.7 Pembahasan 41
V.KESIMPULAN DAN SARAN 45
5.1 Kesimpulan 45
5.2 Saran 45
DAFTAR PUSTAKA 46
LAMPIRAN 50

DAFTAR TABEL

Nomor Halaman

Teks

1. Bagian Tanaman yang Terinfeksi Penyakit pada 3 Spesies *Nepenthes*. 26
2. Isolat yang Tumbuh dari Bagian Daun, Batang, Akar 28
3. Hasil Uji Patogenisitas 29
4. Hasil Uji Reaksi Hipersensitif pada Daun Tanaman Tembakau 33
5. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Bakteri 35
6. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia 36
7. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia Berdasarkan Schaad*et al.* (2001)..... 40

Lampiran

1. Perbandingan gejala awal dengan gejala setelah uji patogenisitas 53
2. Hasil Uji Gram Dengan Kelarutan KOH 3% 57
3. Hasil Uji Gram Dengan Pewarnaan 58
4. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif 59
5. Hasil Uji Produksi Pigmen Fluorescent 60
6. Hasil Uji Pertumbuhan pada Media YDC dan Pertumbuhan pada Suhu 33^0 C .. 61

DAFTAR GAMBAR

Nomor Halaman

Teks

1. Tanaman kantong semar atau *Nepenthes* 4
2. Batang tanaman *Nepenthes* 5
3. Daun dan kantong tanaman *Nepenthes* 5
4. Bungan *Nepenthes.* Bunga jantan dan bunga betina. 6
5. Bakteri patogen pada tanaman 10
6. Bagan identifikasi bakteri tingkat genus 18
7. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun spesies *N. mirabilis* 21
8. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian batang spesies *N. ampullaria.* 22
9. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun spesies *N. ampullaria* 23
10. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian batang spesies *N. rafflessiana*\ 24
11. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun spesies *N. rafflessiana* 25
12. Morfologi isolat bakteri 34
13. Pengujian Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram 36
14. Pengujian Oksidatif-Fermentatif 37
15. Pengujian produksi pigmen fluorescent, bakteri yang berpendar dan bakteri yang tidak berpendar 38
16. Pengujian pertumbuhan pada media YDC dan inkubasi pertumbuhan pada suhu 33^{o}C 39
17. Gejala penyakit bercak cokelat pada daun *N. mirabilis* yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia* 42
18. Gejala penyakit busuk hitam pada batang *N. ampullaria* dan *N .rafflessiana* yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas* 42
19. Gejala penyakit bintik kuning pada daun *N. ampullaria* dan *N.rafflessiana* yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas* 43

Lampiran

1. Pertanaman *Nepenthes* dalam rumah kaca Kebun Raya Bogor 51
2. Pengemasan tanaman sampel sebagai sumber isolat bakteri patogen 51

3. Isolasi bakteri patogen dari tanaman sampel.....52

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Halaman

Teks

1. Eksplorasi Tanaman yang Terinfeksi Penyakit 51
2. Isolasi dan Purifikasi 52
3. Uji Patogenisitas Pada Tanaman Inang 53
4. Karakterisasi Isolat Bakteri 57

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara yang banyak memiliki kekayaan dankeanekaragaman plasma nutfah.Satu diantara plasma nutfah yang banyak terdapatdi Indonesia adalah tanaman kantong semar (*Nepenthes*sp.)(Mansur, 2006).*Nepenthes* merupakan tanaman hias unik yang cukup diminati karena keindahan bentuk dan warna kantong pada ujung daun yang merupakan ciri khasnya (Isnaini, 2011).*Nepenthes* memiliki potensi untuk dijadikan sebagai tanamanhias.*Nepenthes* memang belum sepopuler tanaman hias lainnya seperti anggrek, dan aglonema.Namun, saat ini kepopuleran *Nepenthes* sebagai tanamanhias yang unik semakin meningkat seiring dengan minat masyarakat pecintatanaman hias untuk menangkarkannya. Bahkan di negara-negara seperti Australia, Eropa, Amerika, Jepang, Malaysia, Thailand, dan Sri Lanka budidayatanaman ini sudah berkembang menjadi skala industri. (Akhriadi dan Hernawati, 2006).

*Nepenthes*merupakansalahsatutumbuhanunikkebanggaan Indonesia.Keunikan *Nepenthes* berada pada kantongnya.Kantong dari *Nepenthes* memiliki ukuran, bentuk dan corak warna yang indah.Kantong tersebut berfungsi sebagai perangkap bagi beberapa jenis binatang kecil dan serangga yang tertarik pada kelenjar madu di bawah penutup kantong. Alat penutup kantong letaknya miring dan memiliki lapisan kelenjar yang sangat licin, sehingga serangga dan binatang kecil lainnya akan jatuh dan masuk ke dalam kantong (Kurniawan, 2013).

Tingginya permintaan akan *Nepenthes* mengakibatkan keberadaan marga tumbuhan ini semakin terancam karena perusakan habitat dan pengambilan oleh masyarakat langsung dari alam (Clarke ,2001). Maka dari itu pemerintah mengeluarkan UU No 5 tahun 1990 tentang konservasi sumberdaya alam hayati dan ekosistemnya, serta Peraturan Pemerintah No. 7 tahun 1999 tentang jenis-jenis tumbuhan dan satwa yang dilindungi.Kegiatankonservasi*ex-situ* dilakukan untuk menghindari adanya kepunahan beberapa jenis

Nepenthes.Hal ini perlu dilakukan mengingat terjadi berbagai tekanan terhadap populasi maupun habitat *Nepenthes* di alam (Kurniawan, 2013).Hal ini sejalan dengan regulasi *Convention on International Trade in Endangered Species* (CITES), dari 103 spesies kantongsemar di dunia yang sudah dipublikasikan, 2 jenis: *N. rajah* dan *N. khasiana* masukdalam kategori Appendix-1. Sisanya berada dalam kategori Appendix-2. Hal itu berartisegala bentuk kegiatan perdagangan sangat dibatasi (CITES, 2009).Oleh sebab itu, sebagai salah satu tumbuhan dalam daftar CITES, *Nepenthes* spp. perlu dilestarikan, diperbanyak, dipelajari dan dimanfaatkan secara berkelanjutan (Isnaini, 2011).

Perbanyakan *Nepenthes* dapat dilakukan dengan biji, stek dan pemisahan anakan.Namun, perbanyakan dengan biji menjadi sulit karena tumbuhan tersebut berumah dua dan hanya berbunga setidaknya setahun sekali, sedangkan stek dan pemisahan anakan hanya dapat menghasilkan sedikit anakan dan membutuhkan waktu relatif lama untuk mempersiapkan tanaman induknya (Clarke, 2001).Selain teknik perbanyakan yang relatif sulit, masalah budidaya yang umum adalah munculnya hama dan penyakit. Meskipun tidak terlalu banyak hama dan penyakit yang menyerang *Nepenthes* (Purwanto, 2007) namun pengendalian tetap harus dilakukan. Hama yang biasanya menyerang *Nepenthes* antara lain kutu putih, thrips, kutu sisik, dan tungau.Sedangkan untuk penyakit yang sering dijumpai yaitu bintik merah yang disebabkan oleh jamur *Cercospora* dan rebah batang oleh jamur *Phytium aphanidermatum*(Handoyo dan Sitanggang, 2006).

Oleh karena penyakit yang banyak dijumpai sebagian besar adalah yang disebabkan oleh jamur, maka penelitian ini dilakukan guna untuk mengetahui jenis-jenis penyakit lainnya yang disebabkan oleh bakteri patogenagar upaya pelestarian *Nepenthes* berjalan dengan baik.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis bakteri patogen pada tanaman *Nepenthes*.

1.3 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan adalah bahwa pada tanaman *Nepenthes* terdapat penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun, batang, dan akar.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan bisa menjadi salah satu penyumbang ilmu pengetahuan tentang bakteri patogen pada *Nepenthes* sehingga penyelamatan dan pelestarian*Nepenthes* semakin baik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kantong Semar (*Nepenthes*)

A. Klasifikasi

Klasifikasi *Nepenthes* menurut Purwanto (2007), yaitu Kerajaan Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Choripetalae, Ordo Nepenthales, Famili Nepenthaceae, Genus *Nepenthes*, Spesies *Nepenthes*sp.

B. Morfologi

Secara morfologi, tanaman *Nepenthes* dibagi atas beberapa bagian utama, yaitu akar, batang, daun dan kantong, serta bunga.

Gambar 1.Tanaman kantong semar atau *Nepenthes*(Araflora, 2014).

a. Akar

Nepenthes memiliki akar tunggang, seperti tanaman dikotil lainnya.Perakaran tumbuh dari pangkal batang, memanjang, dengan akar-akar sekunder di sekitarnya.Akar yang sehat berwarna hitam dan tampak berisi (gemuk), tetapi perakaran*Nepenthes* rata-rata kurus dan sedikit, bahkan hanya terbenam sampai kedalaman 10 cm dari permukaan tanah.Hal itu wajar karena *Nepenthes* umumnya tumbuh di lahan marginal yang miskin unsur hara sehingga diduga fungsi utama akar bukan untuk menyerap unsur hara (Purwanto, 2007).

b. Batang

Gambar 2.Batang tanaman *Nepenthes*(Kherjuli, 2013).

Batang *Nepenthes* termasuk batang memanjat (*scandens*), yaitu batang yang tumbuh ke atas dengan menggunakan penunjang. Penunjang dapat berupa benda mati atau tumbuhan lain seperti pada Gambar 2. Pada waktu naik ke atas (memanjat), batang meggunakan alat khusus untuk berpegangan yaitu berupa sulur daun.Bentuk batang bervariasi, ada yang segi tiga, segi empat, membulat, dan bersudut, tergantung spesies.Diameter batang juga sangat kecil, yaitu 3-30 mm dengan warna bervariasi pula, yaitu hijau, merah dan ungu tua (Purwanto, 2007).

c. Daun dan kantong

Gambar 3.Daun dan kantong tanaman*Nepenthes*(Dahnial, 2010).

Bentuk daun *Nepenthes*rata-rata lanset (*ovatus*) dan lonjong (*oblongus*).Permukaan daun licin dan tidak berbulu.Tepi daun bervariasi, ada yang rata, bergelombang, dan bergerigi.Dari ujung daun muncul kantong dengan bermacam-macam bentuk, tergantung spesies.Kantong *Nepenthes* dibedakan menjadi tiga, yaitu kantong roset, kantong atas dan kantong bawah.Kantong roset keluar dari ujung daun roset.Kantong atas keluar dari ujung daun bagian atas, berbentuk corong, pinggang atau slinder, dan tidak memiliki sayap.Bentuk tersebut memungkinkan serangga yang sedangterbang dapat tertangkap oleh kantong.Kantong bawah muncul dari ujung daun bagian bawah dan biasanya menyentuh tanah.Kantong bawah memiliki sayap yang berfungsi sebagai tempat berpijak bagi serangga hinga mencapai mulut kantong.Kantong ini sebenarnya merupakan alat pencernaan tanaman.Serangga yang masuk kedalam kantong akan tenggelam dalam cairan yang ada dalam kantong tersebut.Cairan tesebut mengandung ion-ion positif sehingga bersifat asam, juga mengandung enzim proteolase dan kitinase (Purwanto, 2007).

d. Bunga

Gambar 4.Bungan *Nepenthes.*Bunga jantan (kiri) dan bunga betina (kanan) (Sabah, 2012).

