

**POTENSI METABOLIT SEKUNDER BAKTERI RIZOSFER UB  
FOREST DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT HAWAR DAUN  
BAKTERI (*Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae*) PADA  
TANAMAN PADI**

Oleh

**ELLY QURROTU A'YUN**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG**

**2020**

**POTENSI METABOLIT SEKUNDER BAKTERI RIZOSFER UB  
FOREST DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT HAWAR DAUN  
BAKTERI (*Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae*) PADA  
TANAMAN PADI**

**OLEH**

**ELLY QURROTU A'YUN**

**16504020711111**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI  
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh**

**Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

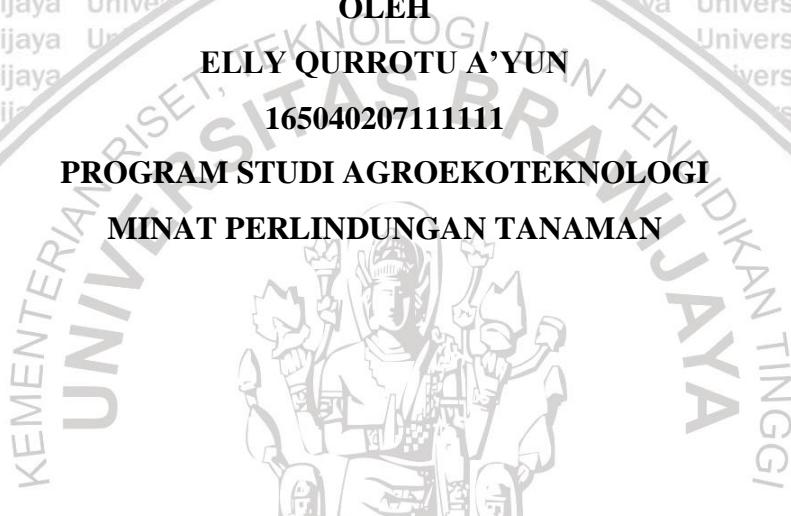
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**MALANG**

**2020**





## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan dari dosen 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, 20 Oktober 2020

Elly Qurrotu A'yun

## **LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul Skripsi	:	Potensi Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB Forest dalam Menghambat Penyakit Hawar Daun Bakteri ( <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> ) pada Tanaman Padi
Nama Mahasiswa	:	Elly Qurrotu A'yun
NIM	:	165040207111111
Jurusan	:	Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	:	Agroekoteknologi

Disetujui:

Pembimbing Utama,

## Pembimbing Pendamping,

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

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

Diketahui,  
Ketua Jurusan



Tanggal Persetujuan: 22 FEB 2021

### **LEMBAR PENGESAHAN**

## Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

## Penguji I

Dr. Anton Muhibuddin, SP), MP  
NIP. 19771130 2005011 002

Pengujii

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

Penguji III

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

Penguji IV

Lugman Qurata Aini, SP, M.Si., PhD.  
NIP. 1972091 9199802 1 001

Tanggal lulus: 29. DEC 2020



*Skrripsi ini kupersembahkan teruntuk kedua orangtuaku tercinta  
yang telah menyayangiku tanpa lelah dan tanpa batas  
jauh sebelum matakku menatap marcapada fana  
Dan tak lupa teruntuk kedua adikku tersayang  
Terimakasih kuucap syukur yang tiada ujung  
kepada Allah SWT, Tuhan pemurah lagi penyayang  
yang telah mengirimkan orang-orang baik selama ini*

## RINGKASAN

**ELLY QURROTU A'YUN 165040207111111. Potensi Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB Forest dalam Menghambat Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) Pada Tanaman Padi. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc**

Padi menjadi sumber kebutuhan pangan manusia hampir setengah dari dunia termasuk Indonesia. Salah satu permasalahan tanaman padi diantaranya yaitu serangan penyakit Hawar Daun Bakteri (HDB) yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Penyakit HDB menyerang pada stadia anakan, generatif dan pemasakan, dapat juga menyerang pada malai tanaman padi, yang menyebabkan pengisian gabah padi tidak maksimal. Dampak dari serangan penyakit HDB menyebabkan penurunan hasil panen yang bervariasi, tergantung stadia tanaman terserang. Persentase kerugian berupa penurunan hasil akibat dari serangan HDB bisa mencapai 50%. Tujuan penelitian ini mengetahui potensi bakteri rizosfer UB Forest dan metabolit sekundernya sebagai agen antagonis terhadap hawar daun bakteri dan meningkatkan ketahanan tanaman padi terhadap Xoo.

