



**POTENSI BAKTERI FILOSFER TUMBUHAN RUMPUT
GAJAH DI UB FOREST DALAM MENEKAN PATOGEN
HAWAR DAUN PADI (*Xanthomonas oryzae*)**

Oleh
DITA RIZKY PRATISTA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2019



**POTENSI BAKTERI FILOSER TUMBUHAN RUMPUT
GAJAH DI UB FOREST DALAM MENEKAN PATOGEN
HAWAR DAUN PADI (*Xanthomonas oryzae*)**

OLEH

DITA RIZKY PRATISTA

145040201111128

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2019**



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 daftar pustaka.

Malang, Juni 2019

Dita Rizky Pratista

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Potensi Bakteri Filosfer Tumbuhan Rumput
Gajah di UB Forest Dalam Menekan
Patogen Hawar Daun Bakteri pada Tanaman
Padi (*Xanthomonas oryzae*)

Nama Mahasiswa : Dita Rizky Pratista

NIM : 145040201111128

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

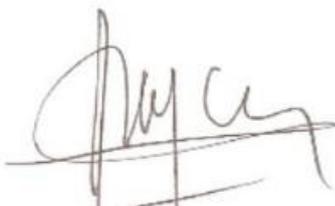
Program Studi : Agroekoteknologi

Laboratorium : Bakteriologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,



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



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

Diketahui,
Ketua Jurusan



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

Tanggal Persetujuan : 25 JUL 2019

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I



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

Penguji II



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

Penguji III



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

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : **01 AUG 2019**

RINGKASAN

DITA RIZKY PRATISTA. 14504020111128. Potensi Bakteri Filosfer Tumbuhan Rumput Gajah di UB Forest dalam Menekan Patogen Hawar Daun Padi (*Xanthomonas oryzae*). Di bawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP.,MP., M.Sc. Sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.

Padi (*Oryza sativa*) merupakan tanaman pangan yang sangat penting karena beras merupakan makanan pokok sebagian besar rakyat Indonesia. Kebutuhan akan pangan khususnya beras terus meningkat seiring dengan pertambahan jumlah penduduk. Namun produksi padi nasional masih cenderung fluktuatif. Penyakit hawar daun bakteri menjadi salah satu penyebab dalam produktivitas tanaman padi. Penyakit hawar daun bakteri disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Pengendalian Hama Terpadu (PHT) dengan memanfaatkan agens hayati berupa mikroba antagonis menjadi salah satu upaya pengendalian patogen *Xanthomonas oryzae*. Bakteri filosfer dapat menjadi salah satu kontrol biologi dalam menekan patogen *Xanthomonas oryzae*. Kegiatan eksplorasi dilakukan di kawasan UB Forest yang dikehui memiliki biodiversitas yang tinggi, salah satunya adalah tumbuhan rumput gajah yang dapat menjadi habitat potensial bagi mikroorganisme termasuk bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya potensi bakteri filosfer rumput gajah dalam menekan patogen *Xanthomonas oryzae*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian ini dimulai dari bulan Mei 2018 sampai Juni 2019. Isolat bakteri yang diperoleh diseleksi antagonis terhadap patogen *Xanthomonas oryzae*. Kemudian dipilih empat isolat terbaik yang memiliki zona hambat terbesar untuk dilakukan pengujian secara *in vitro*. Selanjutnya dilakukan identifikasi dan karakterisasi pada isolat bakteri yang terpilih sampai tingkat genus.

Hasil eksplorasi di UB Forest didapatkan sebanyak 65 isolat bakteri filosfer dari tumbuhan rumput gajah. Hasil seleksi diperoleh 4 bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae*. Keempat isolat bakteri kemudian diuji secara *in vitro*. Ketiga isolat bakteri yaitu P14, P62 dan P63 menunjukkan daya hambat yang sama dengan kontrol bakterisida *Streptomycin* dalam menghambat pertumbuhan patogen *Xanthomonas oryzae* secara *in vitro*. Isolat P14 menghasilkan zona hambat sebesar 1,28 cm pada hari kedua dan 1,33 cm pada hari ketiga. Isolat P62 menghasilkan zona hambat 1,61 cm pada hari kedua dan 1,64 cm pada hari ketiga. Isolat kode P63 menghasilkan zona hambat sebesar 1,68 cm pada hari kedua dan 1,74 cm pada hari ketiga. Sedangkan isolat kode P58 tidak berpengaruh nyata dalam menekan patogen *Xanthomonas oryzae* dengan menghasilkan zona hambat sebesar 0,70 cm baik pada hari kedua maupun ketiga.. Keempat isolat bakteri dapat digolongkan kedalam tiga genus yaitu: *Clostridium*, *Erwinia* and *Pseudomonas*. Hasil identifikasi dan karakterisasi menunjukkan bahwa isolat bakteri P14 bergenus *Clostridium*, P58 bergenus *Erwinia* sedangkan P62 dan P63 bergenus *Pseudomonas*.

SUMMARY

DITA RIZKY PRATISTA. 14504020111128. The Potency of Phyllosphere Bacteria from Elephant Grass Againsts Rice Leaf Blight Pathogen (*Xanthomonas oryzae*). Supervised by Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D. as Main Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc. as Second Supervisor.

Rice (*Oryza sativa*) is an important food crop, most of Indonesians' staple food is rice. Food demand, in particular rice is increasing as a result of population growth. However the national rice production is fluctuant. Rice leaf blight disease is one of the problem in rice productivity. The disease is caused by the bacterium of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Integrated Disease Management (IDM) using microbial antagonist is considered as an alternative disease control of *Xanthomonas oryzae*. Phyllosphere bacteria can be considered as biological control of *Xanthomonas oryzae*. The exploration was conducted in UB Forest area since UB Forest is known for the high biodiversity of microorganism, elephant grass can be considered as a potential for microorganism include bacteria. The aim of this study was to assess the potency of phyllosphere bacteria from elephant grass against rice leaf blight pathogen *Xanthomonas oryzae*.

The study was conducted at the Hama dan Penyakit Tumbuhan Departement, Faculty of Agriculture, Brawijaya University. This study was started from May 2018 until June 2019. The obtained bacterial isolates were selected through antagonist selection against pathogen *Xanthomonas oryzae*. Four isolates which has the largest inhibition zone were tested by in vitro test. The selected bacterial isolates would be identify and characterised to genus level.

The exploration obtained 65 phyllosphere bacterial isolates from elephant grass. The selection test obtained 4 bacterial isolates which showed the antagonistic potential against *Xanthomonas oryzae*. Three bacterial isolates P14, P62, and P63 showed the same inhibition zone with the bactericidal control *Streptomycin* against *Xanthomonas oryzae*. P14 isolate showed 1,28 cm inhibition zone on the second day, and 1,33 cm inhibition zone at the third day. P62 isolate showed 1,61 cm inhibition zone on the second day and 1,64 cm inhibition zone on the third day. P63 isolate showed 1,68 cm inhibition zone on the second day and 1,78 cm inhibition zone on the second day. However, P58 isolate had no significant effect against *Xanthomonas oryzae* which showed 0,70 cm inhibition zone on the second and third day. The four bacterial isolates could be classified into three genera: *Clostridium*, *Erwinia* and *Pseudomonas*. The identification and characterization showed that P14 isolate classified to the genus *Clostridium*, P58 isolate classified to the genus *Erwinia* while P62 and P63 isolates classified to the genus *Pseudomonas*.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang dengan rahmat serta hidayahnya sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Potensi Bakteri Filosfer Tumbuhan Rumput Gajah di UB Forest dalam Menekan Patogen Hawar Daun Padi (*Xanthomonas oryzae*)**”

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Bapak Luqman Qurata Aini, SP, M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan banyak bimbingan dan arahan kepada saya dalam menyusun skripsi tertulis ini. Tidak lupa saya mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu serta memberikan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini terdapat banyak kekurangan baik dari segi materi maupun sistematika penulisan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun, sehingga dapat menjadi bekal dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga penelitian yang telah dilakukan ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pengetahuan.

Malang, Agustus 2019

Penulis



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Klaten, 9 September 1996 dari pasangan Bapak Lanjar Wibowo dan Ibu Sringatini. Penulis menempuh pendidikan di TK Aisiyah pada tahun 2000 sampai 2002, pendidikan sekolah dasar di SDN 2 Plosowangi pada tahun 2002 sampai 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMPN 2 Cawas pada tahun 2011, dan pendidikan sekolah menengah atas diselesaikan di SMA Muhammadiyah 1 Klaten pada tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur melalui jalur Seleksi Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi pengurus Paseduluran Pelajar Priyayi Klaten (PAPPRIKA) tahun 2014-2016. Penulis juga pernah menjadi panitia Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian (PROTEKSI) pada tahun 2017. Pada tahun 2017 penulis pernah melaksanakan kegiatan magang kerja di Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta.



DAFTAR ISI

RINGKASAN	Error! Bookmark not defined.
SUMMARY	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	Error! Bookmark not defined.
RIWAYAT HIDUP	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR TABEL	Error! Bookmark not defined.i
DAFTAR GAMBAR	Error! Bookmark not defined.i
I. PENDAHULUAN	Error! Bookmark not defined.
1.1 Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	Error! Bookmark not defined.
1.3 Hipotesis.....	Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat	Error! Bookmark not defined.
II. TINJAUAN PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
2.1 Tanaman Padi.....	Error! Bookmark not defined.
2.2 Rumput Gajah (<i>Pennisetum purpureum Schau</i>) dari Famili <i>Poaceae</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3 Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi	Error! Bookmark not defined.
Penyebab Hawar Daun Bakteri	Error! Bookmark not defined.
2.4 Pengendalian Hawar Daun Bakteri	Error! Bookmark not defined.
2.5 Bakteri Filosfer.....	Error! Bookmark not defined.
III. METODE PENELITIAN	Error! Bookmark not defined.
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.3 Pelaksanaan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.4 Variabel Pengamatan	Error! Bookmark not defined.
3.5 Analisis Data	Error! Bookmark not defined.
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
4.1 Hasil Pemurnian Bakteri Patogen <i>Xanthomonas oryzae</i> dan Uji Patogenisita	Error! Bookmark not defined.
4.2 Hasil Seleksi Bakteri dari Filosfer Tumbuhan Rumput Gajah di UB Forest	Error! Bookmark not defined.
4.3 Hasil Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap <i>Xanthomonas oryzae</i> Secara <i>In Vitro</i>	Error! Bookmark not defined.
4.4 Hasil Uji Hipersensitif.....	Error! Bookmark not defined.



4.5 Hasil Karakterisasi Bakteri Filosfer Tumbuhan Rumput Gajah **Error!**
Bookmark not defined.



V. KESIMPULAN DAN SARANError! Bookmark not defined.

5.1 Kesimpulan**Error! Bookmark not defined.**

5.2 Saran.....**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA.....Error! Bookmark not defined.

LAMPIRANError! Bookmark not defined.



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan secara <i>in vitro</i>	13
2.	Hasil seleksi bakteri filofser dalam menghambat XO0.....	19
3.	Rerata zona hambat bakteri antagonis.....	21
4.	Hasil karakterisasi bakteri antagonis secara morfologi.....	24
5.	Hasil karakterisasi bakteri antagonis secara fisiologi dan biokimia	25

Lampiran

1.	Analisis ragam hasil uji antagonis pada hari kedua	38
2.	Analisis ragam hasil uji antagonis pada hari ketiga	38

**DAFTAR GAMBAR**

Nomor	Teks	Halaman
1.	Gejala tanaman padi terserang penyakit hawar daun bakteri	7
2.	Diagram pengujian bakteri tingkat genus	16
3.	Uji patogenisitas pada tanaman padi.....	18
4.	Hasil uji antagonis setelah 72 jam.....	21
5.	Hasil uji hipersensitif setelah 72JSI.....	23
6.	Hasil pengamatan koloni tunggal.....	24
7.	Hasil uji gram.....	26
8.	Hasil pewarnaan spora	27
9.	Hasil uji katalase	27
10.	Hasil uji oksidatif-fermentatif.....	28
11.	Hasil uji pada media King's B	29
12.	Hasil uji pada media YDC	29

Lampiran

1.	Streak tunggal bakteri filusfer yang terpilih.....	38
2.	Zona bening yang dihasilkan keempat bakteri terpilih	39
3.	Hasil uji hipersensitif pada bakteri terpilih	39
4.	Hasil pewarnaan gram pada bakteri terpilih.....	40
5.	Hasil uji KOH 3%	40
6.	Hasil uji katalase	41
7.	Hasil uji oksidatif-fermentatif	41



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa*) merupakan tanaman pangan yang sangat penting karena beras merupakan makanan pokok sebagian rakyat Indonesia. Kebutuhan beras masyarakat kita diproyeksikan pada tahun 2020 sebanyak 270 juta jiwa dan pada tahun 2025 sebesar 284 juta jiwa (Badan Pusat Statistik, 2013). Kebutuhan akan pangan khususnya beras akan meningkat seiring dengan penambahan jumlah penduduk. Namun produksi padi nasional masih cenderung fluktuatif meski sempat mengalami kenaikan. Pada tahun 2013 produksi padi sebesar 71.279.709 ton mengalami penurunan menjadi 70.846.465 ton (Badan Pusat Statistik, 2015).