Bunga kantong semar muncul sekali atau dua kali dalam setahun, atau bahkan terus menerus.Satu tanaman menghasilkan bunga jantan atau betina yang muncul di dekat puncak batang utama.Bakal

bunga jantan saat belum mekar berbentuk bulat tanpa ada lekukan.Sedangkan bunga betina memiliki lekukan seperti buah belimbing di bakal bunganya (Adrian, 2011).

C. Habitat dan Penyebaran

Kantong semar dapat dijumpai mulai dari puncak gunung sampai pinggir pantai, mulai dari 0–3.000 m dpl. Dilihat dari segi geografis, kantong semar tumbuh di daerah tropis yang basah dan tersebar mulai dari Madagaskar, Kepulauan Seychelles, Srilanka, India, Cina, Asia Tenggara, Papua, Australia, dan Kaledonia Baru. Dari 103 spesies kantong semar, 33 spesies ada di Kalimantan (wilayah Indonesia dan Malaysia), dengan 25 spesies diantaranya merupakan spesies endemik yang tidak ditemukan di daerah lain. Sedangkan di Sumatera terdapat 30 spesies dengan 17 spesies endemik.Kedua pulau tersebut menyimpan jumlah spesies kantong semar terbanyak di dunia, sehingga disebut sebagai sumber plasma nutfah kantong semar terbesar. Sementara di Semenanjung Malaysia terdapat 8 spesies kantung semar, kemudian Filipina dengan 12 spesies, dan Papua 9 spesies dengan 7 spesies endemik. Kantong semar tidak hanya tumbuh di daerah lembab dan teduh, tetapi juga pada tempat yang miskin unsur hara seperti rawa-rawa dan pasir pantai.Beberapa spesies juga ditemukan tumbuh di tanah gambut, tanah pasir, tanah kapur, celah bebatuan, serasah daun, tanah gunung, atau di pohon-pohon besar (epifit).Kantong pada kantong semar mampu memberikan cadangan nutrisi sehingga tanaman ini dapat bertahan hidup pada tanah yang miskin hara (Adrian, 2011).

D. Hama dan Penyakit

Musuh besar kantong semar ialahhama. Hama *Nepenthes* tidak terlalu banyak, namun tetap saja perlu dibasmi.Misalnya ulat, yang biasanya menyerang tanaman ini. Jenis hama lainnya, kutu putih, kutu perisai, dan*mealy bugs*. Penanganan hama ini cukup mudah, hanya dengan memberi insektisida di media tanaman tersebut (Yahya, 2012).

Penyakit yang menyerang adalah bercak merah yang disebabkan oleh jamur *Cercosopra* sp., busuk hitam, busuk pangkal batang, busuk

pucuk yang disebabkan oleh jamur *Pythium aphanidermatum* dan penyakit lainnya (Purwanto, 2007).Busuk pangkal batang biasanya terjadi bila media tanam yang kita gunakan terlalu basah/menggenang. Maka pemilihan media yang baik aerasinya merupakan salah satu cara mencegah penyakit ini (Agromedia, 2012).

E. Budidaya dan Eksploitasi

Nepenthes sudah dikenal cukup lama.Tanaman karnivora yang ditemukan pada tahun 1737 ini habitat aslinya adalah di tempat terbuka atau hutan yang miskin unsur hara, dengan pencahayaan terbatas dan kelembaban tinggi.*Nepenthes* tersebar di daerah tropis, mulai dari dataran rendah hingga dataran tinggi.Penampilan *Nepenthes* berbeda dengan tanaman pada umumnya, yaitu ujung daun memiliki kantong dengan bentuk dan corak serta warna beragam.Kantong tersebut merupakan sebuah perangkap bagi hewan kecil atau serangga dan karena itu disebut tanaman karnivora.Dari hewan kecil dan serangga tersebut*Nepenthes* mendapatkan nutrisi untuk pertumbuhan (Purwanto, 2007).

Status tumbuhan kantong semar termasuk tumbuhan yang dilindungi berdasarkan Undang-Undang No. 5 tahun 1990 tentang Konservasi Sumberdaya Hayati dan Ekosistemnya serta Peraturan Pemerintah No. 7/1999 tentang Pengawetan Jenis Tumbuhan dan Satwa. Hal ini sejalan dengan regulasi *Convention on International Trade in Endangered Species* (CITES), dari 103 spesies kantong semar di dunia yang sudah dipublikasikan, 2 jenis: *N. rajah* dan *N. khasiana* masuk dalam kategori Appendix-1. Sisanya berada dalam kategori Appendix-2. Itu berarti segala bentuk kegiatan perdagangan sangat dibatasi (CITES, 2009).

Ancaman terbaru yang belakangan ini terjadi adalah pengeksploitasian terhadap *Nepenthes* oleh masyarakat untuk kepentingan bisnis.Eksploitasi *Nepenthes* dari alam untuk kepentingan ekonomi mengakibatkan kepunahan tumbuhan ini. Eksploitasi yang tidak memperhatikan kaidah ekologi konservasi tentu akan mempercepat kepunahan *Nepenthes* di habitat alaminya. Kepunahan satu jenis

*Nepenthes*dapat terjadi dengan cepat saat tumbuhan tersebut menjadi salah satu *trending* topik di masyarakat. Ancaman tersebut dapat dicegah dengan cara pengembangan kultur jaringan *Nepenthes* sebagai upaya konservasi secara *ex-situ*(Kurniawan, 2013).

Dengan adanya ancaman kepunahan, diperlukan adanya budidaya *Nepenthes* sebagai upaya konservasi.Banyak praktik budidaya yang telah dilakukan oleh para pembudidaya *Nepenthes.*Perbanyakan *Nepenthes* bisa dari biji, stek batang, merunduk, cangkok, dan *split* anakan. Tetapi metode ini kurang efektif untuk tujuan konservasi.Perbanyakan dari stek batang sering mengalami kegagalan karena banyak terserang penyakit busuk. Sedangkan untuk perbanyakan dari biji kendalanya adalah biji susah didapatkan karena polinasi sulit terjadi manakala hanya bunga betina yang matang tetapi tidak ada bunga jantan yang menyerbuki karena *Nepenthes* merupakan tanaman *dioceous* atau tumbuhan berumah dua. Dibutuhkan alternatif untuk perbanyakan *Nepenthes* ini, misalnya dengan teknik kultur jaringan yang akan menghasilkan individu bermutu, banyak, dan dengan waktu yang relatif singkat (Budi, 2009).

Teknik kultur jaringan telah lama dikenal luas di kalangan akademisi, peneliti dan ahli botani sebagai perbanyakan masal dalam rangka memperbanyak jumlah tanamann dengan mengambil sedikit jaringan pada bagian tertentu tanaman kemudian dikultur dalam suatu tabung. Metode kultur jaringan merupakan solusi yang dapat dijalankan dalam upaya konservasi *Nepenthes* secara *ex-situ*. Dilakukan pengambilan jaringan *Nepenthes* untuk memperbanyak jumlah individunya. Kemungkinan bertahan individu baru hasil dari kultur jaringan sangat besar, karena sifat anakan yang hampir menyerupai induknya. Hal ini memungkinkan satu jenis *Nepenthes* dapat terhindar dari kepunahan karena jumlah individunya dapat diperbanyak (Renstra, 2005).

2.2 Bakteri

Gambar 5.Bakteri patogen pada tanaman.(Schaad *et al*, 2001)

Bakteri, dari bahasa Latin *bacterium* (jamak, bacteria), adalah kelompok terbanyak dari organisme hidup. Mereka sangatlah kecil (mikroskopik) dan kebanyakan *uniselular* (bersel tunggal), dengan struktur sel yang relatif sederhana tanpa nukleus/inti sel, *cytoskeleton*, dan organel lain seperti mitokondria dan kloroplas. Bakteri tersebar (berada di mana-mana) di tanah, air, dan sebagai simbiosis dari organisme lain. Banyak patogen merupakan bakteri (Dewata, 2012).

Bakteri adalah salah satu jasad yang sangat kecil.Sampai sekarang telah diketahui kira-kira 1600 spesies bakteri yang sebagian besar dari jumlah tersebut termasuk saprofit. Banyak juga diantaranya yang sangat berguna untuk manusia, karena membantu menguraikan bahan-bahan organik yang tidak terpakai lagi. Berbagai spesies dapat menjadi penyebab penyakit pada manusia dan hewan yang menyebabkan penyakit. Bakteri pada tanaman telah diperkirakan sebanyak 180 sepsies.Semua bakteri yang patogenik tersebut dapat digolongkan kedalam saprofit fakultatif dan dapat ditumbuhkan pada media buatan(Dwidjoseputro, 1964).

Beberapa jenis bakteri dapat membentuk spora.Ukuran dari spora tersebut lebih kecil atau lebih besar dari garis tengah sel induknya.Tetapi spora bakteri ini tidak berfungsi untuk memperbanyak diri tetapi hanya untuk mempertahankan diri terhadap keadaan yang kurang baik bagi pertumbuhannya.Semua bakteri menyebabkan penyakit pada tumbuhan tergolong kedalam kelas Schyzomycetes dan terdiri dari berbagai ordo. Untuk mengidentifikasi bakteri tidak hanyamemperhatikan ukuran, bentuk, warna,

banyak dan letak *flagella*-nya, tetapi juga sifat fisiologisnya yang meliputi bentuk pertumbuhannya pada media agar, pewarnaan Gram, reduksi nitrat, hydrogen sulfida, pembentukan asam dan udara pada berbagai sumber karbon dan sebagainya. Dengan pewarnaan Gram kita dapat membedakan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Diantara bakteri yang meyebabkan penyakit pada tumbuhan hanya *Bacillus* dan *Corynebacterium*sp. ini saja yang Gram positif sedangkan *Agrobacterium*sp., *Erwinia*sp., *Pseudomonas* sp.dan *Xanthomonas*sp. termasuk Gram negatif (Semangun, 1990).

2.2.1 Struktur Bakteri

Struktur bakteri yang paling penting adalah dinding sel. Bakteri dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam *teichoic*.Sementara bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar, lipopolisakarida yang terdiri atas membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis terletak pada periplasma (di antara lapisan luar dan membran sitoplasmik).Beberapa bakteri mampu membentuk endospora yang membuat mereka mampu bertahan hidup pada lingkungan ekstrim. Struktur bakteri terbagi menjadi dua yaitu:

a. Struktur dasar (dimiliki oleh hampir semua jenis bakteri) meliputi: dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA, dan granula penyimpanan
b. Struktur tambahan (dimiliki oleh jenis bakteri tertentu) meliputi kapsul, flagelum, pilus, fimbria, klorosom, vakuola gas dan endospora.

2.2.2 Ciri-ciri Bakteri

Menurut Dewata (2012), bakteri memiliki ciri-ciri yang membedakannnya dengan mahluk hidup lain yaitu organisme *uniseluler*, *prokariot* (tidak memiliki membran inti), umumnya tidak memiliki klorofil, memiliki ukuran rata-rata 1-5 mikron, memiliki bentuk tubuh yang beraneka ragam, hidup bebas atau parasit, yang hidup di

lingkungan ekstrim seperti pada mata air panas, kawah atau gambut dinding selnya tidak mengandung peptidoglikan, yang hidupnya kosmopolit diberbagai lingkungan dinding selnya mengandung peptidoglikan

2.2.3 Mekanisme Infeksi Bakteri pada Tanaman

Semua bakteri patogen tumbuhan adalah berbentuk batang dari tipe bacillus.Panjangnya bervariasi antara 1–3 µm. bakteri patogen memproduksi enzim pelarut dinding sel tumbuhan dan juga memproduksi zat racun. Dinding primer dan lamella tengah pada sel tumbuhan yang berbeda-beda. Bakteri patogen mengahncurkan konsentrasi protoplasma dengan racun.Cara lainnya ialah dengan mengeluarkan suatu zat yang mengandung hormon tertentu yang dapat mengakibatkan sel-sel tumbuhan aktif membelah diri secara berlebih (hipertrofi). Setelah menembus dinding sel, maka isi sel tumbuhan dipergunakannya untuk proses metabolisme dengan terlebih dahulu meresap melalui dinding tubuhnya. Bakteri mempunyai kemampuan mereproduksi individu sel dalam jumlah sangat banyak dengan waktu singkat sehingga menjadi penyebab penyakit yang mempunyai sifat merusak pada inang.Penyebaran bakteri tidak melalui spora, sehingga secara adaptif tidak dapat disebarkan melalui angin.Akan tetapi, bakteri patogenik mampu berpindah dengan perantara air, percikan air hujan, binatang, dan manusia (Dewata, 2012).