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2019 sampai Agustus 2020 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan beberapa tahapan yaitu: pembuatan media NA untuk menumbuhkan bakteri Xoo dan isolat bakteri rizosfer UB Forest, purifikasi bakteri Xoo dan rizosfer UB Forest, uji patogenesitas, uji antagonis bakteri Xoo dengan bakteri rizosfer UB Forest, ekstraksi metabolit sekunder bakteri rizosfer UB Forest yang memiliki sifat antagonis, uji metabolit sekunder bakteri rizosfer UB Forest secara *in vitro*, pembibitan padi di *green house* dan pengaplikasian hasil ekstraksi metabolit sekunder secara *in vivo*, dan analisis data.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil dari uji patogenesitas gejala hawar daun bakteri muncul setalah 3 hari inokulasi pada daun padi dengan cara menggunting daun kemudian direndam pada suspensi Xoo. Hasil uji antagonis dari 15 bakteri rizosfer UB Forest terdapat 11 bakteri yang bersifat antagonis terhadap Xoo. Hasil uji antagonis dilakukan uji lanjut DMRT 5%, kemudian diambil 3 isolat bakteri dengan indeks penghambatan tertinggi sebesar 2.78 cm, 1.78 cm dan 1.45 cm yaitu *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 dan *Clostridium* sp. N10. Hasil uji antibiosis menunjukkan 11 bakteri tersebut bersifat bakteriostatik. Metabolit sekunder isolat *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp.N23 dan *Clostridium* sp. N10 juga menunjukkan kemampuan penghambatan terhadap pathogen Xoo sebesar 2.63 cm, 2.55 cm, dan 2.55 cm, meskipun masih lebih rendah dibandingkan kontrol. Pada percobaan di pembibitan padi, menunjukkan aplikasi bakteri rizosfer dan metabolit sekundernya berpengaruh terhadap persentase perkecambahan, panjang akar dan persentase serangan hawar daun. Persentase perkecambahan tertinggi yaitu pada perlakuan *Bacillus* sp. N3 dan *Pantoea* sp. N10 sedangkan persentase terendah pada perlakuan bakterisida. Panjang akar tertinggi pada perlakuan *Bacillus* sp. N3. Persentase serangan hawar daun terendah pada *Bacillus* sp. N3 , *Pantoea* sp. N23 dan matabolit sekunder *Bacillus* sp. yang dibandingkan dengan kontrol postif dan bakterisida.

## SUMMARY

ELLY QURROTU A'YUN 16504020711111. Potential Secondary Metabolites of UB Forest Rhizosphere Bacteria Inhibiting Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*) in Rice Plants. Under the guidance Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc as a counselor

Rice is a source of human food needs for almost half of the world, including Indonesia. One of the problems in rice plants is the attack of Bacterial Leaf Blight (HDB) which is caused by the bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). HDB disease attacks the tiller, generative and ripening stage, it can also attack rice panicles, which causes the filling of paddy grain is not optimal. The impact of HDB disease causes a decrease in yields that vary, depending on the stage of the plant affected. The percentage of losses in the form of reduced yield due to HDB attacks can be up to 50%. The purpose of this study was to determine the potential of UB Forest rhizosphere bacteria and their secondary metabolites as antagonistic agents against bacterial leaf blight and the potential in increasing the resistance of rice plants to Xoo.