Salah satu penyebab penurunan produksi padi adalah penyakit hawar daun bakteri. Penyakit hawar daun bakteri disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Penyakit hawar daun bakteri merupakan penyakit yang tersebar luas di pertanaman padi sawah dan bisa menurunkan hasil sampai 36% (BBPP Lembang, 2010). Secara ekonomis penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil yang cukup tinggi, terutama pada musim hujan, mencapai 20,6 - 35,6%, sedangkan pada musim kemarau dapat mencapai 7,5 - 23,8% (BBPOPT, 2007). Penyakit hawar daun bakteri dapat merusak semua fase tumbuh pada tanaman padi dan menimbulkan gejala berupa kresek dan hawar. Baik kresek dan hawar menyebabkan daun tanaman padi berwarna hijau kelabu, melipat, menggulung, dan kemudian mengering (Sudir, 2011).

Pengendalian Hama Terpadu (PHT) merupakan salah satu cara yang dapat digunakan dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri. Pengendalian Hama Terpadu (PHT) dilakukan dengan mempertimbangkan aspek ekosistem, stabilitas serta kesinambungan produksi sesuai dengan tuntunan praktek pertanian yang baik (Litbang Pertanian, 2010). Salah satu prinsip Pengendalian Hama Terpadu adalah pelestarian musuh alami, musuh alami meliputi parasitoid, predator, patogen dan agens antagonis. Pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan agens antagonis selama ini dilakukan dengan menggunakan jamur dan bakteri (Santosa, 2009).

Bakteri merupakan salah satu agens antagonis yang dapat digunakan dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri. Bakteri dapat ditemukan di tanah,



udara, aliran air danau, sungai dan laut, bahkan pada daun tumbuhan. Salah satu bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agens antagonis dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri adalah bakteri filosfer, hal ini dikarenakan penyakit hawar daun menyerang pada bagian daun sehingga kemungkinan adanya interaksi dengan bakteri filosfer pada daun.

Filosfer atau permukaan daun menjadi habitat yang sangat besar bagi mikroba, terutama bakteri dan jamur (Lindow dan Brandl, 2003). Hutan seperti UB *Forest* merupakan ekosistem yang memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi. Keanekaragaman ini meliputi hewan, tumbuhan serta mikroba. Sehingga mikroba khususnya bakteri filosfer dapat ditemukan di UB *Forest*. Di dalam filosfer hampir semua jaringan tanaman yang sehat, ada banyak mikroorganisme yang sinergistik dengan inangnya dengan cara menghasilkan senyawa khusus, seperti senyawa bioaktif, untuk melindungi inangnya dari serangan mikroba patogen dan hama (Baskaran *et al.*, 2012). Bakteri filosfer mempunyai peran yang signifikan dalam mempengaruhi lingkungan lingkungan tanaman, dan juga terlibat dalam proses global. Saat ini banyak bakteri filosfer yang dimanfaatkan sebagai sumber agen biologi untuk aplikasi bioteknologi atau isolasi senyawa bioaktif (Zhang *et al.*, 2010). Salah satu bakteri yang terbukti dapat menekan patogen adalah genus *Bacillus*, dimana mampu menghambat pertumbuhan patogen (Sartori *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini dilakukan eksplorasi bakteri filosfer pada rumput gajah. Rumput gajah merupakan salah satu tumbuhan famili *Poaceace* dimana berfamili sama dengan tanaman padi, selain itu tumbuhan rumput gajah banyak tersebar di UB *Forest*. Berdasarkan permasalahan tersebut maka dilakukan penelitian mengenai eksplorasi bakteri filosfer pada tumbuhan rumput gajah di UB *Forest* untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan hasil pembahasan di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah bakteri filosfer dari tumbuhan rumput gajah di UB *Forest* dapat digunakan untuk menekan patogen *Xanthomonas oryzae*?



1.3 Tujuan

Berdasarkan hasil rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini diantaranya :

1. Mengeksplorasi biodiversitas mikroorganisme khususnya bakteri filofser di UB *Forest*.
2. Mengetahui pengaruh bakteri filofser dari tumbuhan rumput gajah dalam menekan patogen *Xanthomonas oryzae*.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan tujuan di atas, maka hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat ditemukan bakteri filofser pada tumbuhan rumput gajah yang bersifat antagonis dalam menekan patogen *Xanthomonas oryzae* yang dieksplorasi dari UB *Forest*.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai bakteri filofser pada tumbuhan rumput gajah di UB *Forest* yang berpotensi sebagai agens antagonis dalam menekan patogen *Xanthomonas oryzae*.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

Padi merupakan tanaman pangan berupa rumput berumpun. Padi termasuk dalam keluarga padi-padian atau Poaceae (Graminae) (Brar dan Khush, 1997). Tanaman ini berasal dari benua Asia dan Afrika Barat tropis dan subtropis. Pertumbuhan tanaman padi dibagi menjadi tiga fase, yaitu vegetatif (awal pertumbuhan sampai pembentukan bakal malai/primordia), reproduktif (primordia sampai pembungaan), dan pematangan (pembungaan sampai gabah matang). Fase vegetatif ditandai dengan pertumbuhan organ-organ vegetatif, seperti pertumbuhan jumlah anakan, tinggi tanaman, bobot dan luas daun.

Fase reproduktif ditandai dengan memanjangnya ruas teratas batang tanaman, matinya anakan yang tidak produktif, munculnya daun bendera, bunting dan pembungaan (Makarim & Suhartatik, 2009). Padi (*Oryza sativa*.L) merupakan tanaman pangan pokok hampir seluruh rakyat Indonesia. Produksi padi dunia menempati urutan ketiga dari semua sereal setelah jagung dan gandum. Namun demikian, padi merupakan sumber karbohidrat utama bagi mayoritas penduduk dunia. Konsumsi beras pada tahun 2010, 2015, dan 2020 diproyeksikan berturut - turut sebesar 32,13 juta ton, 34,12 juta ton dan 35,97 juta ton. Jumlah penduduk pada ketiga periode itu diperkirakan berturut - turut 235 juta, 249 juta, dan 263 juta jiwa (Puslitbang Tanaman Pangan, 2012).

2.2 Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum Schau*) dari Famili Poaceae

Poaceae adalah adalah salah satu suku anggota tumbuhan berbunga. *Poaceae* merupakan kelompok tumbuhan yang sangat berhasil penyebarannya di muka bumi ini dengan sangat luas. Sistem akar mampu mengisap nutrisi secara luar biasa, juga efisiensi dalam penyerapan air dan stabilisasi tanah. *Poaceae* mempunyai kemampuan reproduksi yang tinggi dengan biji - bijinya yang banyak sehingga mampu disebarkan secara luas. Famili ini mempunyai sekitar 500 marga dan 3000 jenis. Bersifat kosmopolit tetapi terbanyak di daerah tropis dan temprata utara dengan curah hujan yang cukup untuk untuk membentuk padang - padang rumput (Dasuki, 1994).

Anggota dari famili *Poaceae* diantaranya seperti rumput gajah dan rumput raja. Rumput gajah merupakan tanaman yang tumbuh alami diseluruh dataran



Asia Tenggara termasuk Indonesia, tanaman ini berasal dari Afrika. Rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) adalah tanaman yang dapat tumbuh di daerah marginal. Tanaman ini juga dapat hidup pada tanah kritis dimana tanaman lain relatif tidak dapat tumbuh dengan baik (Sanderson dan Paul, 2008).

Rumput gajah tumbuh tegak menyerupai tebu dan dapat tumbuh mencapai 2 – 5 m, mudah berkembang biak, berdaun lebar, tipis dan mempunyai tulang daun. Rumput gajah mempunyai batang bulat berkayu dan berbuku - buku dimana dari buku tersebut nantinya akan keluar tunas baru yang kemudian yang akan menjadi batang baru. Diameter batang dapat mencapai lebih dari 3 cm dan terdiri sampai 20 ruas/buku. Batang rumput gajah ditutupi perisai daun yang agak berbulu. Rangkum bunga bertipe tandan dengan warna keemasan, sedangkan dalam berbentuk biji yang berisi hanya bisa dicapai bila tumbuh pada ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut, bentuk daun pada umumnya panjang menyerupai pita dan berbulu, panjang daun bisa mencapai 30 - 120 cm dengan lebar kurang dari 30 cm (Efendi *et al.*, 2001).

2.3 Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

Hawar daun bakteri pada padi disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* bersifat Gram negatif, berbentuk batang pendek dengan ukuran 0,45 - 0,75 x 0,65-2,1 μ , dengan satu flagella polar di salah satu ujungnya dengan ukuran 0,03-8,75 μ (Sudir *et al.*, 2012). Tingkat virulensi bervariasi tergantung pada gen resistensi masing-masing varietas padi dan interaksi antara gen virulen patogen dengan gen tanaman tahan (Jha *et al.*, 2007). Perubahan sifat virulensi patogen dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Reaksi patogen lebih spesifik terhadap patotipe yang diinokulasikan di rumah kaca, tetapi reaksi patogen akan menunjukkan lebih dari satu patotipe *X. oryzae* yang populasinya beragam jika diinokulasikan di lapangan (Sudir *et al.*, 2012).

Faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit hawar daun bakteri adalah:

1. Infeksi pada tanah

Bakteri *Xanthomonas oryzae* dapat bertahan di tanah selama 1-3 bulan, bergantung pada kelembabab dan kemasaman tanah (Sudir *et al.*, 2012).

2. Jerami tanaman terinfeksi



Jerami sisa tanaman yang terinfeksi dan tanaman inang selain padi dapat menjadi sumber penularan penyakit dari musim ke musim (Sudir *et al.*, 2012).

3. Gabah padi

Bakteri juga dapat bertahan dalam biji sampai beberapa saat, sehingga penularan dapat terjadi melalui benih (Sudir *et al.*, 2012).

4. Pemupukan

Faktor pemupukan berpengaruh nyata terhadap keparahan penyakit hawar daun bakteri. Keparahannya yang hanya dipupuk pupuk kandang lebih rendah dibandingkan pola pemupukan lain (Sudir dan Abdurachman, 2009).

5. Kelembaban

Kelembaban yang tinggi dapat mempercepat perkembangan penyakit ini. Oleh karena itu, penyakit hawar daun bakteri sering timbul pada musim hujan, terutama apabila hujan disertai angin kencang, yang berperan dalam penularan dan penyebaran patogen (Suparyono *et al.*, 2003).

6. Pengairan

Pertanaman yang diairi secara terus-menerus membentuk kondisi lingkungan yang menyebabkan penyakit berkembang lebih baik. Begitu pula tanaman yang terlalu rapat, sangat mendukung perkembangan penyakit (Sudir, 2011)

7. Jarak tanam

Pertanaman dengan jarak tanam rapat selain menciptakan kondisi lingkungan dengan kelembaban tinggi juga akan mempermudah penularan dari satu tanaman ke tanaman lain. Terjadinya pergesekan antar daun yang sudah terinfeksi dengan daun yang masih sehat akan mempercepat terjadinya infeksi patogen (Sudir, 2011).

Hawar daun bakteri adalah penyakit yang menyebabkan infeksi sistemik yang menghasilkan lesi berwarna abu-abu gelap sampai keputihan disepanjang jaringan. Kresek adalah manifestasi penyakit yang paling merusak, dimana seluruh daun tanaman berwarna kuning pucat dan layu selama masa perkecambah sampai awal stadium anakan yang menyebabkan sebagian atau seluruhnya gagal panen. Tanaman yang berumur kurang dari 21 hari sangat rentan dan suhu 28-34°C sangat mendukung pertumbuhan *Xanthomonas oryzae*. Gejala yang sangat khas adalah munculnya lesi berwarna kuning dengan pinggir bergelombang



7
pada helai daun yang dapat meluas ke bagian pelepah. Meskipun hawar terjadi disepanjang masa pertumbuhan, hawar paling sering terjadi pada masa pembentukan anakan sampai dengan dewasa (Gnanamanickam *et al*, 1999).



Gambar 1. Gejala tanaman padi yang terserang hawar daun bakteri (EPPO, 2007).

2.4 Pengendalian Hawar Daun Bakteri

Pengendalian yang sudah dilakukan dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi menurut (Sudir *et al.*, 2012) diantaranya adalah:

a. Penanaman benih dan bibit sehat.