2.3 Klasifikasi Bakteri

Menurut Dewata (2012), klasifikasi bakteri meliputi divisi Schizophyta dan kelas Schizomycetes. Sifat utamanya terdiri dari satu sel, berkembang biak terutama dengan membelah dan tidak mempunyai inti sejati. Ada kurang lebih 200 jenis bakteri yang dapat menyebabkan penyakit tanaman. Jenis-jenis bakteri ini terutaama berbentuk batang dan hanya terdiri dari enam genus, yaitu:

- *Agrobacterium* dari famili Rhizobiaceae (Gram negatif)
- *Corynebacterium* dari famili Corynebacteriaceae (Gram positif)
- *Erwinia* dari famili Enterobacteriaceae (Gram negatif)

- *Pseudomonas* dari famili Pseudomonadaceae (Gram negatif)
- *Streptomyces* dari famili Streptomycetaceae (Gram positif)
- *Xanthomonas* dari famili Pseudomonadaceae (Gram negatif)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada bulanOktober2014 sampai dengan bulanDesember 2014 di Laboratorium Bakteriologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian,Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri steril dengan diameter 9 cm, jarum oose,api Bunsen, gunting, tabung reaksi, gelas ukur volum 50 ml, gelas erlenmeyervolum 500 ml, botol simpan, jarum inokulasi (*suntikan)*volum 1 ml, kaca objek+cover, mikroskop, pipet tetes, pinset steril, *autoclave*, microwave, timbangan analitik, dan LAFC.

Bahan yang dipergunakan adalah bagian tanaman (akar, batang, daun) sampel dari tanaman*N. rafflesiana, N. mirabillis,* dan *N. ampullaria*, *Nutrient Agar* (NA),*Nutrient Broth* (NB), spiritus, aquades steril, *tissue* steril, alkohol 70% dan 96%, klorok,larutan KOH 3%, kristal violet, iodin, safranin, parafin, kapas, media King's B, media oksidatif-fermentatif, media Yeast-Dextrose-Carbonat (YDC), tanaman *Nepenthes* untuk uji patogenisitas, dan tanaman tembakau.

3.3 Persiapan Pelaksanaan

Dalam penelitian ini ditentukan sampel isolasi bakteri patogen dari akar, batang, dan daun untuk masing-masing spesies tanaman *Nepenthes*.Setiap bagian tanaman diambil 5 potongan untuk isolat.

Tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah *N. rafflesiana, N. mirabillis,* dan *N. ampullaria.*Masing-masing tanaman memiliki kriteria tanaman yang sakit atau tidak sehat. Sehingga perolehan isolat akan semakin banyak.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

1. Eksplorasi dan Pengambilan Sampel

   Eksplorasi merupakan kegiatan mencari sumberdaya alam agens hayati yang tersebar di alam. Pada prinsipnya adalah pengambilan sampel dari berbagai sampel untuk ditentukan sebagai sumber isolat yang akan diteliti (DITJENBUN, 2013). Eksplorasi ini bertujuan untuk mendapatkan sampel bakteri patogen dari beberapa spesies tanaman *Nepenthes.*

   Sampel ditentukan secara acak didalam Rumah Paranet Kebun Raya Bogor.Tanaman yang ditentukan sebagai sampel memiliki kriteria sebagai tanaman yang tidak sehat atau tanaman yang sedang terinfeksi patogen tanaman.Spesies yang ditentukan sebagai sampel adalah *N. rafflesiana, N. mirabillis,* dan *N. ampullaria.*

2. Sterilisasi Alat dan Bahan

   Sterilisasi merupakan kegiatan wajib dilakukan seorang peneliti.Sterilisasi adalah suatu kegiatan mematikan mikroorganisme yang berada dipermukaan maupun berada didalam benda (Hadioetomo, 1993).Sterilisasi bertujuan untuk membebaskan bahan dari semua mikroba perusak.Sterilisasi cepat dan efektif dilakukan pada tekanan tinggi agar tidak merusak bahan dalam kaleng, selama 10 menit pada suhu tinggi 121^{o}C (Anton, 2008).

   Sterilisasi peralatan dilakukan dengan cara mencuci bersih dengan antiseptic dan dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, dikeringanginkan dan dibungkus dengan kertas. Kemudian diletakkan dalam kantong plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 20 menit dengan suhu 121^{o}C dan tekanan 1 atm untuk mematikan mikroorganisme yang ada pada peralatan yang akan digunakan. Sedangkan untuk bahan yang digunakan sebagai sampel, pertama dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel dipermukaan bahan. Kemudian direndam dengan NaOCl selama 5 menit.Direndam kembali dengan alkohol 96% selama 5 menit.Terakhir direndam dengan aquades steril untuk menghilangkan aroma NaOCl dan alkohol.

3. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni (Lim, 1990). Isolasi dilakukan pada sampel daun, batang, dan akar tanaman yang terinfeksi penyakit guna untuk mendapatkan isolat bakteri patogen pada bagian tersebut.

Bagian tanaman (akar, batang, dan daun) yang sakit dipotong sepanjang 1 cm lalu dicuci dengan air mengalir. Setelah pencucian, dilakukan sterilisasi permukaan dengan merendamnya dalam klorok (NaOCl) selama 1 menit, dilanjutkan ke dalamalkohol 96% selama 1 menit, dan dibilas dengan aquades selama 1 menit. Kemudian dikeringkan dengan *tissue*steril.Setelah sterilisasi permukaan, kemudian potongan sampel ditanam dalam cawan yang telah berisi media NA.Dilanjutkan dengan menutupnya dengan plastik *wrapping* untuk mencegah terjadinya kontaminasi.Sampel diinkubasikan selama 24-48 jam.

4. Pemurnian Bakteri

Purifikasi atau disebut juga pemurnian adalah pemisahan satu jenis mikroorganisme patogen dari media inokulasi yang terdiri mungkin saja, dari beberapa macam mikroorganisme dalam satu media, purifikasi ini dilakukan untuk memudahkan dalam pengidentifikasian patogen tersebut (Semangun. 1996). Purifikasi isolat patogen adalah suatu cara untuk memisahkan satu patogen dari patogen lainnya yang tujuannya untuk mendapatkan biakan yang murni (Agrios. 2005).

Isolat hasil dari isolasi dimurnikan pada media baru dengan metode *streak plate*untuk mendapatkan biakan murni.Isolat yang diambil adalah isolat yang tumbuh pada bagian tanaman yang ditanam atau diisolasi. Kemudian diinkubasikan selama 24 hingga 48 jam dan dilakukan pengamatan terhadap morfologi bakteri pada media biakan. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warna disubkultur atau dimurnikan lagi hingga diperoleh koloni murni.

5. Uji Patogenisitas

Merupakan pengujian untuk membuktikan apakah suatu bakteri hasil isolasi termasuk patogen atau bukan.Uji ini membedakan bakteri patogen dan bakteri saprofit sekunder.Tahapan yang dilakukan adalah dengan menginokulasikan suspensi bakteri 10^8 sel/ml yang diduga patogen pada tanaman inang bakteri tersebut.Bagian tanaman yang diinokulasi harus disesuaikan dengan jenis bakteri yang menyerang bagian tertentu dari tanaman(Kerr, 1980).

6. Uji Reaksi Hipersensitif

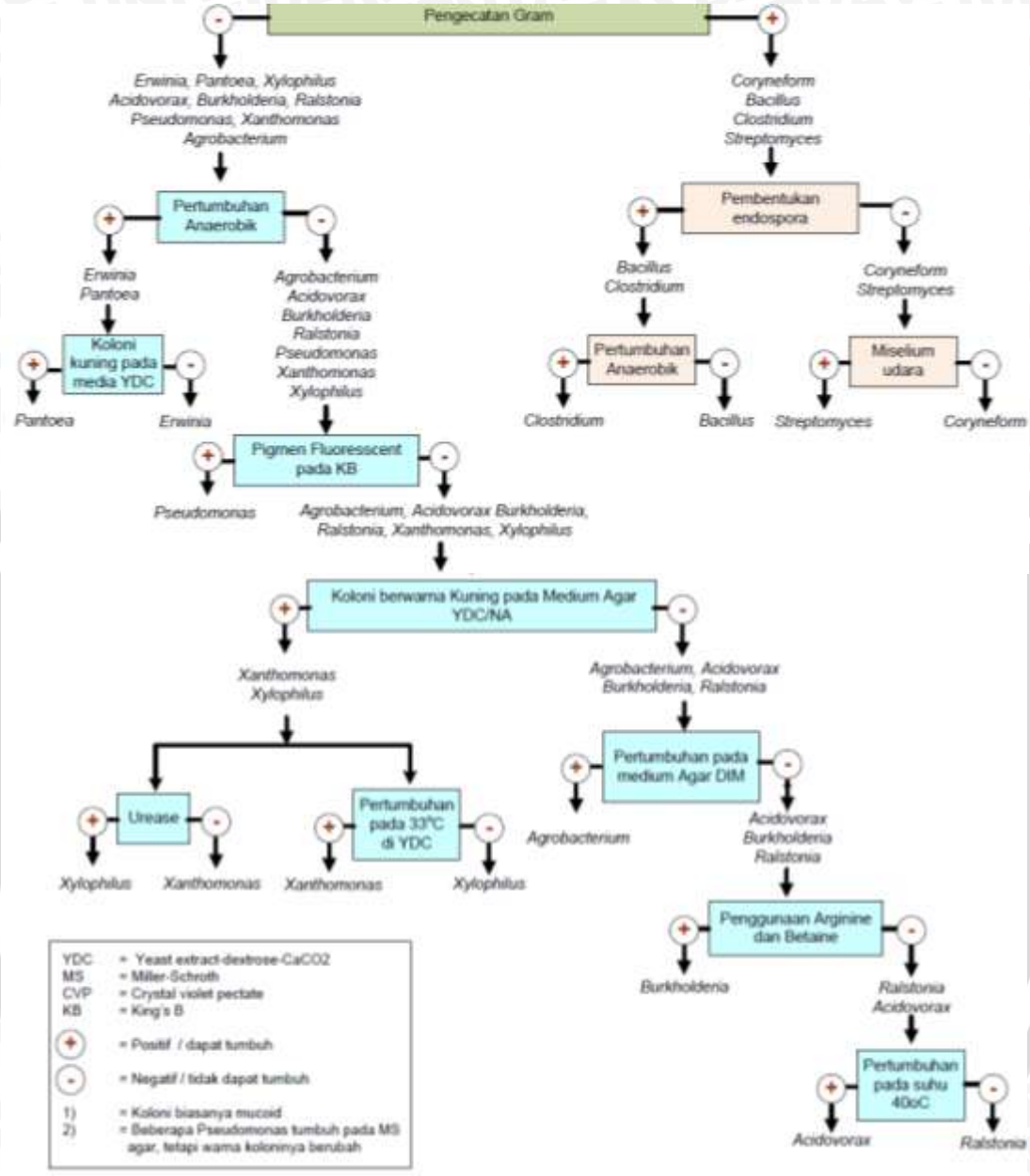
Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang ditemukan merupakan bakteri patogen tanaman apa bukan. Pengujian reaksi hipersensitif dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri dari biakan yang telah diinkunbasikan 48 jam, kemudian membuat suspensi cair 10^8 sel/ml. Hasil dari pengenceran tersebut diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau yang berumur sedang. Reaksi positif terlihat jika pada bagian yang diinfiltrasi supensi bakteri terjadi nekrosis (Klement, 1990).

7. Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk, tepi, warna, dan permukaan koloni. Bakteri yang diamati ditumbuhkan pada media NA dan berumur 48 jam.Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui morfologi koloni bakteri agar bisa diidentifikasi secara morfologi dengan perbandingan yang sudah ada sebelumnya.

8. Karakterisasi Bakteri

Dengan adanya karakterisasi bakteri, maka bisa dilakukan identifikasi dengan cara membandingkan sifat-sifat fisiologi bakteri yang didapatkan dengan kunci identifikasi yang telah ada. Penentuan genus (Gambar 6) yang mudah dan relatif cepat dapat menggunakan metode yang dipakai oleh Schaad *et al.*(2001). Beberapa metode yang digunakan adalah sebagai berikut:



Gambar 6.Bagan identifikasi bakteri tingkat genus menurut Schaad*et al.* (2001)

a. Uji Gram dengan Pengecatan Gram

Biakan murni bakteri patogen umur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas objek yang telah disterilkan dan difiksasi diatas api Bunsen hingga kering. Kemudian dilakukan pengecatan dengan Kristal violet sebanyak 1 tetes selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan diatas api Bunsen. Selanjutnya, ditetesi dengan larutan iodine selama 1 menit kemudian

dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan.Kemudian ditetesi alkohol 70% sebagai larutan peluntur selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan.Pengecatan selanjutnya menggunakn safranin selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Setelah itu amati dibawah mikroskop dan ditetesi minyak immersi. Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah (Schaad*et al.*, 2001).

b. Uji Kelarutan KOH 3%

Biakan murni bakteri patogen umur 24 jam disuspensikan diatas gelas objek yang sebelumnya telah ditetesi dengan KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri ditarik-tarik ke atas dengan meggunakan jarum oose.Reaksi positif terjadi apabila bakteri tidak membentuk benang dan reaksi negatif terjadi jika suspensi bakteri membentuk benang (Schaad*et al.*, 2001).

c. Uji Oksidatif-Fermentatif

Biakan murni bakteri patogen umur 24 jam ditusukkan pada 2 tabung reaksi yang telah berisi media padat oksidatif-fermentatif sebanyak 4,5 ml dan 0,5 ml glukosa 5% steril. Salah satu tabung kemudian ditutup dengan parafin dan diinkubasi selama 7-14 hari.Jika terjadi peruahan warna menjadi kuning pada media yang tidak ditutup dengan parafin maka reaksi bersifat oksidatif, sedangkan perubahan warna terjadi pada kedua tabung maka reaksi bersifat fermentatif (Schaad*et al.*, 2001).

d. Uji Produksi Pigmen Flourescent

Biakan bakteri ditumbuhkan pada media selektif King's B dengan metode *streak plate* dan diinkubasikan selama 48 jam, kemudian biakan bakteri yang tumbuh diamati di bawah sinar ultra violet (UV). Reaksi produksi pigmen fluorescent yang bersifat positif jika bakteri memproduksi pigmen hijau kekuningan yang berpendar di bawah sinar UV (Schaad*et al.*, 2001).

e. Uji Pertumbuhan pada Media Yeast-Dextrose-Carbonat (33^{o}C)

Yeast Dextrose Carbonat (YDC) merupakan media semi selektif untuk pertumbuhan bakteri *Xanthomonas* sp. dan menjadi uji untuk membedakan antara bakteri *Xanthomonas* sp. dengan*Xylophilus* sp. Bakteri uji digoreskan pada media YDC yang kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 33ºC. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri berwarna kuning pada media (Schaad*et al.*, 2001).

9. Identifikasi Bakteri Patogen

Setelah dilakukan karakerisasi tersebut sebelumnya, kemudian dilakukan identifikasi tingkat genus secara fisiologi dengan pengujian biokimia pada bakteri patogen yang diperoleh dengan dibandingkan dengan karakterisasi bakteri patogen menurut Schaad*et al.* (2001).Kemudian didapatkan hasil identifikasi hingga tingkat genus.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Gejala

a. Gejala pada *N. mirabilis*

Gambar 7. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun spesies*N. mirabilis*

Gejala penyakit pada bagian daun ini mula-mula bercak warna cokelat, mudah sobek dan licin jika digesek, dan akhirnya akan mati karena menyebar ke seluruh helai daun. Penyakit ini sering ditemukan pada *N. mirabilis* karena morfologi daun yang agak tipis dan lentur tidak kaku seperti spesies *Nepenthes* yang lain. Penyakit ini sering muncul pada kondisi lingkungan kelembaban tinggi dan ternaungi.Hal ini memungkinkan bakteri menginfeksi dengan mudah.

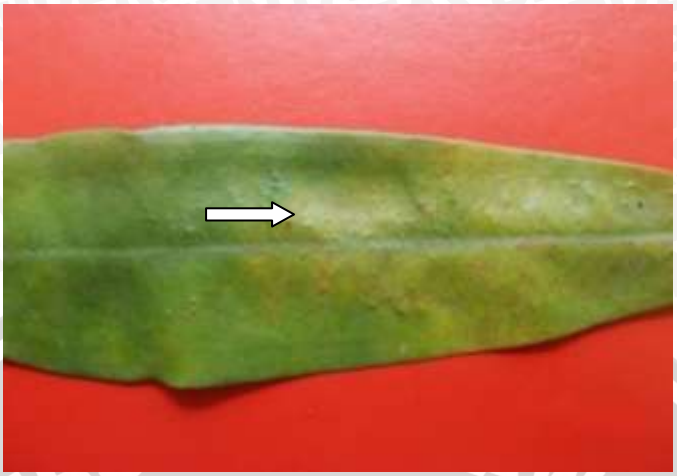
Gejala ini hampir sama dengan gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia* sp. pada anggrek bulan. Seperti yang dikemukakan oleh Handayati *et al.* (2008), bahwa gejala bintik kecil berair dan berwarna cokelat muncul pada daun serta dikelilingi warna kuning (Gambar 7). Infeksi akan cepat menyebar dan menimbulkan batang dan akar membusuk. Masa bakteri akan terlihat jika daun yang terinfeksi direndam dalam air.

b. Gejala pada *N. ampullaria*

Gambar 8.Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian batang spesies*N. ampullaria.*

Gejala penyakit bakteri yang menyerang batang *N. ampullaria* ini ditunjukkan dengan adanya warna kehitaman pada batang (Gambar 8), kemudian jika serangan parah batang menjadi busuk hingga mengering, akhirnya tanaman mati.Gejala ini sering disamakan dengan gejala *burning* akibat paparan sinar matahari karena gejala parah penyakit ini mengakibatkan mengeringnya semua duan dan batang sehingga mirip dengan gejala *burning*.Tetapi perbedaan dari gejala ini adalah jika *burning* biasanya langsung membuat daun mengering, sedangkan gejala penyakit ini berawal dari menghitamnya batang tanaman.

Gejala yang ditimbulkan pada *N. ampularia* ini hampir sama dengan gejala yang diakibatkan oleh bakteri *Pseudomonas* pada anggrek yaitu gejala dapat muncul dimana saja terutama pada daun, awalnya berwarna hijau kotor, kemudian infeksi menyebar dan akhirnya berwarna cokelat kehitaman dan kemudian mengering. Penyakit ini sering muncul selama cuaca hangat (Bottom, 2010).



Gambar 9. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun spesies*N. ampullaria*

Untuk gejala pada daun ditunjukkan dengan warna kuning yang tidak terbatas seperti karat yang merata (Gambar 9).Gejala ini belum teridentifikasi secara jelas.Berawal dengan munculnya bintik kuning pada daun dan semakin lama bintik kuning melebar tanpa batas yang jelas.Perkembangan selanjutnya adalah berubah menjadi cokelat basah dan mengering. Jika daun direndam dalam air, maka masa bakteri akan terlihat.

Gejala yang terlihat pertama menguning(klorosis) di sepanjang tepi daun membentuk huruf V yang merupakan karakteristik penyakit ini pada *Anthurium*(Norman dan Ali, 2012).Sedangkan menurut Lingga (2007) daun *Anthurium* yang terinfeksi menunjukkan warna menguning yang berubah menjadi bercak cokelat.Pada perkembangan selanjutnya, bercak meluas dengan gejala bercak bagian luar mengering sementara bagian dalam yang muncul lebih awal tetap basah.

c. Gejala pada *N. rafflessiana*

Gambar 10. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian batang spesies *N. rafflessiana*\

Gejala penyakit ini hampir mirip dengan gejala penyakit pada *N. ampullaria*, yaitu batang berwarna cokelat hingga hitam (Gambar 10).Serangan parah mengakibatkan pucuk mati dan tidak bisa tumbuh. Tetapi berbeda dengan penyakit pada *N. ampullaria*, penyakit ini tidak mengakibatkan tanaman mengering, tetapi gejala tetap sama dengan awal infeksi, yaitu berwarna hitam tetapi tetap sedikit basah. Bakteri yang menyebabkan penyakit ini diduga bakteri dari genus *Pseudomonas* juga, karena isolat yang diperoleh mampu memproduksi pigmen fluorescent pada media King's B dan berpendar hijau saat diamati dibawah sinar UV.

Gejala yang sama juga dikemukakan oleh Iswanto (2002) penyakit bercak cokelat pada anggrek Catleya disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas cattleyae* pav. *Savul.*Serangan bakteri ini ditandai dengan terjadinya bercak lunak kebasahan, kemudian berubah menjadi cokelat atau hitam.Serangan bakteri ini dapat menyebabkan kematian tanaman.Penyakit ini dapat menular melalui percikan air.

Gambar 11. Gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen pada bagian daun spesies *N. rafflessiana*

Penyakit ini bermula dengan bercak kuning hingga jingga tua, kemudian melebar hingga seluruh helai daun (Gambar 11).Serangan berat mengakibatkan daun layu dan gugur.Diduga penyebab penyakit ini adalah bakteri dari genus *Xanthomonas.*Karena gejala hampir mirip dengan gejala penyakit pada *N. ampularia* (Gambar 9).Gambar 11 menunjukkan gejala berat karena seluruh helai daun berwarna jingga tua.

Agrios (2005) mengatakan beberapa penyakit yang disebabkan bakteri disebut juga dengan hawar daun.Awalnya bintik nekrotik muncul, melingkar.Dalam beberapa gejala bintik nekrotik dikelilingi dengan warna kuning.Pada infeksi berat, hawar menyebar luas dan merusak permukaan tanaman.Pendapat Sudir *et al*. (2012) yaitu gejala kresek maupun hawar pada *Anthurium* dimulai dari tepi daun, berwarna keabu-abuan dan lama-lama daun menjadi kering.