This research was conducted from December 2019 to August 2020 at the Plant Disease Laboratory, Agriculture Faculty, Brawijaya University, Malang. The implementation of this research was carried out in several stages, namely: making NA media to grow *Xoo* bacteria and UB Forest rhizosphere bacteria isolates, purification of *Xoo* bacteria and UB Forest rhizosphere, pathogenicity test, *Xoo* bacteria antagonism test with UB Forest rhizosphere bacteria, extraction of secondary metabolites of UB Forest rhizosphere bacteria which have antagonistic properties, in vitro test for secondary metabolites of UB Forest rhizosphere bacteria, rice nurseries in green houses and application of secondary metabolite extraction results *in vivo*, and data analysis.

The results showed that the results of the pathogenicity test of bacterial leaf blight symptoms appeared after 3 days of inoculation on rice leaves. The antagonist test results of 15 UB Forest rhizosphere bacteria contained 11 bacteria that were antagonistic to Xoo. The results of the antagonist test were carried out further DMRT 5% test, then 3 bacterial isolates were taken with the highest inhibition indexes of 2.78 cm, 1.78 cm and 1.45 cm, namely *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 and *Clostridium* sp. N10. The results of the antibiosis test showed that the 11 bacteria were bactericidal. Secondary metabolites of *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 and *Clostridium* sp. N10 also showed an inhibitory ability against pathogen Xoo of 2.63 cm, 2.55 cm, and 2.55 cm, although they were still lower than the control. Experiments in rice nurseries showed that the application of rhizosphere bacteria and their secondary metabolites affected the germination percentage, root length and reduced the percentage of leaf blight attack. The highest germination percentage was in the treatment of *Bacillus* sp. N3 and *Pantoea* sp. N10 while the lowest percentage was in the bactericide treatment of 88%. The highest root length in the treatment of *Bacillus* sp. N3. The lowest percentage of leaf blight attack on *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 and the secondary metabolites *Bacillus* sp. which were compared with positive control treatment and bactericide.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT dengan rahmat-Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul *Potensi Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB Forest dalam Menghambat Penyakit Hawar Daun (*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*) Pada Tanaman Padi.* Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya terutama, kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Latief Abadi, MS selaku dosen pembimbing 1 dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP. MP.,M.Sc selaku dosen pembimbing 2 atas segala arahan, nasehat dan bimbingannya dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Bapak Luqman Qurata Aini,S.P.M.Si.,Ph.D. Selaku ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas segala arahan dan bimbingannya.
3. Penghargaan yang tulus penulis sampaikan kepada kedua orang tua tercinta yang selalu mendukung dan mendoakan tanpa putus.
4. Teman-teman seperjuangan, terkhusus Dyah, Mala, Ria, Wida, Intan, Nilam, Febri, teman-teman seerbimbingan, dan teman-teman lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih terdapat keterbatasan dan kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tulisan ini.

Malang, 20 Oktober 2020

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kabupaten Lumajang, Jawa Timur, pada tanggal 3 April 1998 dari pasangan Bapak Ahmad Sampurno dan Ibu Lutfiah Diana Ardani. Penulis anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar di SDN Bodang 01 Lumajang (2004-2010), Sekolah Menengah Pertama di MTs Negeri 1 Lumajang (2010-2013), Sekolah Menengah Atas di MAU Amanatul Ummah Program Excellent Surabaya (2013-2016), dan menjadi Mahasiswa Strata-1 Program studi Agroekoteknologi di Universitas Brawijaya Malang (2016-2020) melalui jalur masuk Seleksi Mandiri Universitas Brawijaya. Selama menjadi mahasiswa penulis menjadi anggota organisasi di UKM FORSIKA bidang Akpro (2016-2017), menjadi anggota bidang penerbitan dan informasi UKM TEGAZS (Tim Penanggulangan Penyalahgunaan NAPZA dan HIV/AIDS) 2017-2018. Penulis juga berpartisipasi di kepanitiaan MTQMN XV 2017 (Musabaqoh Tilawatil Qur'an Mahasiswa Nasional) di bidang MFQ (Musabaqoh Fahmil Qu'an), GBQ V 2018 (Gebyar Brawijaya Qur'an) di bidang MFQ, MTQ UB 2019 di Bidang MFQ , berkontribusi disalah satu program kerja TEGAZS bidang pengabdian yaitu PROGAN (Program Anti Narkoba) di Desa Wagir (2018) dan menjadi panitia disalah satu program kerja HIMAPTA yaitu Klinik Tanaman pada bidang PHT yang diselenggarakan di Kecamatan Pujon (2019).