Penyakit hawar daun bakteri merupakan penyakit *seed born* atau penyakit yang dapat tertular melalui benih maka perlu dianjurkan penggunaan benih dan bibit yang sehat tidak terinfeksi hawar daun bakteri (Suprihanto *et al*, 2002, Sudir dan Suprihanto 2008). Hal ini harus dilakukan untuk mencegah bersebaran penyakit hawar daun bakteri agar tidak semakin meluas. Selain itu juga tidak dianjurkan untuk melakukan pemotongan benih karena memacu timbulnya penyakit karena hawar daun bakteri menginfeksi melalui luka dan lubang alami (Suparyono dan Sudir 1992).

b. Cara tanam

Sistem tanam yang dapat diterapkan untuk mencegah timbulnya penyakit hawar daun bakteri adalah jajar legowo, hal ini dikarenakan dapat mengurangi kelembaban disekitar kanopi tanaman. Pertanaman yang terlalu rapat menyebabkan kelembaban, aerasi dan suhu menjadi menguntungkan bagi perkembangan bakteri ini sehingga akan memudahkan terjadinya infeksi dan juga penularan dari satu tanaman ke tanaman lainnya (Sudir, 2011).

c. Pemupukan

Semakin banyak pemberian pupuk nitrogen semakin meningkatkan resiko penyakit hawar daun bakteri karena tanaman lebih rentan. Sedangkan pemupukan



kalium menyebabkan tanaman padi lebih tahan. Sehingga perlu adanya pemberian pupuk kalium dan pupuk nitrogen dalam dosis yang seimbang.

d. Sanitasi lingkungan

Sanitasi dilakukan untuk membersihkan sisa-sisa lahan dari panen sebelumnya, sehingga apabila pada masa tanam sebelumnya terserang penyakit hawar daun bakteri dapat diminimalisir risikonya.

e. Penanaman varietas tahan

Penggunaan varietas tahan dinilai efektif dan mudah diterapkan sehingga banyak digunakan dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri. Namun, penggunaan varietas tahan ini harus sesuai dengan patotipe patogen *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* merupakan patogen yang mampu berubah dengan cara membentuk patotipe yang lebih virulen. Untuk itu penggunaan varietas tahan harus memperhatikan patotipe yang sesuai.

2.5 Bakteri Filosfer

Selain berupa pengendalian dengan mengatur cara budidaya dan juga penggunaan varietas tahan diperlukan pengendalian secara biologis dengan penggunaan agens antagonis. Permukaan tanaman merupakan habitat bagi mikroba seperti jamur dan bakteri (Lindow dan Brandl, 2003). Hampir semua jaringan tanaman pada filosfer tanaman yang sehat terdapat senyawa seperti bioaktif yang mampu melindungi inangnya dari Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) (Baskaran *et al.*, 2012). Keanekaragaman bakteri filosfer tergantung pada jenis tanaman dan jaringan yang didiaminya, seperti daun, akar ataupun bunga.

Selain itu juga dipengaruhi oleh faktor abiotik berupa angin, kelembaban dan kecepatan angin mempengaruhi mobilitas bakteri, yang akhirnya dapat menentukan keberadaan bakteri. Hal lain yang dapat menentukan keragaman dan keberadaan bakteri filosfer, yaitu nutrisi. Kelimpahan nutrisi pada daun dapat mengindikasikan keberadaan mikroorganisme. Terutama nutrisi sumber karbon dan sumber nitrogen (Wilson *et al.*, 2006).

Bakteri filosfer yang terbukti menghambat pertumbuhan patogen adalah dari genus *Bacillus*. Genus *Bacillus* sangat efektif dalam mengurangi tingkat keparahan penyakit hawar daun yang disebabkan oleh *Exserohilum turcicum* pada tanaman jagung (Sartori *et al.*, 2016). Bakteri dari genus *Acinetobacter*, *Serratia*



dan *Pseudomonas* yang diisolasi dari filosfer tanaman kastanya mampu menghambat patogen *Cryphonectria parasitica* dan *Phytophthora cinnamomi* (Valverde *et al.*, 2017).



III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2018 – Juni 2019 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan Hutan Percobaan Universitas Brawijaya (UB *Forest*).

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri, tabung 10 ml, *tube falcon*, botol semprot, mikropipet, tips, jarum Ose, *stick l*, botol media, pinset, plastic wrap, timbangan, gunting, penggaris, aluminium foil, vortex, centrifuge, *cover glass*, pipet tetes, jarum suntik, gelas ukur, pipet tetes dan *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC).

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun tumbuhan rumput gajah, isolat patogen *Xanthomonas oryzae*, aquades, plastik, kertas saring, alkohol 70 %, alkohol 96%, media Nutrient Agar (NA), media Yeast Dextrose Carbonat (YDC), media Oksidatif-Fermentatif, media King's B, paraffin cair, kloroform, klorox, H₂O₂, iodine, KOH 3%, safranin, kristal violet, benih padi IR64, tanah, kompos dan tanaman tembakau.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Penelitian ini dimulai dengan pengambilan sampel dari daun rumput gajah di UB *Forest*. Sampel daun rumput gajah yang sehat dipotong sekitar 3 cm dari ujung daun. Sampel daun kemudian dipotong sepanjang 0,5 cm dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi aquades steril 10 ml lalu ditutup rapat dan diberi label.

3.3.2 Isolasi Bakteri Filosfer

Isolasi bakteri filosfer pada rumput gajah dilakukan dengan menggunakan metode *dillution plate* atau pengenceran bertingkat. Sampel daun rumput gajah di dalam tabung yang berisi aquades dikocok menggunakan vortex selama 3 menit kemudian potongan daun dikeluarkan dari tabung menggunakan pinset. Suspensi bakteri pada tabung disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm.



Supernatan diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml. Pengenceran dilakukan hingga pengenceran tingkat 10^{-8} , dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-5} , dan 10^{-7} diambil sebanyak 100 μ l menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam cawan Petri yang berisi media NA. Suspensi bakteri diratakan dengan menggunakan batang gelas. Isolat diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang kemudian koloni yang tumbuh dimurnikan hingga didapatkan koloni tunggal.

3.3.3 Persiapan Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae*

Isolat bakteri *Xanthomonas oryzae* didapatkan dari koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Isolat bakteri *Xanthomonas oryzae* ditumbuhkan dan dimurnikan pada media NA untuk mendapatkan biakan murni dan tunggal.

3.3.4 Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan untuk membuktikan apakah suatu isolat bakteri termasuk patogen tanaman dan mampu menimbulkan penyakit pada tanaman inangnya. Uji patogenisitas dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri patogen pada tanaman inang.

Benih padi IR64 terlebih dahulu direndam dengan air bersih selama 24 jam untuk menyeleksi benih kemudian benih dibalut dengan kain selama 2 hari untuk dikecambahkan. Setelah benih berkecambah benih dapat dipindahkan ke wadah persemaian (Hardianto *et al.*, 2015). Setelah bibit padi berumur 7-14 hari dipindahkan kedalam polibag yang telah diisi dengan tanah dan kompos. Uji patogenisitas pada penelitian ini dilakukan dengan melukai daun padi dengan gunting dan dicelupkan ke dalam suspensi bakteri selama ± 10 detik. Pengamatan dilakukan pada 7HSI. Daun yang bergejala selanjutnya dilakukan isolasi kembali. Uji patogenisitas dinyatakan positif jika diperoleh koloni bakteri yang serupa dengan bakteri yang diinokulasikan pada daun padi dan dinyatakan negatif jika koloni yang diperoleh tidak serupa dengan bakteri yang diinokulasikan (Wahyudi *et al.*, 2011).

3.3.5 Seleksi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis dari Daun Rumput Gajah

Seleksi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *spray* (pengkabutan) (Kawaguchi *et al.*, 2008). Isolat bakteri yang telah dibiakkan



selama 24 jam dibuat suspensi dengan mengambil satu Ose koloni bakteri dan dimasukkan kedalam 1 ml aquades steril. Suspensi bakteri kemudian dikocok sampai benar-benar tercampur. Kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan kedalam suspensi bakteri selama 2 menit dan ditiriskan selama 3 jam. Kertas saring kemudian diletakkan pada media NA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya tanda-tanda pertumbuhan bakteri di sekitar kertas saring, apabila bakteri telah tumbuh selanjutnya ditetesi kloroform. Kloroform diberikan dengan cara diteteskan pada tutup cawan Petri menggunakan mikropipet dalam keadaan terbalik lalu dibiarkan selama 1 jam. Pada permukaan biakan bakteri diberi pengkabutan menggunakan suspensi bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* dengan kerapatan 10^9 cfu/ml. Biakan bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang kemudian diukur zona hambat yang muncul. Penghambatan oleh bakteri ditandai dengan munculnya diameter zona bening, selanjutnya zona bening diukur menggunakan penggaris. Bakteri yang menunjukkan daya hambat terbaik diambil untuk kemudian diuji secara *in vitro*.

3.3.6 Uji Hipersensitif

Respon hipersensitif diartikan sebagai reaksi mempertahankan yang cepat dari tanaman menghadapi patogen yang tidak kompatibel disertai dengan kematian sel yang cepat pada jaringan di daerah yang diinjeksi suspensi bakteri (Klement et a., 1990). Uji hipersensitivitas isolat bakteri terhadap tanaman tembakau dilakukan dengan menyuntikkan koloni bakteri dengan kerapatan 10^8 sel/ml dalam kultur cair dengan menggunakan syringe (tanpa jarum). Pengamatan gejala penyakit dilakukan hingga 72 jam setelah penyuntikan (Zou, 2006). Hipersensitif positif ditandai dengan munculnya bercak nekrosis kecoklatan dan kering pada daun tembakau. Sedangkan negatif jika tidak muncul gejala hal ini berarti bakteri bukan merupakan patogen.

3.3.7 Uji Antagonis Bakteri Filosfer Terhadap *Xanthomonas oryzae*.

Pengujian antagonis dilakukan dengan metode pengkabutan seperti yang dilakukan pada tahap seleksi. Empat isolat dari hasil seleksi diuji kemampuan antagonisnya dengan menggunakan 6 perlakuan dan 4 ulangan menggunakan Ranangan Acak Lengkap (RAL).

Tabel 1. Tabel Perlakuan Secara *In Vitro*

No.	Perlakuan
1.	Isolat bakteri filosfer kode P14 (Bakteri antagonis dan bakteri <i>Xanthomonas oryzae</i>)
2.	Isolat bakteri filosfer kode P58 (Bakteri antagonis dan bakteri <i>Xanthomonas oryzae</i>)
3.	Isolat bakteri filosfer kode P62 (Bakteri antagonis dan bakteri <i>Xanthomonas oryzae</i>)
4.	Isolat bakteri filosfer kode P63 (Bakteri antagonis dan bakteri <i>Xanthomonas oryzae</i>)
5.	Kontrol positif menggunakan bakterisida berbahan aktif <i>Streptomycin</i> 1gr/l.
6.	Kontrol negatif menggunakan aquades steril

3.3.8 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis Terhadap bakteri *Xanthomonas oryzae*

Identifikasi bakteri mengacu pada buku Bergey's Determinative Bacteriology dan Schaad *et al.*, (2001). Identifikasi ini dilakukan pada bakteri yang menunjukkan antagonism terhadap pertumbuhan bakteri *Xanthomonas oryzae*. Pengujian akan dilakukan dengan sebagai berikut:

a. Uji Gram

- Pengecatan Gram

Uji pengecatan Gram dilakukan dengan mengambil bakteri berumur 48 jam dan diletakkan diatas gelas obyek steril dan dikeringkan diatas lampu bunsen. Setelah itu ditetesi dengan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit kemudian dicuci dan dikeringkan diatas bunsen. Gelas obyek kemudian ditetesi dengan iodin selama 1 menit, dicuci dan dikeringkan. Warna ungu yang ditinggalkan dari kristal violet kemudian dicuci dengan alkohol 95% sampai kristal violet terlihat mengalir, kemudian dicuci dan dikeringkan. Setelah itu ditetesi dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dan dikeringanginkan. Bakteri kemudian diamati dibawah mikroskop. Gram negatif ditunjukkan oleh warna merah terang dan Gram positif berwarna ungu gelap.

- Uji Kelarutan KOH 3%

Bakteri berumur 48 jam diletakkan diatas gelas obyek steril kemudian ditetesi dengan satu atau dua tetes KOH 3%. Gram negatif ditunjukkan dengan adanya benang jika jarum Ose diangkat sedangkan Gram positif tidak membentuk benang.

b. Pewarnaan Spora



Pewarnaan spora merupakan uji lanjutan dari pewarnaan Gram. Pengujian ini dilakukan pada bakteri bergram positif untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki spora atau tidak. Satu jarum Ose biakan bakteri umur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas obyek yang telah disterilkan dan difiksasi diatas bunsen. Kemudian ditetesi dengan *malachite green* dan biarkan selama 15 menit kemudian cuci dengan air mengalir. Setelah dikeringkan diatas bunsen lalu ditetesi dengan safranin dan biarkan selama 1 menit, lalu cuci dengan air mengalir dan keringkan diatas bunsen. Selanjutnya amati dibawah mikroskop. Spora bakteri akan tampak berwarna kehijauan sedangkan sel vegetatifnya akan berwarna merah.

c. Uji Katalase

Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan H_2O_2 (Hidrogen Peroksida) 3% pada gelas obyek yang bersih. Isolat sebanyak satu ose dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan jarum Ose, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Hadioetomo, 1990).

d. Uji Oksidatif – Fermentatif

Pengujian Oksidatif – Fermentatif bertujuan untuk mengetahui sifat oksidasi maupun fermentasi bakteri dengan menggunakan dua tabung yang salah satunya ditutup dengan menggunakan paraffin sehingga didalam tabung tidak akan terjadi fermentasi (Kismiyanti *et al.*, 2009). Isolat bakteri berumur 48 jam diambil dengan menggunakan jarum ose dan ditusukkan kedalam media OF. Tiap-tiap bakteri diinokulasikan ke dalam dua tabung dengan tabung pertama ditambahkan paraffin cair sebanyak 1 ml sebagai penutup dan tabung kedua tanpa ditambahkan paraffin kemudian diinkubasi selama 7 hari. Apabila pada tabung yang diberi paraffin berubah warna dari biru menjadi kuning maka bakteri bersifat fermentatif sedangkan jika tidak terjadi perubahan warna maka bakteri bersifat oksidatif.