4.2 Hasil Eksplorasi

Eksplorasi ini bertujuan untuk mendapatkan sampel tanaman yang akan dijadikan sebagai sumber isolat bakteri patogen dari bagian daun, batang dan akar tanaman *Nepenthes.*Berdasarkan hasil eksplorasi yang dilakukan pada bulan Agustus 2014, ditemukan ada 2 penyakitpada *N. mirabilis*, 4 penyakit pada *N. ampularia*, 6 penyakit pada *N. rafflessiana.* Masing-masing penyakit menginfeksi batang dan daun tanaman (Tabel 1).Dari eksplorasi yang

dilakukan, tidak ditemukannya penyakit pada bagian akar tanaman. Diduga hal ini disebabkan oleh terbatasnya jumlah tanaman *Nepenthes* di rumah kaca dan sedikitnya penyakit yang menginfeksi akar bahkan tidak ada sama sekali.

Tetapi bagian akar tetap dijadikan sebagai sampel isolat bakteri dari akar.Dari 3 spesies yang didapatkan, masing-masing akar tanaman diisolasi untuk mendapatkan isolat bakteri yang diduga sebagai patogen, karena selama penyimpanan sampel, terjadi infeksi pada beberapa akar dari tanaman sampel.Untuk membuktikan bahwa infeksi tersebut disebabkan oleh bakteri, maka isolat bakteri dari bagian akar tetap diujikan pada tanaman sehat.

Tabel 1.Bagian Tanaman yang Terinfeksi Penyakit pada 3 Spesies*Nepenthes*.

Spesies	Bagian terinfeksi	Kode	Deskripsi Gejala
N. mirabilis	Daun	MD	Bercak cokelat hingga hitam basah batas jelas
	Batang	MB	Batang berwana cokelat tua dan keriput
N. ampularia	Daun	A1D	Bercak kuning kecokelatan
	Batang	A1B	Batang menghitam kebasahan
	Daun	A2D	Bintik kuning hingga karat tidak terbatas
	Batang	A2B	Batang berwarna cokelat keriput
N. rafflessiana	Daun	R1D	Bintik kuning hingga merah merata
	Batang	R1B	Busuk hitam pucuk
	Daun	R2D	Seperti hawar berwarna cokelat batas jelas
	Batang	R2B	Batang berwarna cokelat agak basah
	Daun	R3D	Bintik kuning seperti karat batas- tidak terlalu jelas
	Batang	R3B	Batang bengkak berwarna cokelat hingga hitam

Keterangan: Kode isolat MD (mirabilis daun), MB (mirabilis batang), AD (ampullaria daun), AB (ampullaria batang), RD (rafflessiana daun), dan RB (rafflessiana batang).

Kondisi di rumah kaca khususnya iklim mikro pertanaman *Nepenthes* rata-rata bersuhu 25^{o}C dengan kelembaban mencapai rata-rata 86%. Pengukuran ini dilakukan dengan menggunakan RHmeter dan Thermometer yang tersedia.Hal ini dilakukan untuk mengetahui kondisi lingkungan *Nepenthes* yang dibudidayakan serta untuk mengetahui pengaruh iklim mikro terhadap timbulnya penyakit pada *Nepenthes*.Sinaga (2003) mengatakan bahwa

salah satu faktor yang mempengaruhi terjadinya epidemi penyakit tumbuhan adalahadanya kondisi lingkungan yang sesuai untuk reproduksi, penyebaran, dan infeksi patogen.Faktor lingkungan ini terutama temperatur, kelembaban, curah hujan, angin, dan sebagainya. Sama hanya dengan pendapat Agrios (2005) bahwa patogen akan timbul dan berkembang pada suhu yang bagi tumbuhan sulit untuk berkembang.

4.3 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Isolasi bertujuan untuk mendapatkan biakan bakteri murni yang diduga sebagai bakteri patogen dari bagian tanaman yang terinfeksi.Isolasi dilakukan dengan mengkultur bagian daun, batang dan akar yang terinfeksi pada media NA (media umum bakteri) steril secara aseptik agar bakteri yang tumbuh benar-benar bakteri dari bagian yang dikulturkan.Setelah bagian yang dikultur tumbuh bakteri yang benar-benar keluar dari bagian tersebut, maka dilakukan pemurnian bakteri yang dimaksudkan untuk memperbanyak dan memurnikan bakteri yang telah didapatkan dari hasil isolasi.

Dari hasil isolasi yang telah dilakukan, didapatkan isolat bakteri dari bagian daun, batang dan akar (Tabel 2).Akan tetapi pada beberapa isolat terdapat bagian tanaman yang tumbuh jamur.Hal ini kemungkinan karena bagian yang dikultur telah terinfeksi jamur sebelumnya, sehingga sewaktu isolasi yang tumbuh jamur. Hanya isolat bakteri yang dimurnikan pada media NA yang baru dengan metode cawan gores (*streak method)*.Dengan menggunakan metode ini, maka akan didapatkan koloni tunggal dari isolat bakteri yang didapatkan.

Tabel2. Isolat yang Tumbuh dari Bagian Daun, Batang, Akar

Isolat	Isolat yang tumbuh	
	Bakteri	Jamur
MD	+	-
MB	+	-
MA	+	-
A1D	+	+
A1B	+	-
A1A	+	-
A2D	+	-
A2B	+	+
A2A	+	-
R1D	+	-
R1B	+	-
R1A	+	-
R2D	+	-
R2B	+	-
R2A	+	-
R3D	+	-
R3B	+	-
R3A	+	-

Keterangan: Tanda positif (+) menunjukkan pertumbuhan isolat, sedangakan tanda negatif (-) menunjukkan tidak ada pertumbuhan isolat. Bakteri dan jamur yang tumbuh merupakan isolat asli dari bagian tanaman yang dikultur dan bukan karena kontaminasi.Untuk kode isolat MD (mirabilis daun), MB (mirabilis batang), MA (mirabilis akar), AD (ampullaria daun), AB (ampullaria batang), AA (ampularia akar), RD (rafflessiana daun), RB (rafflessiana batang), dan RA (rafflessiana akar).

4.4 Hasil Uji Patogenisitas

Tujuan uji patogenisitas ini adalah untuk membuktikan bahwa isolat yang didapatkan apakah bisa menimbulkan gejala yang sama dengan gejala penyakit yang ditemukan sebelumnya. Uji patogenisitas dilakukan dengan menginjeksikan suspensi bakteri murni berumur 24 jam ke bagian daun, batang dan akar pada tanaman inang yang sama. Setiap isolat bakteri diinjeksikan pada bagian tanaman dalam satu tanaman sehat.Misalnya isolat dari bagian daun diinjeksikan pada daun di satu tanaman sehat.Hal ini dimaksudkan untuk mempermudah pengamatan pada infeksi oleh satu isolat bakteri pada satu tanaman, sehingga memaksimalkan gejala yang muncul hanya dari satu isolat yang diinjeksikan.

Tabel 3. Hasil Uji Patogenisitas

Isolat	Hasil	Dokumentasi
MD	Bergejala sama dengan gejala awal	
MB	Tidak bergejala	
MA	Tidak bergejala	
A1D	Tidak bergejala	
A1B	Bergejala sama dengan gejala awal	

Berlanjut…

Lanjutan

Isolat	Hasil	Dokumentasi
A1A	Tidak bergejala	
A2D	Bergejala sama dengan gejala awal	
A2B	Tidak bergejala	
A2A	Tidak bergejala	
R1D	Tidak bergejala	

Berlanjut…

Lanjutan

Isolat	Hasil	Dokumentasi
R1B	Bergejala sama dengan gejala awal	
R1A	Tidak bergejala	
R2D	Tidak bergejala	
R2B	Tidak bergejala	
R2A	Tidak bergejala	

Berlanjut…

lanjutan

Isolat	Hasil	Dokumentasi
R3D	Bergejala sama dengan gejala awal	
R3B	Tidak bergejala	
R3A	Tidak bergejala	

Keterangan:Lingkaran hitam merupakan bagian gejala yang muncul.Untuk kode isolat MD (mirabilis daun), MB (mirabilis batang), MA (mirabilis akar), AD (ampullaria daun), AB (ampullaria batang), AA (ampularia akar), RD (rafflessiana daun), RB (rafflessiana batang), dan RA (rafflessiana akar).

Dari 18 isolat bakteri yang diujikan, hanya lima isolat yang menimbulkan gejala penyakit (Tabel 3). Hal ini diduga karena isolat bakteri yang didapatkan bukan merupakan bakteri patogen tanaman, melainkan merupakan bakteri saprofit atau endofit tanaman.

4.5 Hasil Uji Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif bertujuan untuk mengetahui tingkat virulensi bakteri, dan apakah bakteri tersebut benar merupakan bakteri patogen tanaman.Reaksi hipersensitif adalah respon ketahanan tanaman untuk melokalisasi bakteri sehingga tanaman dapat mengatasi serangan berbagai jenis bakteri yang berpotensi menyebabkan penyakit (Schaad *et al.*, 2001).

Tabel 4. Hasil Uji Reaksi Hipersensitif pada Daun Tanaman Tembakau

Isolat	Reaksi Hipersensitif	Dokumentasi
MD	Positif	
A1B	Positif	
A2D	Positif	
R1B	Positif	
R3D	Positif	

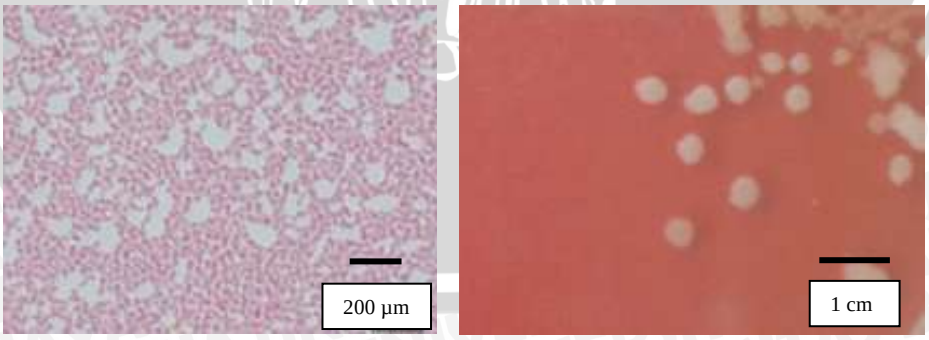
Keterangan: Reaksi positif merupakan reaksi hipersensitif dengan tanda kematian sel pada daerah infiltrasi (nekrosis).Untuk kode isolat MD (mirabilis daun), AD (ampullaria daun), AB (ampullaria batang), RD (rafflessiana daun), dan RB (rafflessiana batang).

Sebagian besar bakteri patogen mampu menimbulkan gejala nekrotik atau hipersensitif ketika diinfiltrasikan ke jaringan daun tanaman tembakau.Reaksi ini merupakan teknik yang baik untuk membedakan jenis bakteri patogen dan bakteri non patogen.Dari kelima isolat bakteri yang telah diujikan, semuan isolat menimbulkan reaksi hipersensitif dengan ditunjukkan adanya nekrosis pada daerah infiltrasi setelah kurang lebih 48 jam setelah inokulasi (Tabel 4). Hal ini membuktikan bahwa kelima isolat merupakan bakteri patogen tanaman.Agrios (2004) mengatakan bahwa daun yang tidak menunjukkan perubahan warna (nekrotik) di titik inokulasi merupakan bakteri yang bersifat non patogen, sedangkan daun yang menunjukkan perubahan warna (nekrotik) di titik inokulasi merupakan bakteri patogen.Hal ini terjadi karena tumbuhan mengaktifkan enzim-enzim sebagai bentuk pertahanan tumbuhan terhadap patogen.