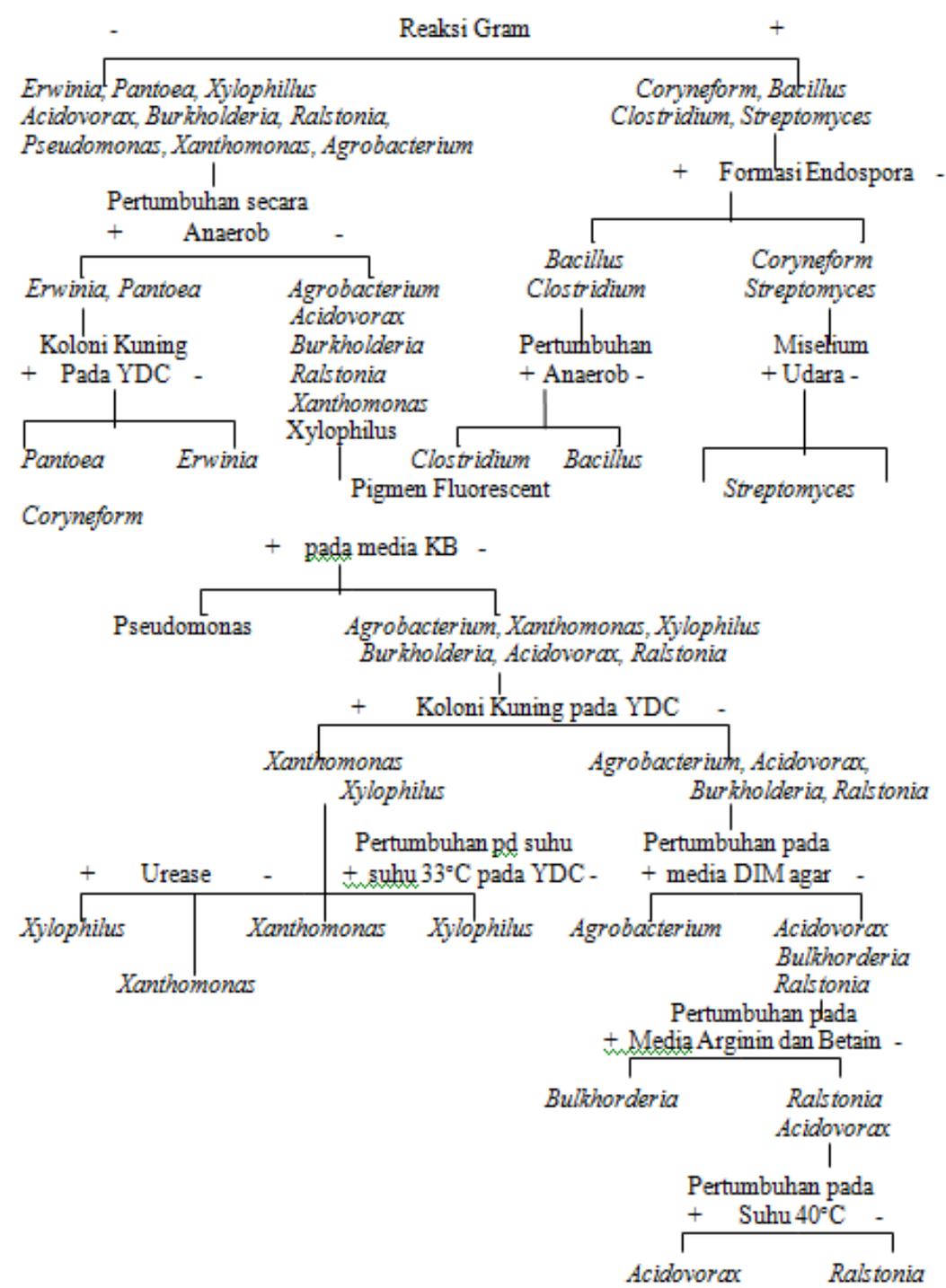
e. Pigment Flourescent pada Media King's B

Bakteri ditumbuhkan pada media King's B dan diinkubasi selama 48 jam dan kemudian diamati dibawah lampu UV untuk melihat koloni tampak berpendar atau tidak. Bakteri termasuk kedalam golongan *flourescent* apabila menghasilkan pigmen berwarna biru atau hijau.



f. Pertumbuhan pada Media YDC

Pengujian pada media selektif YDC bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan selektif antara genus *Erwinia* dan *Pantoea*. Bakteri ditumbuhkan pada media YDC dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Apabila koloni yang tumbuh berwarna kuning maka termasuk genus *Pantoea* dan apabila berwarna putih maka termasuk genus *Erwinia*.



Gambar 2. Diagram pengujian bakteri hingga tingkat Genus (Schaad et al., 2001)



3.4 Variabel Pengamatan

Zona Hambat Bakteri Antagonis terhadap Bakteri Patogen

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong secara vertikal dan horizontal dengan menggunakan rumus:

$$S = \frac{V+H}{2}$$

Keterangan:

S = Proporsi zona hambat disekitar koloni antagonis (cm)

V = Diameter zona hambat secara vertikal (cm)

H = Diameter zona hambat secara horizontal (cm)

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisa menggunakan analisis ragam ANOVA. Data yang menunjukkan hasil berbeda nyata akan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf 5%.

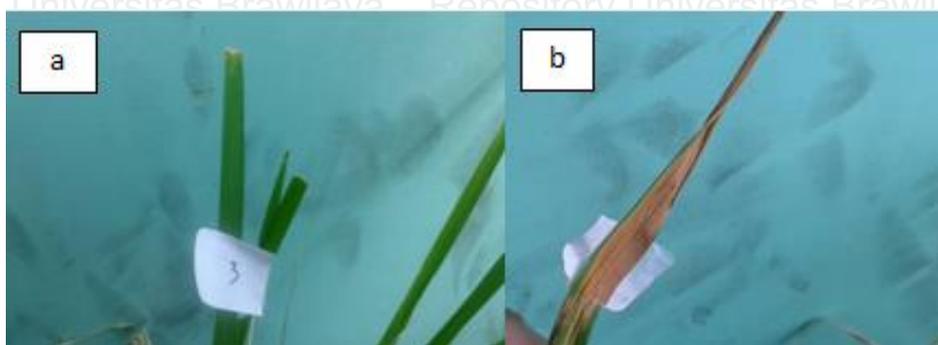


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pemurnian Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae* dan Uji Patogenisitas

Isolat bakteri *Xanthomonas oryzae* didapatkan dari koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Isolat bakteri *Xanthomonas oryzae* ditumbuhkan dan dimurnikan pada media NA untuk mendapatkan biakan murni dan tunggal.

Uji patogenisitas bertujuan untuk membuktikan bahwa isolat yang didapatkan bisa menimbulkan gejala yang sama dengan gejala penyakit yang ditemukan sebelumnya. Pengujian dilakukan dengan menggunakan bakteri *Xanthomonas oryzae* yang telah dimurnikan pada media NA. Bakteri tersebut diujikan pada tanaman padi sehat yang berumur 21 HST di *polybag*. Uji patogenisitas dilakukan dengan melukai ujung daun yang akan diinokulasi. Luka tersebut dapat menjadi lubang masuknya bakteri patogen ke dalam tanaman padi. Melalui luka tersebut, bakteri kemudian bergerak sambil memperbanyak diri menuju xilem. Bakteri juga dapat masuk pada tanaman padi melalui luka alami seperti hidatoda, seperti cara Xoo menginfeksi daun padi. Namun, infeksi bakteri lebih mudah terjadi melalui bagian daun yang terluka (Gnanamanickam *et al.*, 1999). Pengamatan dilakukan hingga 7 HSI menunjukkan adanya gejala yaitu mula-mula pada tepi atau bagian daun yang luka tampak garis bercak kebasahan, kemudian berkembang meluas, berwarna hijau keabu-abuan, seluruh daun keriput, dan akhirnya layu seperti tersiram air panas (Gambar 3b). Gejala yang khas adalah penggulungan helaian daun dan warna daun menjadi hijau pucat atau ke abu-abuan (Suparyono dan Sudir, 1992).



Gambar 3. Gejala penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi: (a) Kontrol aquades; (b) Daun padi yang diinokulasi *X.oryzae* pada 7 HSI.

4.2 Pembahasan Hasil Seleksi Bakteri dari Filosfer Tumbuhan Rumpuk Gajah di UB Forest

Hasil eksplorasi bakteri filofser dari tumbuhan rumput gajah di UB Forest didapatkan 65 isolat bakteri. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat (*dilution plate*). Pengenceran dilakukan hingga pengenceran tingkat 10^{-8} . Selanjutnya isolat bakteri yang telah didapatkan diseleksi untuk mendapatkan isolat bakteri yang bersifat antagonis, bakteri yang bersifat antagonis akan menghasilkan zona bening di sekitar bakteri. Hasil seleksi bakteri antagonis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil seleksi bakteri filofser rumput gajah terhadap *Xanthomonas oryzae*

Kode Isolat	Hasil Seleksi								
P1	-	P15	-	P28	-	P41	-	P54	-
P2	-	P16	-	P29	-	P42	-	P55	-
P4	-	P17	-	P30	-	P43	-	P56	-
P5	-	P18	-	P31	-	P44	-	P57	-
P6	-	P19	-	P32	-	P45	-	P58	+
P7	-	P20	-	P33	-	P46	-	P59	-
P8	-	P21	-	P34	-	P47	-	P60	-
P9	-	P22	-	P35	-	P48	-	P61	-
P10	-	P23	-	P36	-	P49	-	P62	+
P11	-	P24	-	P37	+	P50	-	P63	+
P12	-	P25	-	P38	-	P51	-	P64	-
P13	-	P26	-	P39	-	P52	-	P65	-
P14	-	P27	-	P40	-	P53	-		

Keterangan: (+) menghasilkan zona bening, (-) tidak menghasilkan zona bening

Berdasarkan hasil seleksi menunjukkan bahwa dari 65 isolat yang didapatkan melalui 11 kali isolasi hanya 4 bakteri yang mampu menghasilkan zona hambat. Hal ini dimungkinkan bahwa bakteri yang diisolasi bergenus sama sehingga perannya sama. Perbedaan lingkungan pada bakteri filofser rumput gajah dan bakteri *Xanthomonas oryzae* juga dapat menjadi salah satu faktor. Menurut Wiyono (2007) bakteri *Xanthomonas oryzae* menghendaki suhu optimum 30° C. Sedangkan UB Forest terlatak di lereng gunung yang cenderung memiliki suhu yang lebih rendah sehingga bakteri filofser dari rumput gajah di UB Forest sulit beradaptasi pada lingkungan yang berbeda. Bakteri yang dihadapkan pada suhu tinggi diatas suhu maksimum akan menyebabkan kematian thermal (WMI, 2003).

Selain itu banyak sedikitnya bakteri filofser pada daun juga dipengaruhi oleh beberapa hal. Permukaan daun terkena suhu yang berfluktuasi dengan cepat

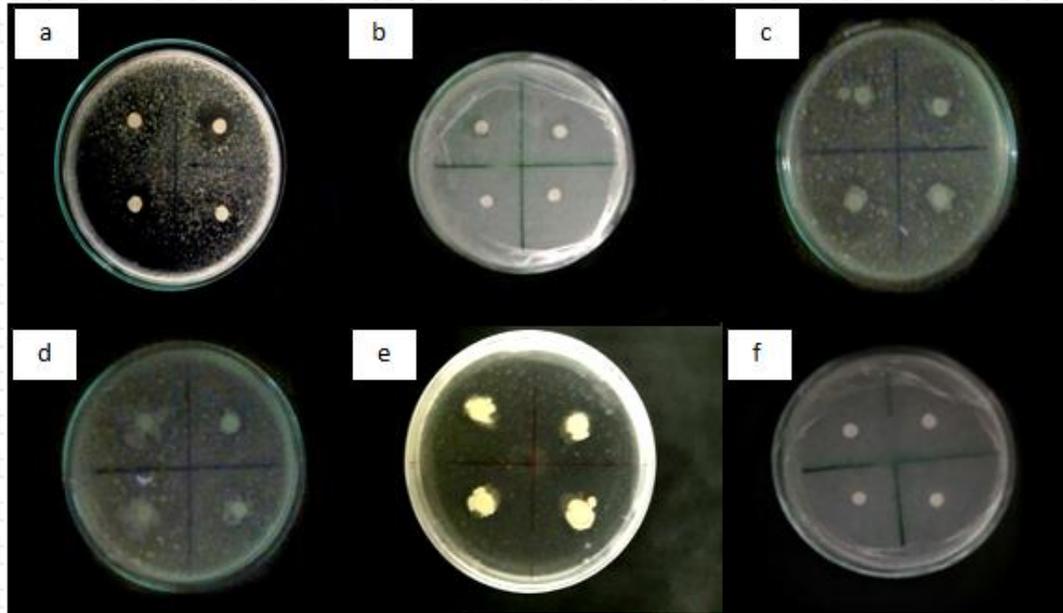
dan kelembaban relatif serta ada tidaknya kelembaban yang dipengaruhi oleh hujan dan embun. Permukaan daun juga menyediakan sumber nutrisi yang terbatas bagi koloni bakteri. Selain itu beberapa faktor dapat mempengaruhi mikrohabitat bakteri pada daun. Pertama, daun dikelilingi oleh lapisan laminar yang sangat tipis dimana kelembaban yang dikeluarkan melalui stomata menjadi terhalangi sehingga mengurangi tekanan air pada bakteri dipermukaan. Selain itu sebagian besar koloni bakteri pada tanaman mudah tercuci dari daun atau mati karena cahaya ultraviolet (Lindow dan Brandl, 2003).

Menurut Leveau dan Linow (2000) banyak sedikitnya bakteri pada daun berbeda dari daun satu ke daun lain dan cepat berubah dari segi ukuran dan komposisi. Bakteri dapat datang dan hilang dari permukaan daun melalui hujan, angin dan serangga. Pada saat bakteri tiba di daun, bakteri akan menghadapi situasi yang sulit seperti ketersediaan air, radiasi ultraviolet dan ketersediaan nutrisi. Meskipun tumbuhan terlihat sehat, tumbuhan bisa kekurangan zat metabolime seperti karbohidrat, asam amino, asam organik pada permukaan daun. Ketersediaan nutrisi ini tergantung pada beberapa hal diantaranya spesies tanaman, karakteristik daun seperti kelembaban dan umur daun serta durasi dan intensitas hujan dan embun.

4.3 Hasil Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* Secara *In Vitro*

Bakteri antagonis yang telah diseleksi selanjutnya diuji penghambatan dengan bakteri *Xanthomonas oryzae* menggunakan metode pengkabutan. Pengamatan zona hambat bakteri antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* dilakukan 48 jam hingga 72 jam setelah inokulasi.

Hasil uji antagonis bakteri filofosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa bakteri antagonis mampu menghambat *Xanthomonas oryzae*, hal ini dapat dilihat dari adanya zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan hasil uji antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae*, keempat isolat bakteri mampu menghasilkan zona bening (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil uji antagonis bakteri filosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* setelah 72 jam: (a) Isolat P14; (B) Isolat P58; (c) Isolat P62, (d) Isolat P63, (e) Kontrol positif; (f) kontrol negatif.

Hasil uji antagonis terhadap bakteri *Xanthomonas oryzae* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata presentase zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri *Xanthomonas oryzae*

Perlakuan	Rerata Zona Hambat (cm)	
	Hari ke-2	Hari ke-3
Isolat P14	1.28 ±1.11 bc	1.33±1.12 bc
Isolat P58	0.70±0.04 ab	0.70±0.04 ab
Isolat P62	1.61±0.26 c	1.64±0.21 c
Isolat P63	1.68±0.32 c	1.74 ±0.26 c
Kontrol <i>Streptomycin</i>	1.41±0.11 c	1.48±0.05 c
Kontrol Aquades	0±0 a	0 ±0 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji lanjut Duncan taraf 5%

Pengamatan dilakukan pada pada hari kedua hingga hari ketiga. Isolat kode P14, P62 dan P63 menunjukkan daya hambat yang sama dengan kontrol bakterisida *Streptomycin* sedangkan isolat bakteri kode P58 hanya menghasilkan zona hambat sebesar 0.70 cm baik pada hari kedua pengamatan maupun hari ketiga pengamatan. Menurut Pelczar and Chan (2008), semakin besar zona bening yang terbentuk, maka semakin besar aktivitas penghambatan isolat bakteri terhadap bakteri patogen. Zona bening yang terbentuk disebabkan oleh zat

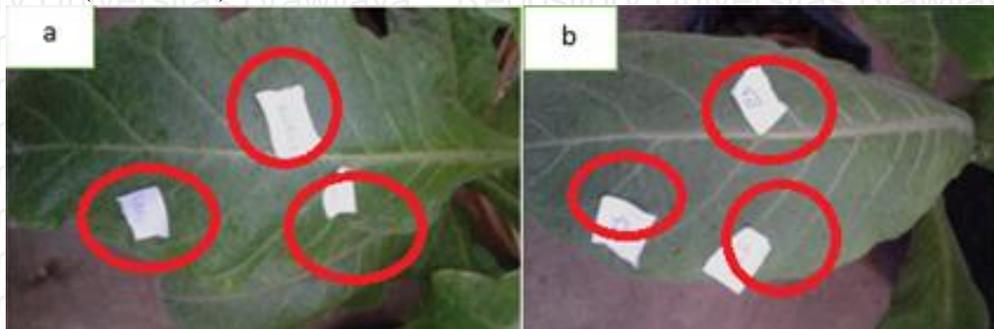
antimikroba yang dihasilkan bakteri (Zou *et al.*, 2006). Zat antimikroba tersebut merupakan salah satu bentuk aktivitas senyawa antibiotik.

Mikroba antagonis dapat berfungsi sebagai agens pengendali patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, parasitisme atau ketahanan yang terinduksi. Antibiosis merupakan mekanisme yang paling umum pada mikroba antagonis. Antibiosis sendiri dapat diartikan sebagai antagonis yang menghasilkan senyawa seperti senyawa antibiotik, enzim litik, senyawa volatil, siderofor dan senyawa beracun lainnya (Islam *et al.*, 2015). Menurut Lindow dan Brandl (2003) mekanisme antagonis yang sering dilakukan oleh bakteri filosoffer adalah dengan menghasilkan senyawa antibiotik, enzim, hormon atau toksin.

4.4 Hasil Uji Hipersensitif Bakteri Filosoffer pada Daun Tembakau

Hipersensitif pada tembakau dipilih karena termasuk cepat dan mudah (Wick, 2010). Respon hipersensitif diartikan sebagai reaksi mempertahankan yang cepat dari tanaman saat menghadapi pathogen disertai dengan kematian sel yang cepat pada jaringan di daerah yang diinjeksikan suspensi bakteri (Klement *et al.*, 1990).

Uji hipersensitif dilakukan dengan menyuntikan koloni isolat bakteri dengan kerapatan 10^8 sel/ml dalam kultur cair dengan menggunakan *syringe* (tanpa jarum). Hasil uji hipersensitif menunjukkan bahwa perlakuan kontrol dan keempat isoalat bakteri yang diinfiltrasi tidak menimbulkan adanya perubahan warna (daun tetap hijau) dan tidak menunjukkan adanya gejala nekrosis pada 48 jam setelah infiltrasi (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil uji hipersensitif bakteri pada daun tembakau setelah 72JSI: (a) kontrol, diinfiltrasi dengan akuades; (b) diinfiltrasi dengan isolat bakteri kode P58.

Keempat isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif. Isolat yang tidak menunjukkan adanya gejala berarti menunjukkan reaksi negatif. Menurut Hanudin



dan Idijarto (2011), reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna jaringan yang telah diinfiltrasi dari hijau menjadi coklat nekrosis kemudian diikuti dengan matinya jaringan tersebut.

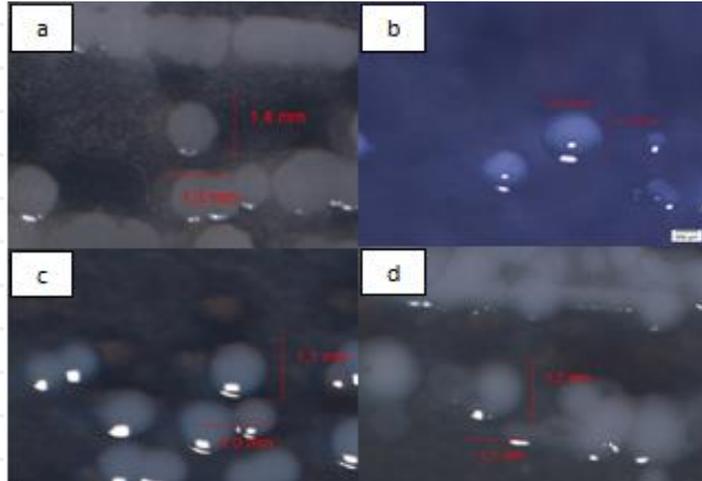
4.5 Hasil Karakterisasi Bakteri Filosfer Tumbuhan Rumput Gajah

Karakterisasi secara fisiologi dan morfologi dilakukan dengan mengacu pada buku *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Pengujian dilakukan dengan pengamatan koloni bakteri, uji Gram, pewarnaan spora, uji katalase, uji oksidatif-fermentatif, uji pigment *flourescent* pada media Kings B dan uji pada media YDC.

4.4.1 Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi morfologi dilakukan dengan pengamatan koloni tunggal untuk melihat bentuk, warna, elevasi, tepi, bentuk sel dan ada tidaknya mukoid pada koloni bakteri yang diamati. Pengujian ini dilakukan dengan memurnikan bakteri hingga terbentuk koloni tunggal dan diamati dibawah mikroskop. Pengamatan ini mngacu pada buku *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001).

Berdasarkan hasil pengamatan secara morfologi koloni bakteri kode P14, P58, P62 dan P63 berbentuk bulat. Pada isolat bakteri dengan kode P14 koloni berwarna putih keruh, sedangkan pada isolat P58, P62 dan P63 memiliki warna putih susu . Pada keempat isolat bakteri yaitu kode P14, P58, P62 dan P63 memiliki tepian rata. Isolat bakteri P14 memiliki elevasi rata, sedangkan isolat bakteri P58, P62 dan P63 memiliki elevasi cembung. Pada isolat bakteri kode P14 terdapat adanya mukoid atau lendir pada koloni sedangkan pada ketiga isolat bakteri kode P58, P62 dan P63 tidak ditemukan adanya mukoid atau lendir pada koloni bakteri (Gambar 6 dan Tabel 4). Isolat kode P14, P58, P62 dan P63 memiliki sel berbentuk batang. Pada isolat kode P14 tergolong kedalam Gram positif sedangkan ketiga isolat lain yaitu P58, P62 dan P63 tergolong kedalam gram negatif. Hasil karakterisasi bakteri filofosfer dapat dilihat pada tabel 4.



Gambar 6. Hasil pengamatan koloni tunggal bakteri filosfer dibawah mikroskop: (a) bakteri kode P14; (b) bakteri kode P58; (c) bakteri kode P62; (d) bakteri kode P63.