4.6 Hasil Karakterisasi

4.6.1 Morfologi

Pengamatan karakteristik morfologi koloni maupun sel bakteri bertujuan untuk mengetahui karakter dan ciri bakteri yang didapatkan untuk keperluan identifikasi bakteri.Pengamatan morfologi sel meliputi bentuk sel bakteri ketika diamati dibawah mikroskop.Sedangkan pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk, tepi, warna, dan permukaan.



a b

Gambar 12.Morfologi isolat bakteri.Bentuk sel bakteri dengan perbesaran 100x (a) dan ukuran koloni bakteri pada media NA (b)

Dari hasil pengamatan yang dilakukan, kelima isolat merupakan Gram-negatif karena saat dilakukan pewarnaan Gram berwarna merah, serta berbentuk batang.Sedangkan morfologi koloni bakteri (Tabel 5)berbentuk bulat rata dengan warna yang sedikit berbeda.Bakteri yang diamati berumur 48 jam pada media NA.

Tabel 5. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Bakteri

Isolat	Bentuk bakteri	Morfologi koloni				
		Bentuk	Tepi	Warna	Permukaan	Ukuran (cm)
MD	Batang	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	0,2
A1B	Batang	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	0,1
A2D	Batang	Bulat	Rata	Putih kekuningan	Cembung	0,4
R1B	Batang	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	0,1
R3D	Batang	Bulat	Rata	Putih krem	Cembung	0,3

Keterangan: Untuk kode isolat MD (mirabilis daun), AD (ampullaria daun), AB (ampullaria batang), RD (rafflessiana daun), dan RB (rafflessiana batang).

Sebagian besar koloni bakteri yang tumbuh memiliki ciri-ciri yang hampir sama, seperti tepi koloni rata atau halus, bentuk koloni yang membulat, warna koloni putih sedikit kekuningan maupun agak krem, serta permukaan koloni yang cembung.Ketika diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x, bakteri berbentuk batang (basil). Pada isolat A2D dan R3D memiliki kemiripan warna koloni dan ukuran koloni yaitu berwarna agak kuning dan berukuran 0,3 cm. Sama halnya dengan isolat A1B dan R1Byang berwarna putih susu dan berukuran 0,1 cm.

4.6.2 Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi fisiologi dan biokimia memiliki tujuan untuk memperoleh aktifitas biokimia yang bisa dijadikan sebagai dasar identifikasi bakteri.Brenner *et al*. (2005) mengatakan bahwa bakteri memiliki berbagai aktivitas biokimia untuk pertumbuhan dan perbanyakan dengan menggunakan nutrisi yang diperoleh dari lingkungan sekitarnya. Aktivitas biokimia ini diamati secara fisiologi sehingga dapat digunakan untuk proses identifikasi.

Tabel 6. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

Uji fisiologi dan biokimia		Isolat				
		MD	A1B	A1D	R1B	R3D
Uji Gram	KOH 3%	-	-	-	-	-
	Pewarnaan Gram	-	-	-	-	-
Pertumbuhan anaerob (OF)		+	-	-	-	-
Produksi Pigmen Fluorescent		-	+	-	+	-
Pertumbuhan pada YDC		-	T	+	T	+
Pertumbuhan pada suhu 33^{o}C		T	T	+	T	+

Keterangan: simbol negatif (-) adalah dapat tumbuh, positif (+) adalah tidak dapat tumbuh, dan T adalah tidak dilakukan pengujian.Untuk kode isolat MD (mirabilis daun), AD (ampullaria daun), AB (ampullaria batang), RD (rafflessiana daun), dan RB (rafflessiana batang).

Uji Gram

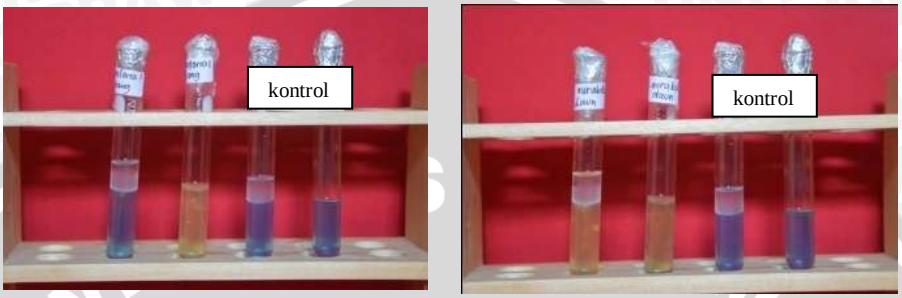
a b

Gambar 13.Pengujian Gram dengan kelarutan KOH 3% (a) dan pewarnaan Gram (b)

Dari hasil pengujian Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram, diperoleh hasil yang sama yaitu semua isolat merupakan bakteri Gram negative (Tabel 6). Agrios (2005) mengatakan reaksi Gram membedakan jenis bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Bakteri Gram-positif mempertahankan warna ungu dari kristal violet karena mempunyai komponen peptidoglikan kompleks pada dinding sel. Sedangkan bakteri Gram-negatif memiliki komponen peptidoglikan yang lebih tipis sehingga warna ungu akan luruh ketika dibilas dengan alkohol. Bakteri dari genus *Agrobacterium, Erwinia, Pseudomonas, Ralstonia, Xanthomonas* dan *Xylella* merupakan Gram-negatif.Sedangkan bakteri patogen yang relatif tidak penting pada tanaman seperti genus *Arthrobacter, Bacillus* dan *Rhodococcus* merupakan Gram-positif.Schaad

et al. (2001) juga mengatakan bahwa bakteri dari genus *Erwinia, Ralstonia, Pseudomonas, Xanthomonas, Agrobacterium, Pantoea,* dan *Acidovorax* merupakan bakteri jenis Gram-negatif.

Uji Oksidatif-Fermentatif

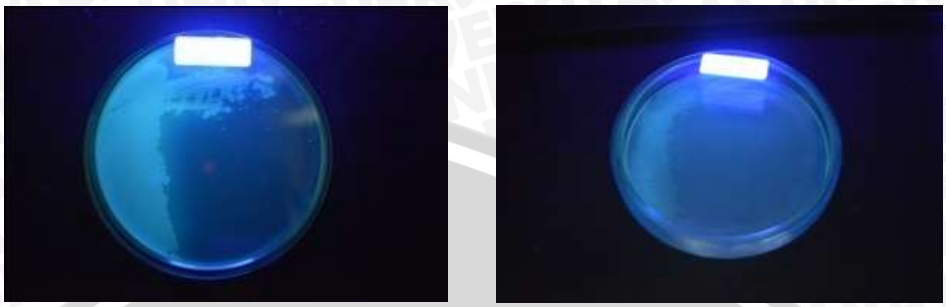


a b

Gambar 14. Pengujian Oksidatif-Fermentatif, Reaksi Oksidatif (a) dan Reaksi Fermentatif (b)

Pengujian ini dilakukan guna untuk mengetahui isolat bakteri yang ditumbuhkan merupakan bakteri aerob ataukah anaerob.Dari hasil pengujian didapatkan isolat MD merupakan bakteri yang mampu tumbuh pada kondisi aerob maupun anaerob (reaksi fermentatif) sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri isolat MD diduga merupakan genus *Erwinia.*Sedangkan untuk isolat A1B, A2D, R1B, dan R3D hanya mampu tumbuh pada kondisi aerob (reaksi oksidatif).Schaad*et al.* (2001) mengatakan bahwa bakteri dari genus *Erwinia* dan *Pantoea* merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada kondisi anaerob maupun aerob.Untuk membedakan genus tersebut diperlukan uji pertumbuhan pada media YDC dengan indikator warna kuning untuk genus *Pantoea* dan warna putih untuk genus *Erwinia.*Pendapat ini juga diperkuat oleh Janse (2005) bahwa bakteri yang diinokulasikan pada dua tabung berisi media glukosa sebagai sumber karbon dan satu tabung dtambahkan dengan parafin steril maka metabolisme oksidatif dan fermentatif dapat dideteksi. Seperti bakteri genus *Pseudomonas* dan *Xanthomonas* bisa tumbuh pada kondisi aerob (O^+F^-), sedangkan bakteri genus *Erwinia* mampu tumbuh pada keadaan anaerob serta aerob (O^+F^+).

Uji Produksi Pigmen Fluorescent



a b

Gambar 15. Pengujianproduksi pigmen fluorescent, bakteri yang berpendar (a) dan bakteri yang tidak berpendar (b)

Dari kelima isolat yang ditumbuhkan pada media King's B, hanya isolat A1B dan R1B yang memproduksi pigmen fluorescent.Sedangkan isolat MD, A2D, dan R3D tidak memproduksi pigmen fluorescent.Hal ini diketahui ketika dilakukan pengamatan dibawah sinar UV dalam ruang gelap. Biakan bakteri akan berpendar berwarna hijau terang jika memproduksi pigmen fluorescent.Sehingga isolat A1B dan R1B diduga merupakan bakteri dari genus *Pseudomonas.*Sama halnya yang dikemukakan oleh Schaad*et al*. (2001) bahwa karakter khas dari semua spesies *Pseudomonas* adalahproduksi pigmen fluorescent, yang dapat terlihat pada media rendah zat besi, seperti King's B. Agrios (2005) pun mengatakan bahwa spesies *Pseudomonas* patogen tanaman ketika ditumbuhkan pada media rendah zat besi, memproduksi warna kuning kehijauan yang terdifusi dari pigmen fluorescent.

Pertumbuhan Pada Media YDC dan Suhu 33^{o}C

a b

Gambar 16. Pengujian pertumbuhan pada media YDC (a) dan inkubasi pertumbuhan pada suhu 33^{o}C (b)

Pengujian pada media YDC ini bertujuan untuk mengetahui Genus Bakteri *Erwinia* dan *Xanthomonas.*Ketika isolat bersifat Fermentatif, maka dilakukan uji lanjutan dengan pertumbuhan pada media YDC.Jika bakteri yang tumbuh berwarna kuning, maka bakteri merupakan dari genus *Pantoea* dan jika bakteri yang tumbuh tidak berwarna kuning, maka bakteri merupakan dari genus *Erwinia.*Begitu juga dengan pengujian setelah produksi pigmen fluorescent, dilanjutkan dengan uji pertumbuhan media YDC dengan suhu 33^{o}C untuk membedakan genus bakteri *Xanthomonas* dan *Xylophilus.*Bakteri genus *Xanthomonas* akan tetap tumbuh pada suhu 33^{o}C dengan warna kuning pada media YDC, tetapi sebaliknya dengan genus *Xylophilus* yang tidak berwarna kuning pada media YDC dan tidak dapat tumbuh pada suhu 33^{o}C.

Dari hasil uji ditemukan bahwa isolat MD merupakan bakteri genus *Erwinia* karena tidak berwarna kuning pada media YDC.Sedangkan isolat A2D dan R3D merupakan bakteri genus *Xanthomonas* karena bisa tumbuh pada suhu 33^{o}C dan berwarna kuning pada media YDC.Schaad*et al.* (2001) mengatakan bahwa bakteri yang bersifat fermentatif ketika ditumbuhkan pada media YDC berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Pantoea.*Jika bakteri tidak berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Erwinia.*Sedangkan untuk bakteri yang tidak memproduksi pigmen

fluorescent jika ditumbuhkan pada media YDC dengan suhu 33^{o}C berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Xanthomonas.*

Tabel 7. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia Berdasarkan Schaad *et al.* (2001)

Uji fisiologi dan biokimia		Bakteri		
		Erwinia	*Pseudomonas*	*Xanthomonas*
Uji Gram	KOH 3%	-	-	-
	Pewarnaan Gram	-	-	-
Pertumbuhan anaerob (OF)		+	-	-
Produksi Pigmen Fluorescent		-	+	-
Pertumbuhan pada YDC		-	-	+
Pertumbuhan pada suhu 33^{o}C		-	-	+

Keterangan: simbol negatif (-) adalah dapat tumbuh dan simbol positif (+) adalah tidak dapat tumbuh.

Dari kelima isolat bakteri, terdapat perbedaan pada hasil pengujian yang dilakukan (Tabel 6).Isolat MD merupakan bakteri Gram negatif, bakteri yang dapat tumbuh secara anaerob dan aerob, dan tidak memproduksi pigmen fluorescent.Isolat A1B dan R1B merupakan bakteri Gram negatif, bakteri yang tumbuh secara aerob, dan memproduksi pigmen fluorescent.Sedangkan untuk isolat A1D dan R3D merupakan bakteri Gram negatif, tumbuh secara aerob, dan tidak memproduksi pigmen fluorescent.

Karakteristik tersebut sesuai dengan Schaad*et al.* (2001), bahwa genus *Erwinia* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dan bisa tumbuh pada keadaan anaerob (Tabel 7).Sama halnya pendapat Hardyanto (2010) bahwa bakteri *Erwinia carotovora*pv. *carotovora*(Jones) Dye. adalah bakteri patogenik tumbuhan yang bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat dan menyebabkan busuk lunak pada tanaman famili Solanaceae.Bakteri ini menyerang jaringan tanaman pada umumnya melalui pelukaan dan juga dapat melalui lubang alami.

Sedangkan genus *Pseudomonas* merupakan bakteri Gram negatif, membentuk lendir pada uji KOH 3% dan memproduksi pigmen fluorescent.Karakteristik utama dari genus ini adalah dapat memproduksi pigmen fluorescent. Hal ini dibuktikan dengan pendapat Janse (2005)

yang mengatakan bahwa ciri khas bakteri *Pseudomonas* patogen tanaman adalah saat ditumbuhkan pada media King's B maka akan menghasilkan pigmen fluorescent.

Genus *Xanthomonas* merupakan bakteri Gram negatif yang tumbuh pada kondisi aerob, tidak memproduksi pigmen fluorescent dan berwarna kuning pada media YDC.Sedangkan morfologi koloni yaitu berbentuk bulat, tepi koloni yang rata atau halus, berwarna putih krem hingga kekuningan serta permukaan cembung.Agrios (2005) mengatakan bahwa semua spesies dari kelompok *Xanthomonas* merupakan patogen tanaman dan ditemukan hanya berasosiasi dengan tanaman dan bahan organik. Sedangkan pendapat Bogdanove (2006) adalah koloni bakteri *Xanthomonas* pada media NA berbentuk lingkaran, halus, cembung, tidak tembus cahaya, dan warna awalnya kuning pucat kemudian berubah warna menjadi kuning jerami.

4.7 Pembahasan

Segala jenis penyakit bisa timbul ketika tanaman rentan, patogen yang menyerang lebih ganas, serta kondisi lingkungan yang memungkinkan patogen untuk menginfeksi.Pengaturan suhu, kelembaban, intensitas cahaya penting dilakukan selain untuk perawatan sesuai habitat alami tanaman serta untuk mengurangi infeksi patogen.Dikemukakan oleh Agrios (2005) bahwa mengetahui kisaran lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri merupakan upaya yang dilakukan untuk mengendalikan secara fisik agar pertumbuhan bakteri patogen terhambat.Handoyo dan Sitanggang (2006) berpendapat bahwa perlakuan terhadap tanaman yang berbeda lokasi misalnya dari dataran tinggi ke dataran rendah harus mendapatkan perlakuan khusus untuk mengadaptasikan pada kondisi lingkungan yang baru.

Gambar 17. Gejala penyakit bercak cokelat pada daun *N. mirabilis* yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia*

Bakteri *Erwinia* yang menyerang daun *N. mirabilis* menyebabkan penyakit bercak cokelat kebasahan.Berawal dengan bercak berwarna cokelat, mudah sobek dan licin jika digesek, dan akhirnya akan mati karena menyebar ke seluruh helai daun.Bakteri berbentuk batang ini merupakan golongan bakteri Gram negatif, bereaksi fermentatif pada media glukosa atau dapat hidup dalam keadaan anaerob, dan berwarna putih pada media YDC.Agrios (2005) mengemukakan bahwa bakteri *Erwinia*merupakan bakteri Gram negative, berbentuk batang lurus, berukuran 0,5-1,0 x 1,0-3,0 µ. Bakteri ini motil dengan adanya beberapa flagel peritrik. Hanya *Erwinia* yang merupakan bakteri patogenik tanaman yang anaerob fakultatif.

Gambar 18. Gejala penyakit busuk hitam pada batang *N. ampullaria*(a) dan *N. rafflessiana*(b) yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas*

Bakteri *Pseudomonas* yang menyerang batang *N. ampullaria* dan *N. rafflessiana* menimbulkan gejala ditunjukkan dengan adanya warna kehitaman pada batang, kemudian jika serangan parah batang menjadi busuk hingga mengering, akhirnya tanaman mati.Bakteri initermasuk bakteri Gram negatif, hanya tumbuh pada keadaan aerob, dan mampu memproduksi pigmen fluorescent.Abadi (2003) berpendapat bahwa *Pseudomonas*merupakan bakteri Gram negative, berbentuk seperti tongkat lurus atau melengkung, berukuran 0,5-1 x 1,5-4 µ. Bakteri motil dengan flagel polar yang jumlahnya satu atau lebih. Kebanyakan *Pseudomonas* patogenik pada tumbuhan, tetapi beberapa spesiesnya ada yang menyerang binatang dan manusia.Beberapa jenis *Pseudomonas* penyebab penyakit pada tumbuhan (seperti *Ps. syringae*) disebut sebagai *Pseudomonas flourescent* karena pada medium yang mengandung besi rendah bakteri ini membentuk pigmen fluoresent yang berwarna kuning kehijau-hijauan yang terdifusikan dalam medium.

Gambar 19. Gejala penyakit bintik kuning pada daun *N. ampullaria*(a) dan *N. rafflessiana* (b) yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas*.

Gejala penyakit yang menyerang daun *N. ampullaria* dan *N. rafflessiana* pada serangan awal yang ditimbulkan adalah bintik kuning yang menggerombol, kemudian bersatu dan menybar keseluruh permukaan daun.penyakit ini disebabkan oleh bakteri dari genus *Xanthomonas.*Bakteri ini merupakan Gram negatif, koloni yang ditumbuhkan pada media buatan berwarna kuning, serta dapat tumbuh pada suhu 33^{o}C. Hasil ini sesuai dengan pendapat Abadi (2003) bahwa bakteri *Xanthomonas*termasuk bakteri Gram

negative, berbentuk seperti tongkat yang lurus, berukuran 0,4-1 x 1,5-4 µ. Motil dengan menggunakan flagel polar. Pertumbuhan pada medium agar selalu berwarna kuning.

V.KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan bakeri patogen pada tanaman *Nepenthes* dan menyebabkan penyakit pada bagian batang dan daun.Sedangkan pada bagian akar belum ditemukan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen.

Dari hasil karakterisasi morfologi dan fisiologi, didapatkan tiga genus bakteri yaitu genus *Erwinia* pada daun *N. mirabilis,*genus *Pseudomonas* pada batang *N. ampularia* dan *N. rafflessiana,* dan genus *Xanthomonas* pada daun *N. ampularia* dan *N. rafflessiana.*

5.2 Saran

Dengan adanya penelitian ini, diharapkan untuk selanjutnya perlu dilaksanakan penelitian lebih spesifik pada tingkat spesies serta tingkat molekuler sehingga informasi yang diperoleh akan semakin baik untuk kedepannya.

DAFTAR PUSTAKA

Abadi, A. L. 2003. Ilmu Penyakit Tumbuhan: Dasar-dasar dan Penerapannya. Bayumedia. Malang.

Adrian. 2011. I am Red Nepenthes. dari http://dreeanred.blogspot.com/2011/04/nepenthes-kantung-semar.html, diakses tanggal 16April 2014.

Agromedia. 2012. Budidaya Nepenthes. dari Kantong Semar: http://tulisan-kami.blogspot.com/2012/04/budidaya-nephenthes-kantong-semar.html, diakses tanggal 16 April 2014.

Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology 5thEdition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. USA

Akhriadi, P and Hernawati, 2006. A Field Guide to The Nepenthes Of Sumatera. Published by PILI- NGO Movement and Nepenthes Team.

Anton, W. 2008. Mikrobiologi Umum. Universitas Brawijaya: Malang

Araflora. 2014. Nepenthes. dari http://www.araflora.com/p559/tropical_pitcher_plant_nepenthes_x_miranda , diakses tanggal 10 Mei 2014.

Budi. 2009. Budidaya Nepenthes. http://budinurseri.blogspot.com/2009/07/budidaya-nepenthes.html, diakses tanggal 16 April 2014

Bogdanove, A.J., Ronald, P.C., and Niño-Liu, D.O. 2006. Pathogen profile *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. USA. Molecular Plant Pathology (2006) 7(5), 303–324. Doi: 10.1111/J.1364-3703.2006.00344.X.

Bottom, S. 2010. Orchid Pests and Deseases. __. __.

Brenner, D. J. Krieg, N. R. and Staley , J. T. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd edition. volume 2. Springer. New York.

CITES. 2009. The CITES Appendices. http://www.cites.org/eng/app/index.shtml diakses tanggal 10 Mei 2014.

Clarke, C. 2001. *Nepenthes of Sumatra and Peninsular Malaysia*. Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu: 326 hlm.

Dahnial, I. 2010. *Nepenthes truncata*. dari http://iwandahnial.wordpress.com/2010/08/23/%E2%80%9Cnepenthes-truncata%E2%80%9D-tanaman-doyan-makan-tikus/, diakses tanggal 10 Mei 2014.

Dewata, G. 2012. Bakteri Patogen Tanaman. dari http://gdewata.blogspot.com/2012/01/bakteri-pada-tanaman.html, diakses tanggal 2 Juni 2014

DITJENBUN. 2013. Eksplorasi Bakteri Kelompok Pseudomonas fluorescent. dari Artikel Ilmiah: http://ditjenbun.pertanian.go.id/bbpptpsurabaya/berita-159-teknik-eksplorasi-bakteri-kelompok-pseudomonad-fluoresen.html, diakses tanggal 10 Mei 2014

Dwidjoseputro, D. 1964. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan. Malang.

Hadioetomo, R. S. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Hakim, C. 2010. Keefektifan Biopestisida Organik Cair untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak yang Disebabkan oleh *Erwinia carotovora* pada Anggrek *Phalaenopsis* sp. IPB. Bogor.

Handayati, W., Rahardjo, I. B. dan Kartikaningrum, S. 2008. Pra-Evaluasi Ketahanan Anggrek *Phalaenopsis* Terhadap Penyakit Busuk Lunak (*Erwinia* sp.). BALITHI. Cipanas.

Handoyo, F., dan Sitanggang, M..2006. Petunjuk Praktis Perawatan Nepenthes. AgroMedia. Jakarta.

Isnaini, Y. 2011. Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Hias Unik Kantong Semar (Nepenthesspp.) Secara *In Vitro* Di Kebun Raya Bogor. Makalah Seminar Nasional Perhorti. Kebun Raya Bogor-LIPI. Bogor.

Masur, M. 2006. *Nepenthe: Kantong Semar yang Unik.* Penebar Swadaya.Jakarta.