Tabel 4. Hasil karakterisasi morfologi bakteri filosfer

Kode Isolat	Karakterisasi Morfologi						
	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Bentuk Sel	Mukoid	Gram
Isolat P14	Bulat	Putih keruh	Rata	Rata	Batang	Tidak ada	Positif
Isolat P58	Bulat	Putih	Cembung	Rata	Batang	Ada	Negatif
Isolat P62	Bulat	Putih	Cembung	Rata	Batang	Ada	Negatif
Isolat P63	Bulat	Putih	Cembung	Rata	Batang	Ada	Negatif

4.4.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Selain pengamatan morfologi, dilakukan pengamatan secara fisiologi dan biokimia yang mengacu pada *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Pada karakterisasi fisiologi dan biokimia dilakukan pengujian berupa uji pewarnaan gram, uji KOH 3%, uji katalase, uji pewarnaan spora, uji oksidatif-fermentatif, uji pada media YDC dan uji pigment *flourescent* pada media King's B. Hasil karakterisasi secara fisiologi dan biokomia pada keempat isolat dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil karakterisasi secara fisiologi dan biokimia

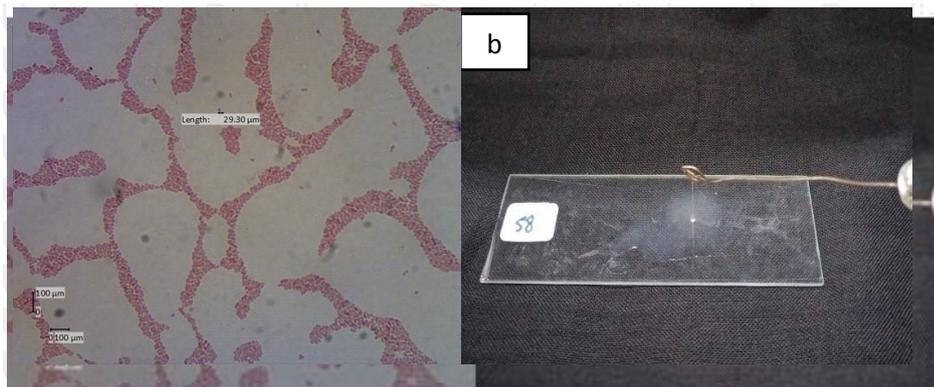
Kode Isolat	Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia							Hasil Identifikasi
	Pewarnaan Gram	Uji KOH 3%	Pewarnaan Spora	Uji Katalase	Uji Oksidatif-Fermentatif	Uji YDC	Uji Media King's B	Genus
Isolat P14	Positif	+	+	+	Fermentatif	TU	TU	<i>Clostridium</i>
Isolat P58	Negatif	-	TU	+	Fermentatif	+	TU	<i>Erwinia</i>
Isolat P62	Negatif	-	TU	+	Oksidatif	TU	+	<i>Pseudomonas</i>
Isolat P63	Negatif	-	TU	+	Oksidatif	TU	+	<i>Pseudomonas</i>

Keterangan: (+) menunjukkan reaksi positif, (-): menunjukkan reaksi(-), TU: tidak diuji

a. Uji Gram

Uji Gram adalah pengujian yang dilakukan untuk membedakan bakteri menjadi kelompok Gram positif atau kelompok Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram pada ketiga isolat bakteri yaitu P58, P62 dan P63 berwarna merah yang berarti merupakan bakteri Gram negatif (Gambar 7a). Sedangkan isolat P14 memiliki Gram positif. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna biru atau ungu yang berarti mampu mengikat warna dari kristal violet, dan bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang berarti tidak mampu mengikat kristal violet (Schaad *et al.*, 2001).

Setelah dilakukan pewarnaan Gram dilanjutkan dengan uji KOH, yaitu dengan memberikan larutan Kalium Hidroksida pada bakteri. Hasil uji KOH 3% pada isolat P14 tidak menunjukkan adanya lendir sedangkan ketiga isolat bakteri yaitu P58, P62 dan P63 menunjukkan adanya lendir ketika ditarik dengan jarum Ose (Gambar 7b), lendir yang terbentuk menunjukkan bakteri tersebut dikelompokkan kedalam bakteri negatif namun jika tidak terbentuk tergolong bakteri Gram positif (Kurnia *et al.*, 2016). Pada pengujian KOH, pemberian Kalium Hidroksida pada bakteri Gram negatif membuat dinding sel bakteri pecah sehingga dapat melepaskan materi genetik sehingga bakteri menjadi berlendir, sedangkan pada Gram positif pemberian Kalium Hidroksida tidak berpengaruh sehingga tidak berlendir (PHE, 2015).



Gambar 7. Hasil uji Gram pada bakteri filosfer: (a) Uji pengecatan Gram isolat P58 berwarna merah muda saat diamati dibawah mikroskop sehingga termasuk Gram negatif; (b) Uji KOH 3% bakteri isolat P58 termasuk Gram negatif karena menghasilkan lendir setelah ditetesi dengan KOH 3% yang ditandai dengan adanya lendir saat jarum Ose ditarik.



b. Pewarnaan Spora

Pewarnaan spora merupakan uji lanjut dari uji pewarnaan Gram. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji memiliki spora atau tidak. Pada isolat P14 yang diuji menunjukkan adanya warna hijau pada sel bakteri, hal ini menunjukkan bahwa isolat kode P14 memiliki spora (Gambar 8).

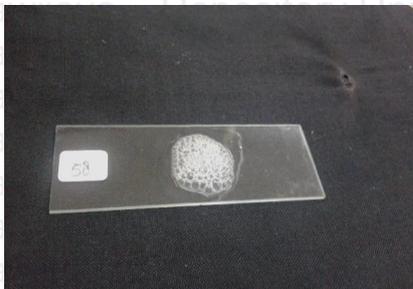
Pada pewarnaan spora, pewarna yang digunakan adalah safranin dan *malachite green*. Bakteri yang memiliki spora akan mengikat kuat *malachite green* sehingga ketika diberi safranin bakteri tidak berikatan karena telah berikatan dengan *malachite green*. Hasil dari pewarnaan spora pada bakteri setelah dilihat pada mikroskop akan berwarna hijau dan sel vegetatifnya berwarna merah muda (Rezki, 2018).



Gambar 8. Pewarnaan spora pada isolat P14 menunjukkan sel spora berwarna hijau saat diamati dibawah mikroskop.

c. Uji Katalase

Uji katalase adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim katalase atau tidak. Hasil uji katalase pada keempat isolat bakteri yaitu P14, P58, P62 dan P63 menunjukkan reaksi positif dengan terbentuknya gelembung udara (Gambar 9).



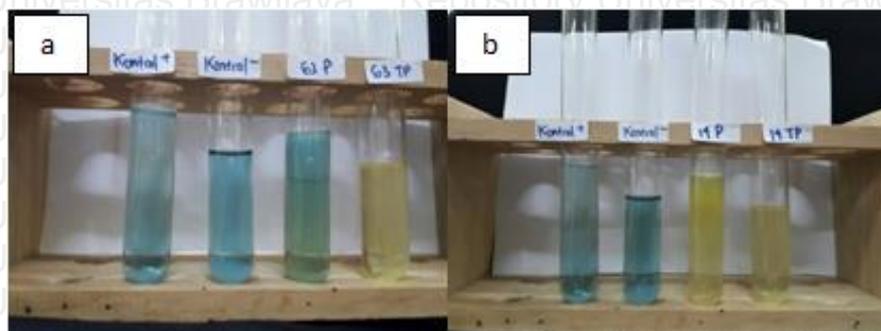
Gambar 9. Hasil uji katalase pada bakteri kode P63 bersifat positif karena menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan adanya gelembung saat ditetesi kalium hidroksida.

Enzim katalase dihasilkan dari adanya dekomposisi dari hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga terbentuk gelembung udara. Hidrogen peroksida terbentuk sebagai hasil akhir oksidatif dari reaksi aerob. Hidrogen peroksida juga bersifat toksik pada sel bakteri hingga dapat menyebabkan kematian sel, sehingga saat diberikan katalase hidrogen peroksida dapat terurai (PHE, 2019).

d. Uji Oksidatif-Fermentatif

Pengujian oksidatif-fermentatif yang dilakukan pada keempat isolat bakteri menunjukkan bahwa dua isolat bakteri kode P14 dan P58 bersifat positif karena adanya perubahan warna dari warna biru menjadi kuning pada tabung yang ditutup dengan parfin cair maupun tidak (Gambar 10b), sedangkan dua isolat lain yaitu kode P62 dan P63 bersifat negatif karena tidak adanya perubahan warna pada tabung yang ditutup dengan paraffin cair (Gambar 10a).

Bakteri yang dapat menfermentasi glukosa bersifat fermentatif yang diindikasikan dengan adanya perubahan warna pada tabung yang tidak ditutup paraffin (aerob) dan pada tabung yang ditutup paraffin (anaerob). Sedangkan bakteri non-fermentatif yang memetabolisme glukosa bersifat oksidatif yang diindikasikan tidak adanya perubahan warna pada tabung yang ditutup dengan paraffin (Hanson, 2008).

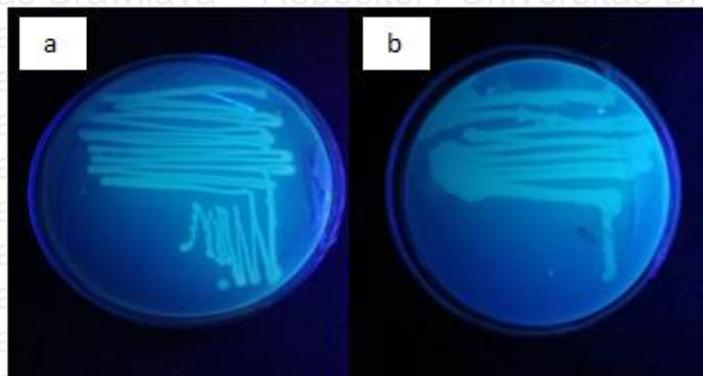


Gambar 10. Hasil uji oksidatif-fermentatif pada bakteri filosoffer: (a) Kode isolat P63 bersifat oksidatif karena tabung yang ditutup agar tidak terjadi perubahan warna; (b) Kode isolat P14 bersifat fermentatif karena tabung yang ditutup agar terjadi perubahan warna.

e. Uji Pigmen *Flourescent* pada Media Kings B

Pengujian pigmen *flourescent* dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media King's B untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji

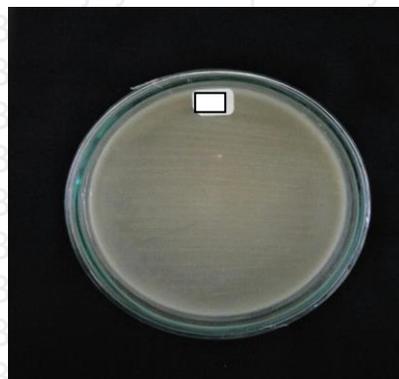
menghasilkan pigmen *flourescent* atau tidak. Pada kedua isolat bakteri yang diuji yaitu P62 dan P63 menunjukkan warna koloni yang berpendar pada saat diamati dibawah sinar ultraviolet (Gambar 11). Sebagian besar bakteri dari genus *Pseudomonas* menghasilkan pigmen biru-kehijauan, pyocyanin (Meera dan Balabaskar, 2012). Menurut Kiewnick dan Sands (2011) bakteri yang mengeluarkan warna hijau-kebiruan dan berpendar merupakan *Pseudomonas* dari golongan *flourescent*.



Gambar 11. Uji pada media King's B dibawah ultraviolet menunjukkan reaksi positif (a) Isolat kode P62 dan (b) Isolat kode P63 pada media King's B menghasilkan pigment *flourescent* dibawah sinar UV

f. Uji Pada Media YDC

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui koloni bakteri yang diuji termasuk kedalam genus *Erwinia* ataupun *Pantoea*. Pada isolat bakteri yang diuji yaitu P58 menghasilkan koloni berwarna putih sehingga merupakan bakteri pada genus *Erwinia* (Gambar 12). Media YDC digunakan untuk membedakan koloni bakteri *Erwinia* dan *Pantoea* (Schaad et al., 2001). Koloni bakteri dari genus *Pantoea* pada media YDC berwarna kuning (Hiliatur, 2014).



Gambar 12. Bakteri isolat kode P58 pada media YDC menghasilkan koloni berwarna putih

4.4.3 Hasil Identifikasi Bakteri Filosfer pada Tumbuhan Rumput Gajah

a. Isolat bakteri P14

Isolat bakteri P14 memiliki koloni berbentuk bulat, tepi rata, elevasi rata dan tidak memiliki mukoid. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat P14 tergolong kedalam Gram positif, berbentuk batang, memiliki spora bersifat fermentatif, dan bereaksi positif saat uji katalase. Menurut buku pedoman *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk kedalam genus *Clostridium* sp.

b. Isolat bakteri P58

Isolat bakteri P58 memiliki koloni berbentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung dan memiliki mukoid. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat P58 tergolong kedalam Gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif, bereaksi positif saat uji katalase, dan memiliki koloni berwarna putih pada media YDC. Menurut buku pedoman *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk kedalam genus *Erwinia* sp.

c. Isolat bakteri P62

Isolat bakteri P62 memiliki koloni berbentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung dan memiliki mukoid. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat P62 tergolong kedalam Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif, bereaksi positif saat uji katalase, dan berpendar saat dilihat pada media King's B. Menurut buku pedoman *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp.

d. Isolat bakteri P63

Isolat bakteri P63 memiliki koloni bulat, tepi rata, elevasi cembung dan memiliki mukoid. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat P63 tergolong kedalam Gram negatif, berbentuk batang, bersifat oksidatif, bereaksi positif saat uji katalase, dan berpendar saat dilihat pada media King's B. Menurut buku pedoman *Bergey's Determinativ Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan ciri-ciri tersebut termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp.



Berdasarkan hasil identifikasi melalui identifikasi morfologi dan fisiologi diketahui bahwa isolat bakteri kode P14 adalah bakteri dari genus *Clostridium*, isolat bakteri kode P58 adalah bakteri dari genus *Erwinia* dan bakteri kode P62 serta P63 berasal dari genus *Pseudomonas*. Menurut Lindow dan Brandl (2003) bakteri filofit yang paling banyak ditemukan pada permukaan daun adalah bakteri dari Gram negatif seperti *Pseudomonas* sp dan *Erwinia* sp yang merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan pada filofit. Genus *Erwinia* merupakan salah satu genus bakteri yang kebanyakan merupakan patogen namun ada genus *Erwinia* yang mampu menghambat patogen, salah satunya adalah *Erwinia carotovora*. *Erwinia carotovora* tidak menimbulkan penyakit dan dapat menekan spesies *Erwinia* lainnya (Balai Penelitian Tanaman Hias, 2012).