Mehan, V. K. and Hayward,A. C. (eds.). 1993. Groundnut bacterial wilt: proceedings of the Second Working Group Meeting, 2 Nov 1992, Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan. (In En. Summaries in En, Fr, Es.) Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 32 pp. ISBN 92-9066-264-6. Order code: CPE 083.

Iswanto, H. 2002. Petunjuk Perawatan Anggrek. AgroMedia. Jakarta.

Janse, J. D. 2005. Phytobacteriology: principles and practice. CABI publishing. Oxordshire, London, UK.

Kerr, A. 1980. Bacteria and Mycoplasmas as Plant Parasites. In J. F. Brown, A Course Manual in PlantProtection (pp. 133-134). Vice-chancellors' committee. Brisbane: Australian.

Kherjuli. 2013. Kantong Semar, Pohon Yang Dapat Mempererat Siraturahim. dari http://kherjuli.wordpress.com/2013/09/03/kantong-semar-pohon-yang-dapat-mempererat-siraturahim/, diakses tanggal 10 Mei 2014

Klement, Z., Rudolph,K., and Sand,D. C. 1990. Methods in Phytobacteriology. Academia Kiado. Budapest.

Kurniawan, C. 2013. Kultur Jaringan Sebagai Solusi Konservasi Nepenthes Secara Ex-Situ. Lomba Esai Mahasiswa Se-Kalbar dengan tema Harapan dan Tantangan Konservasi Kantong Semar yang Terancam Punah. Kantong Semar .

Lim,D. 1998. Microbiology. McGrow-hill book. New york.

Lingga, L. 2007. *Anthurium.* Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Norman, D. J. and Ali, G. S. 2012. Anthurium Diseases: Identification and Control in Commercial Greenhouse Operations. PP292. University of Florida. Institute of Food and Agriculture Sciences. Gainesville.

Ou, S.H. 1985. Rice Diseases. Kew, Surrey: Commonwealth Agricultural Bureau.

Purwanto, A. W. 2007. Budidaya Ex-Situ Nepenthes, Kantong semar nan eksotis. Kanisius. Yogyakarta.

Renstra. 2005. Profil dan Penelitian. dari http://www.bogorbotanicgardens.org/penelitian.php, diakses tanggal 14 April 2014

Sabah. 2012. An Interview With Pitcher Plant. dari http://www.mysabah.com/wordpress/category/sabah/page/39/, diakses tanggal 14 April 2014

Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun. W. 2001. Plant Pathogenic Bacteria, Third Edition. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.

Semangun, H. 1990. Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. Gajah Mada Press. Yogyakarta.

Semangun, H. 1996. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

Sinaga, M. S., 2003. Dasar-dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Seri Agriteks. Penebar Swadaya. Jakarta.

Sudir, N. B. dan Kadir,T.S.2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Iptek Tanaman Pangan vol. 7 no. 2 2012.

Yahya, R. 2012. Mengenal Tanaman Kantong Semar. dari Tanaman: http://www.dheanbj.com/2012/09/mengenal-tanaman-kantong-semar.html, diakses tanggal 14 April 2014

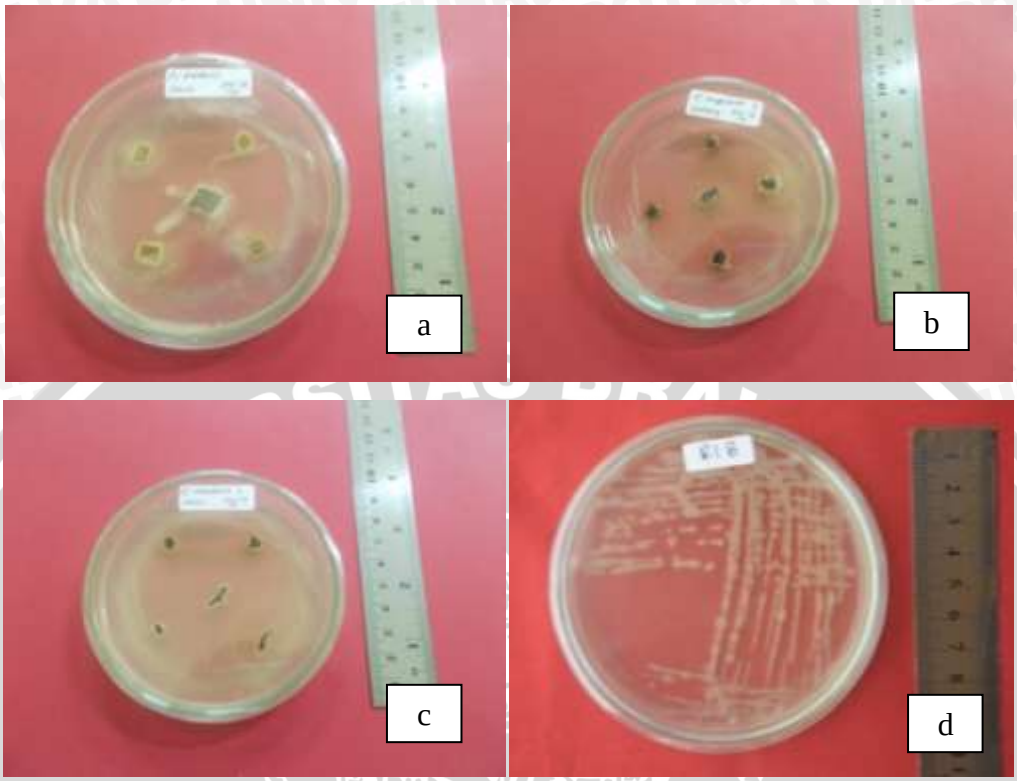
LAMPIRAN

1. Eksplorasi Tanaman yang Terinfeksi Penyakit

Gambar 20. Pertanaman *Nepenthes* dalam rumah kaca Kebun Raya Bogor, *N. mirabilis* (a), *N. ampullaria* (b), *N. rafflessiana* (c)

Gambar 21. Pengemasan tanaman sampel sebagai sumber isolat bakteri patogen, pemilihan tanaman (a) dan pembungkusan tanaman (b)

2. Isolasi dan Purifikasi



Gambar 22. Isolasi bakteri patogen dari tanaman sampel: bagian daun (a), bagian batang (b), bagian akar (c), dan pemurnian isolat bakteri (d)

3. Uji Patogenisitas Pada Tanaman Inang

Tabel 8. Perbandingan gejala awal dengan gejala setelah uji patogenisitas

Isolat	Dokumentasi Gejala Awal	Dokumentasi Gejala Setelah Patogenisitas
MD Bergejala sama dengan gejala awal		
MB Tidak bergejala		
MA Tidak bergejala		
A1D Tidak bergejala		
A1B Bergejala sama dengan gejala awal		

Isolat	Dokumentasi Gejala Awal	Dokumentasi Gejala Setelah PAtogenisitas
A1A Tidak bergejala		
A2D Bergejala sama dengan gejala awal		
A2B Tidak bergejala		
A2A Tidak bergejala		
R1D Tidak bergejala		

Isolat	Dokumentasi Gejala Awal	okumentasi Gejala Setelah PAtogenisitas
R1B Bergejala sama dengan gejala awal		
R1A Tidak bergejala		
R2D Tidak bergejala		
R2B Tidak bergejala		
R2A Tidak bergejala		

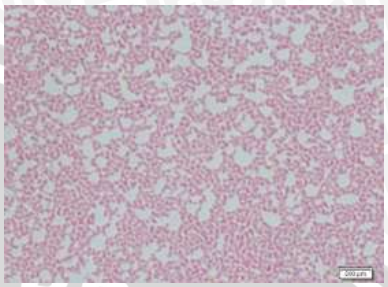
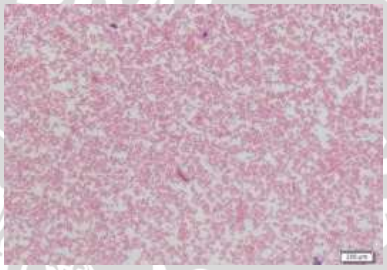
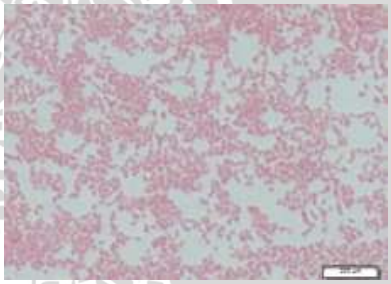
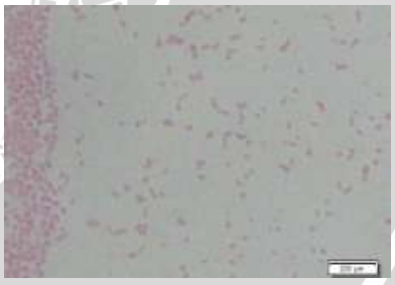
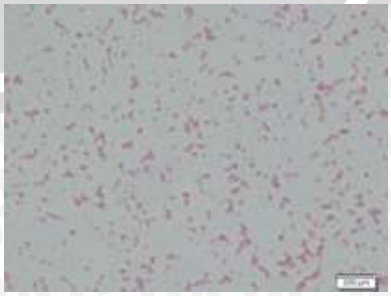
Isolat	Dokumentasi Gejala Awal	okumentasi Gejala Setelah PAtogenisitas
R3D Bergejala sama dengan gejala awal		
R3B Tidak bergejala		
R3A Tidak bergejala		

4. Karakterisasi Isolat Bakteri

Tabel 9. Hasil Uji Gram Dengan Kelarutan KOH 3%

Nomor	Isolat	Bakteri Gram (-/+)	Dokumentasi
1	MD	Negatif	
2	A1B	Negatif	
3	A2D	Negatif	
4	R1B	Negatif	
5	R3D	Negatif	

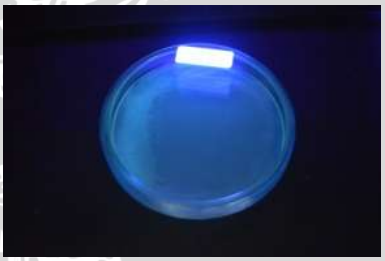
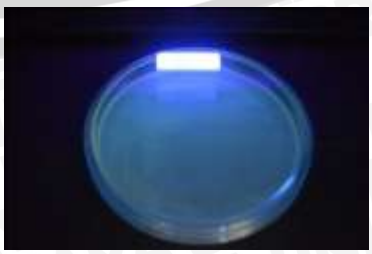
Tabel 10. Hasil Uji Gram Dengan Pewarnaan

Nomor	Isolat	Bakteri Gram (-/+)	Dokumentasi
1	MD	Negatif	
2	A1B	Negatif	
3	A2D	Negatif	
4	R1B	Negatif	
5	R3D	Negatif	

Tabel 11. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif

Nomor	Isolat	Reaksi	Dokumentasi
1	MD	Fermentatif	
2	A1B	Oksidatif	
3	A2D	Oksidatif	
4	R1B	Oksidatif	
5	R3D	Oksidatif	

Tabel 12. Hasil Uji Produksi Pigmen Fluorescent

Nomor	Isolat	Produksi pigmen fluorescent (-/+)	dokumentasi
1	MD	-	
2	A1B	+	
3	A2D	-	
4	R1B	+	
5	R3D	-	

Tabel 13. Hasil Uji Pertumbuhan pada Media YDC dan Pertumbuhan pada Suhu 33^{O}C

Isolat	Warna Koloni	Perumbuhan suhu 33^{O}C	Dokumentasi
MD	Putih susu	Tidak diinkubasi	
A2D	Kuning	Hidup	
R3D	Kuning	Hidup	