Pseudomonas dari golongan *fluorescent* merupakan bakteri yang paling sering digunakan sebagai bakteri antagonis (Weller *et al.*, 2002). *Pseudomonas* dikenal karena fleksibilitas metabolisme dan plastisitas genetiknya serta kemampuannya menekan penyakit tanaman (Gallaso *et al.*, 2000). Kebanyakan bakteri *Pseudomonas* adalah agens antagonis yang menggunakan mekanisme kompetisi namun akhir-akhir ini antibiosis diketahui sebagai mekanisme tambahan (Temple *et al.*, 2004). Mekanisme antibiosis dilakukan dengan menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik seperti phenazines, pyrrolnitrin, pyocyanin dan phloroglucionol dan enzim ekstraseluler serta asam pseudomonat (Soesanto, 2008). Sementara itu berdasarkan Newiadomska *et al.* (2013) *Clostridium* dan *Bacillus* menggunakan mekanisme dengan mensintesis enzim litik dan antibiosis.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan diantaranya:

1. Berdasarkan hasil eksplorasi bakteri filofser dari tumbuhan rumput gajah di UB Forest didapatkan sebanyak 65 isolat bakteri.
2. Empat isolat bakteri mampu menghambat pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* secara *in vitro*, isolat kode P14, P62 dan P63 menunjukkan daya hambat yang sama dengan kontrol bakterisida *Streptomycin* 1 gr/l. Sedangkan isolat kode P58 menunjukkan daya hambat terendah.
3. Hasil identifikasi dan karakterisasi menunjukkan isolat kode P14 termasuk kedalam genus *Clostridium*, isolat kode P58 termasuk kedalam genus *Erwinia* dan isolat kode 62 serta 63 termasuk kedalam genus *Pseudomonas*.

5.2 Saran

Berdasarkan kajian yang telah dilakukan oleh penulis, maka dari hasil penelitian yang telah dilakukan diharapkan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai uji penghambatan bakteri filofser tumbuhan rumput gajah secara *in vitro*. Selain itu sebaiknya pemilihan jenis tumbuhan dan karakter daun yang dieksplorasi lebih bervariasi.



DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2015. Produksi Padi menurut Provinsi. <https://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/865>. Diakses tanggal 23 Maret 2018.
- Balai Besar Pelatihan Pertanian Lembang. 2010. Penyakit Hawar Daun Bakteri <http://www.bbpp-lembang.info/index.php/arsip/artikel/artikel-pertanian/508-penyakit-hawar-daun-bakteri>. Diakses 23 Maret 2018.
- Balai Besar Peramalan Organisme Pengganggu Tumbuhan. 2007. Efektivitas Bakteri Antagonis *Corynebacterium* terhadap HDB/kresek. <http://bbpopt.tanamanpangan.pertanian.go.id/>. Diakses 23 Oktober 2017.
- Balai Penelitian Tanaman Hias. 2012. Mikroba Anragonis sebagai Agen Hayati Pengendali Penyakit Tanaman. <http://www.balithi.litbang.dptan.go.id>. Diakses 4 Mei 2019.
- Baskaran, R., Mohan, P. M., Sivakumar, K., Ragavan, P. dan Sachithanandam, V.2012. Phyllosphere Microbial Populations of Ten True Mangrove Species of the Andaman Island. *International Journal of Microbiological Research*. 3 (2): 124-127.
- Brar S.D., Khush G.S. 1997. Alien Introgression in Rice. *Plant Mol. Biol.* 35:35–45.
- Dasuki, U.A. 1994. Sistematika Tumbuhan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati.. Bandung: ITB Bandung.
- Efendi, A.R. Eko, D. W. Umiyasih, U dan Mulyadi, A. 2001. Peningkatan. Produktifitas Hijauan Dengan Pupuk Organik. *Jurnal Teknologi Hasil Pengkajian BPTP*.
- EPPO.2007. *Xanthomonas oryzae*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 37: 543–553
- Galasso, O., Sponza, G., Bazzi, C., and Vanneste, J. L. 2002. Characterization of Two Fluorescent Strains of *Pseudomonas* as Biocontrol Agents Against Fire Blight. *Acta Horti*. 590: 299-307.
- Gnanamanickam S.S., Priyadarisini V.B., Narayanan N.N., Vasudevan, P, Kavitha, S. 1999. An Overview of Bacterial Blight Disease of Rice and Strategies for Its Management. *Curr Sci* 77:1435.
- Hadioetomo, R.S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: Penerbit PT Gramedia.
- Hanson, Anne. 2008. Oxidative-Fermentative Test Protocol. <http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3151>. Diakses tanggal 12 Juni 2019.



- Hanudin dan Indijarto. 2011. Karakterisasi *Pseudomonas viridiflava*: Penyebab Penyakit Busuk Lunak dan Evaluasi pada Klon Anggrek Phalaenopsis. *Journal HPT Tropika*. 2 (2): 185-193.
- Holt, J.G., N.R., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T., dan Williams, S.T. 1999. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th Edition. Baltimore: The Williams dan Wikins Company.
- Islam, T.M., Hashidoko, Y., Deora, A., Ito, T., and Tahara, S. 2005. Suppression of Damping-off Disease in Host Plants by The Rhizoplane Bacterium *Lysobacter* sp. Strain SB-K88 is Linked to Plant Colonization and Antibiosis Against Soilborne Peronosporomycetes. *Environ Microbiol*. 71: 3786-3796.
- Jha, G., Rajeswhari, R., dan Shonti R.V. 2007. Functional Interplay Between Two *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Secretion Systems in Modulating Virulence on Rice. *Mol. Plant-Microbe Interact*. 20:31-40.
- Kawaghuci, A., K. Inoue., dan Y. Ichinose. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grepevine, Rose, Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. *Journal Phytopathology*. 14 (2): 76-80
- Kiewnick A.B., Sands D.C. 2001. Gram Negative Bacteria *Pseudomonas*. Dalam: Schaad NW, Jones JB, and Chun W (Ed). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. St Paul: APS Press.
- Kismiyati., Subekti S., Yusuf R.W.N., dan Kusdarwati R. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bacteri Gram Negatif pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kurnia, K., Nina H.S., Syafitri, J. 2016. Isolasi Bakteri Heterotrof di Situ Cibuntu, Jawa Barat dan Karakterisasi Resistensi Asam dan Logam. *Journal of Biology*. 9 (2): 74-79
- Lindow, S.E. dan Brandl, M.T. 2003. *Microbiology of the Phyllosphere*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(4): 1875-1883.
- Litbang Pertanian. 2010. Pengendalian Hama Terpadu. <http://bengkulu.litbang.pertanian.go.id/ind/images/dokumen/CETAKAN-2010/isi-pht.pdf>. Diakses 23 Maret 2018
- Makarim A.K., dan E. Suhartatik. 2009. *Morfologi dan Fisiologi Tanaman adi*. Sukabumi: Balai Besar Penelitian Tanaman Padi.
- Meera, T., dan Balabaskar, P. 2012. Isolation and Characterization of *Pseudomonas flourescent* From Rice Field. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*. 2 (1): 113-120.



- Niewiadomska., Aleksandra, S., Dorota S.D., Justyna, S., Hanna,S. 2013. Antagonism of Sporulating *Bacillus* and *Clostridium* Bacteria and *Pseudomonas flourescent* Bacteria Isolated From Under Maize With Pathogenic *Fusarium Species* on Different Culturing Media. *Fragm Agron.* 30(4): 97–104.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*, Alih bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka,S. L. Jakarta: UI Press.
- Public Health England. 2015. *UK Standards For Microbiology Investigations: Pottasium Hydroxide Test*. Cermanthen: Crown Publishing.
- Public Health England. 2019. *UK Standards For Microbiology Investigations: Catalase Test*. Cermanthen: Crown Publishing.
- Puslitbang Tanaman Pangan. 2012. *Peningkatan Produksi Padi Menuju 2020*.http://pangan.litbang.deptan.go.id/index.php?bawaan=download/download_detail&&id=35. Diakses tanggal 23 Oktober 2017.
- Rezki. 2018. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Rizosfer Tanaman Pisang (Musa paradisiaca) Antagonis Fusarium oxysporum f.sp musaceae secara In Vitro*. Makassar: Universitas Negeri Makassar.
- Sanderson, M. A. and R. A., Paul. 2008. *Perennial Forages as Second Generation Bioenergy Crops*.*International. Journal of Molecular Sciences.* 9: 768-788.
- Santosa, Teguh. 2009. *Inovasi Teknologi Pengembangan dan Pemanfaatan Musuh Alami Penyakit untuk Menekan Kesenjangan Hasil Tanaman Aneka Kacang dan Ubi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Sartori, M., Nesci A., Gercia J., Passone M.A. 2016. *Efficacy of Epiphytic Bacteria to Prevent Northern Leafblight Caused by Exserohilum turcicum in Maize*. *Revista Argentina de Microbiologia.* 49(1):75-82.
- Schaad, N., Jones J.B., dan Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria*. Ed Ketiga. St. Paul Minessota: APS Press.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Sudir dan Sarlan Abdulrachman. 2009. *Pengaruh Pupuk Terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri Xanthmonas oryzae pv. oryzae pada Varietas Padi Unggul Baru, Tipe Baru dan Hibrida*. *Prosiding Seminar Nasional Padi 2008. Inovavasi Teknologi Padi Mengantisipasi Perubahan Iklim Global Mendukung Ketahanan Pangan*. Buku I : 431-441.



Sudir. 2011. Pengaruh Varietas, Populasi Tanaman dan Waktu Pemberian Pupuk N Terhadap Penyakit Padi. Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Padi Nasional 2010. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi: 393-604.

Sudir., B, Nuryanto., TS., Kadir. 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Jurnal IPTEK Tanaman Pangan 7 (2): 79-87.

Suparyono dan Sudir. 1992. Perkembangan Penyakit Bakteri Hawar Daun pada Stadia Tumbuh yang Berbeda dan Pengaruhnya Terhadap Hasil Padi. Media Penelitian Sukamandi 12: 6-9.

Suparyono, Sudir, dan Suprihanto. 2003. Komposisi patotipe patogen hawar daun bakteri pada tanaman padi stadium tumbuh berbeda. Jurnal Penelitian Pertanian 22(1): 45-50.

Suprihanto, Suparyono, dan Sudir. 2002. Mikroorganisme yang Berasosiasi dengan Benih dan Bibit Padi Tidak Normal. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Bogor. 28-30.

Temple T.N., Stockwell V.O., Loper J.E., Johnson K.B. 2004. Bioavailability of Iron to *Pseudomonas fluorescens* Strain A506 on Flowers of Pear and Apple. Phytopathology 94:1286-1294.

Valverde, A. Tiranti M.G., Sierra M.M., Rivas R., Regina I.S., Igual J.M., 2017. Culturable Bacterial Diversity from The Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Phyllosphere and Antagonism Against the Fungi Causing The Chestnut Blight and Ink Diseases.. AIMS Microbiology, 3(2): 293-314.

Wahyudi, T., Siti, M., Abjad A.N. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv *Oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun Padi: Isolasi, Karakterisasi, dan Telaah Mutagenesis dengan Transposon. Journal Sains. 15(1): 89-96.

Weller D.M., Raaijmakers J.M., McSpadden G.B., Thomashow L.S. 2002. Microbial Populations Responsible for Specific Soil Suppressiveness to Plant Pathogens. Annu Rev Phytopathol. 40:309-348.

Wick, Robert. 2001. Tobacco Hypersensitivity; The First Test to Screen Bacteria for Pathogenicity. Boston: University of Massachusetts, Departement of Plant and Insect Science.

Wilson, L. M., and Price, S. A. 2006. Patofisiologi : Konsep Klinis Proses- Proses Penyakit, Edisi 6, Volume 1. Jakarta: EGC.

Wiyono, S. 2007. Perubahan Iklim dan Ledakan Hama dan Penyakit Tanaman. Makalah Seminar Sehari tentang Keanekaragaman Hayati



ditengah Perubahan Iklim: Tantangan MasaDepan Indonesia. pp.1–10. Jakarta. 18 Juni 2008.

World of Microbiology and Immunology. 2003. Thermal Death. <https://www.encyclopedia.com/science/encyclopedias-almanacs-transcripts-and-maps/thermal-death>. Diakses tanggal 5 Agustus 2019.

Zhang, B., Bai Z., Hoefel, D., Wang, X., Zhang, L., dan Ling, Z. 2010. Microbial Diversity within The Phyllosphere of Different Vegetable Species. Formatex Research Center.

Zou, L.F., Wang X., Xiang Y., Li, Y., Xiao, Y., Wang, J., Walmsey A.R., dan Chen, G. 2006. Elucidation of the *hrp* Clusters of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola* That Control the Hypersensitive Response in Nonhost Tobacco and Pathogenicity in Susceptible Host Rice. *Microbiology*. 72(9): 6212-6224.



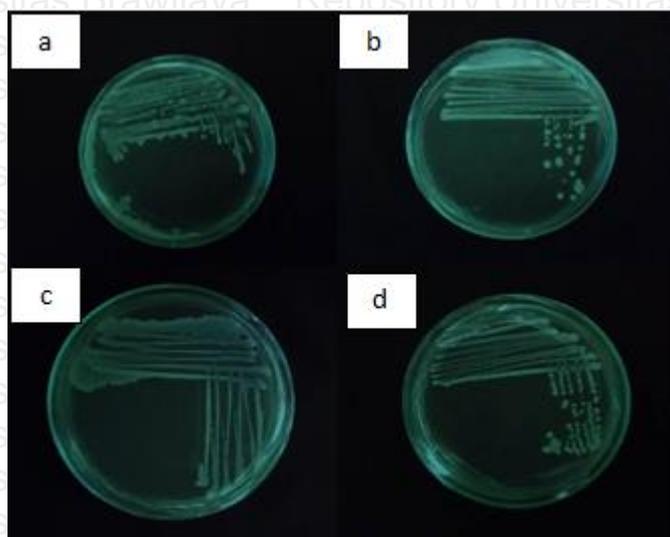
LAMPIRAN

Tabel lampiran 1. Hasil Analisis Ragam Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* pada hari kedua.

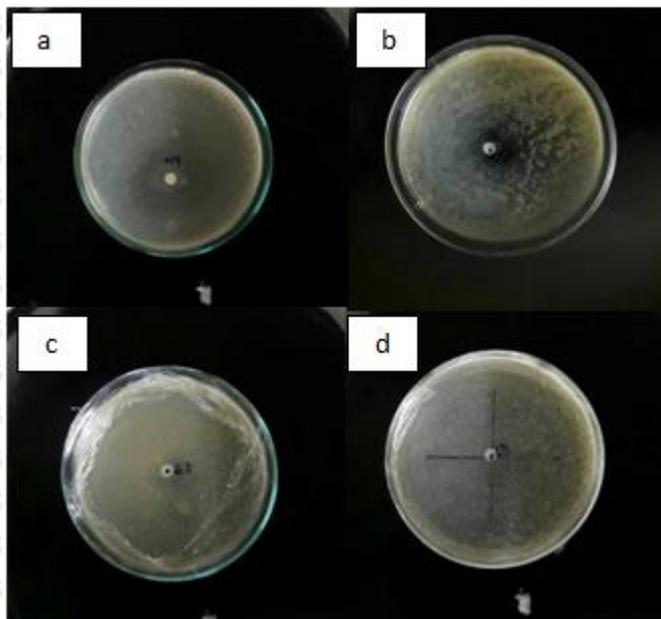
Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	8.36	5	1.67	6.98**	2.77
Galat	4.31	18	0.24		
Total	12.68	23			

Tabel lampiran 2. Hasil Analisis Ragam Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* pada hari ketiga.

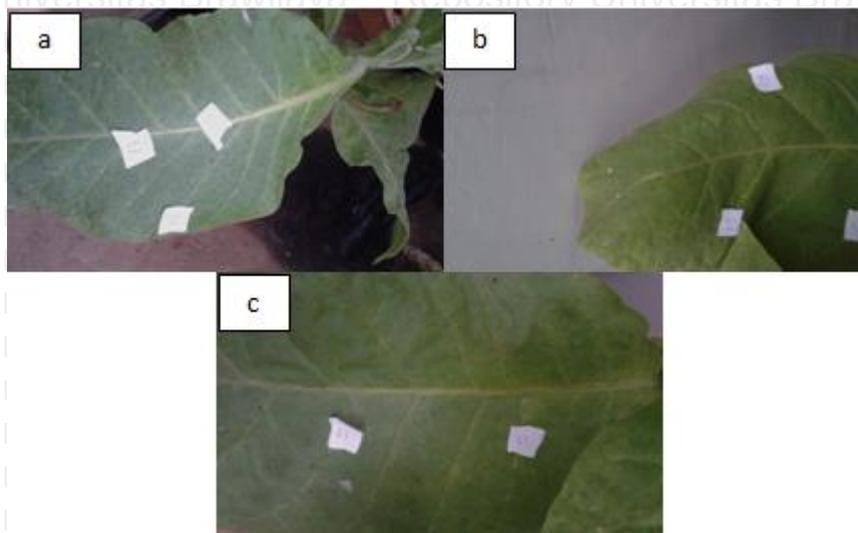
Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	8.98	5	1.80	7.38**	2.77
Galat	4.38	18	0.24		
Total	13.35	23			



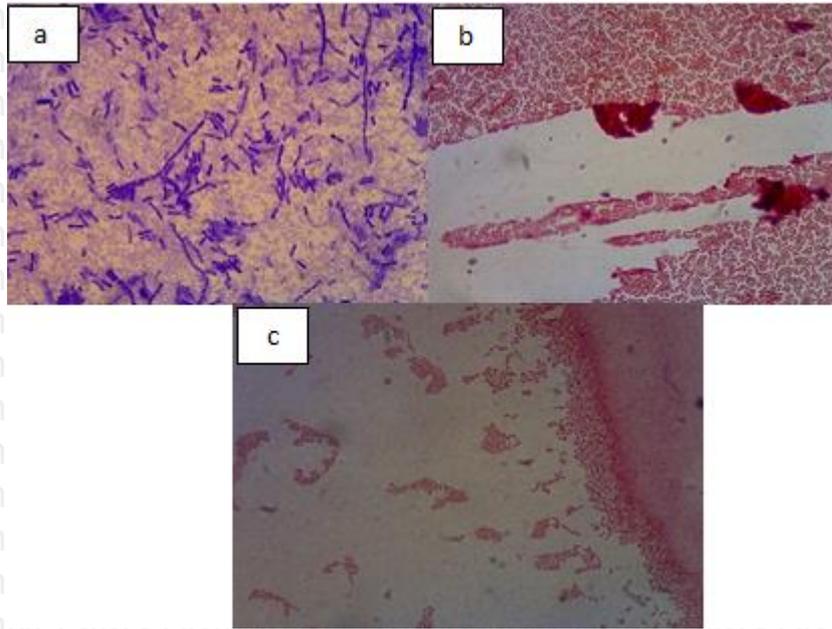
Gambar lampiran 1. Streak tunggal bakteri filosfer yang terpilih (a) bakteri kode P14; (b) bakteri kode P58; (c) bakteri kode P62; (d) bakteri kode P63.



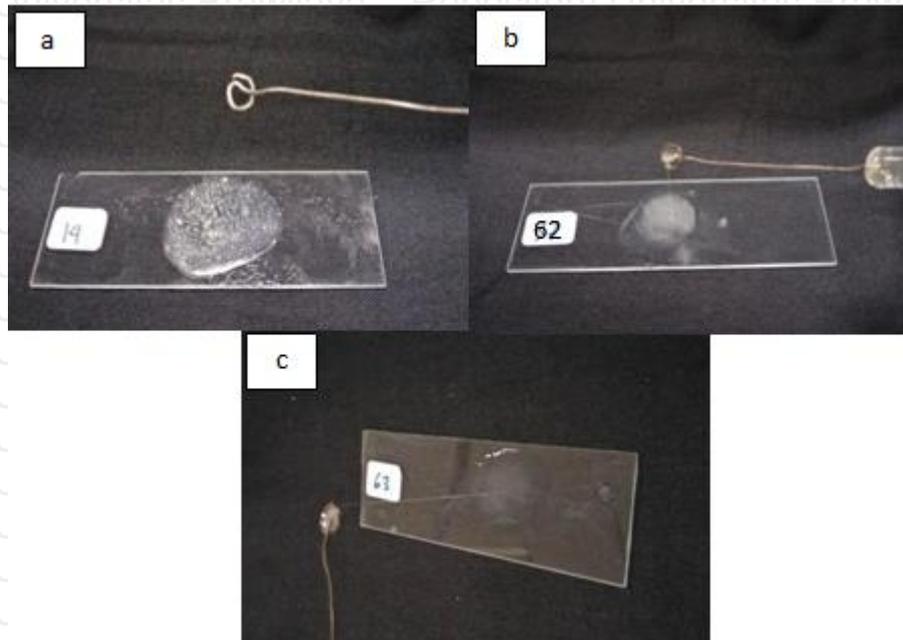
Gambar lampiran 2. Zona bening yang dihasilkan keempat bakteri yang terpilih (a) bakteri kode P14; (b) bakteri kode P58; (c) bakteri kode P62; (d) bakteri kode P63.



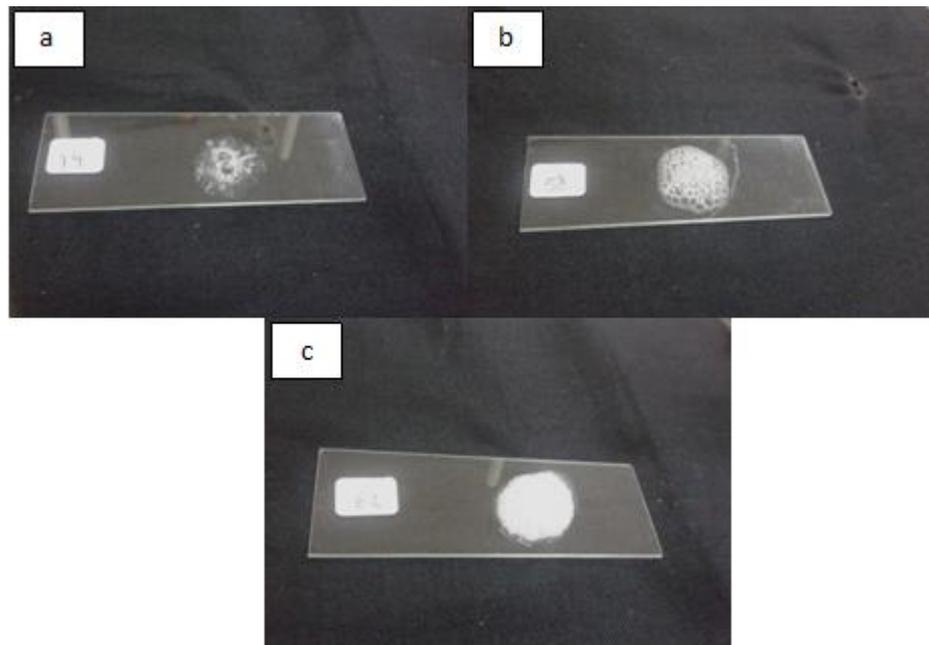
Gambar lampiran 3. Hasil uji hipersensitif bakteri filiosfer pada daun tembakau : (a) bakteri kode P37; (b) bakteri kode P62; (c) bakteri kode P63



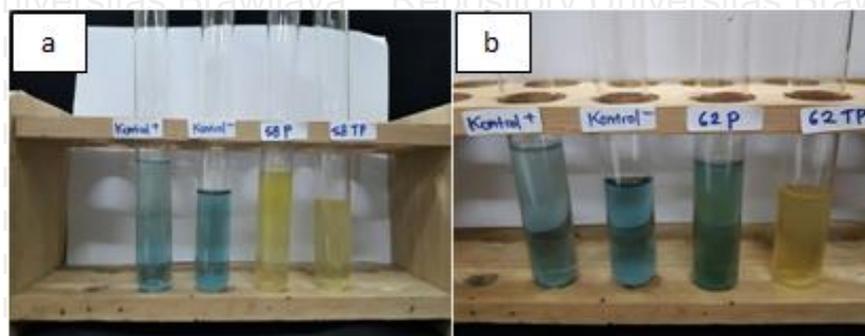
Gambar lampiran 4. Hasil pewarnaan Gram bakteri filusfer: (a) bakteri kode P14 bergram positif karena sel berwarna ungu; (b) bakteri kode P62 bergram negatif karena sel berwarna merah muda ; (c) bakteri kode P63 bergram negatif karena sel berwarna merah muda.



Gambar lampiran 5. Hasil uji KOH 3% pada bakteri filusfer: (a) bakteri kode P14 tidak berlendir; (b) bakteri kode P62 berlendir; (c) bakteri kode P63 berlendir.



Gambar lampiran 6. Hasil uji katalase bakteri filosfer: (a) bakteri kode P14 ; (b) bakteri kode P58; dan (c) bakteri kode P62 bereaksi positif dengan menghasilkan enzim katalase yang ditandai adanya gelembung.



Gambar lampiran 7. Hasil uji oksidatif-fermentatif bakteri filosfer: (a) bakteri kode P58 bersifat fermentatif karena pada tabung yang ditutup agar terjadi perubahan warna ; (b) bakteri kode P62 bereaksi negatif karena pada tabung yang ditutup agar tidak terjadi perubahan warna.