Penulis juga menjadi asisten praktikum mata kuliah HPPT 2018 (Hama Penyakit Penting Tumbuhan 3 SKS ), MHPT 2019 ( Manajemen Hama Penyakit Tanaman 3 SKS) dan PB 2019 (Pertanian Berlanjut 6 SKS). Penulis melaksanakan magang kerja di PG. Kebon Agung Malang di bidang Tanaman pada bulan Juni-Agustus 2019. Penulis lolos pendanaan PKM-PE (Program Kreativitas Mahasiswa Penelitian Eksakta) pada tahun 2020 serta penulis menjadi pendamping mahasiswa Program Pekarangan Pangan Lestari (P2L) dari Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan.

	<b>DAFTAR ISI</b>	
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>		<b>iv</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>		<b>v</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>		<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>		<b>vii</b>
<b>SUMMARY .....</b>		<b>viii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>		<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>		<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>		<b>xii</b>
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>		<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....		1
1.2 Rumusan Masalah .....		3
1.3 Tujuan Penelitian .....		3
1.4 Hipotesis Penelitian.....		3
1.5 Manfaat Penelitian .....		3
<b>II. TINJUAN PUSTAKA.....</b>		<b>4</b>
2.1 Gejala Serangan <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>Oryzae</i> .....		4
2.2 Bakteri Rizosfer .....		5
2.3 Agens Antagonis .....		6
2.4 Metabolit Sekunder .....		7
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>		<b>10</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....		10
3.2 Alat dan Bahan .....		10
3.3 Metode Penelitian.....		10
3.4 Tahapan Penelitian .....		10
3.5 Variabel Pengamatan .....		14
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>16</b>
4.1 Uji Patogenesitas .....		16
4.2 Uji Antagonis Bakteri Rizosfer UB Forest .....		17
4.3 Uji Jenis Antibiosis .....		20
4.4 Uji Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB Forest .....		21
4.5 Pengujian Bakteri Beserta Metabolit Sekundernya pada Pembibitan Padi .....		23
<b>V. PENUTUP .....</b>		<b>30</b>
5.1 Kesimpulan .....		30
5.2 Saran.....		30
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>36</b>

<b>Nomor</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
1.	Hasil uji karakteristik biokimia bakteri penyebab hawar daun ( <i>Shankara et al. 2017</i> ).....	4
2.	Genus bakteri rizosfer yang digunakan pada pengujian antagonis .....	11
3.	Perlakuan pengujian metabolit sekunder pada pembibitan padi .....	14
4.	Rerata indeks penghambatan bakteri rizosfer UB Forest terhadap bakteri patogen <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> .....	17
5.	Rerata indeks penghambatan metabolit sekunder berdasarkan zonal hambat yang dihasilkan oleh <i>Clostridium</i> sp.N10, <i>Pantoea</i> sp. N23 dan <i>Bacillus</i> sp. N3 .....	22
6.	Hasil pengamatan parameter pertumbuhan .....	24
7.	Hasil pengamatan intensitas serangan xoo.....	26

## DAFTAR GAMBAR

<b>Nomor</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
1.	(a) Morfologi bakteri xoo pada media NA, (b) hasil purifikasi bakteri xoo pada media NA, (c) Koloni tunggal xoo (Hasanah., 2018) .....	4
2.	Gejala tanaman padi yang terserang hawar daun terdapat garis-garis kekuningan yang tidak teratur pada daun tanaman padi, sedangkan daun tanaman padi yang tidak terserang berwarna hijau tanpa adanya garis kekuningan (Syamsiah.,2015) .....	5
3.	Peran mikroba disekitar perakaran terbagi menjadi 3 golongan yaitu peran yang berpengaruh baik diantaranya pada metabolisme, meningkatkan toleransi stres terhadap lingkungan, pertumbuhan tanaman, nutrisi tanaman, proteksi terhadap patogen, dan meningkatkan ketahanan tanaman, sedangkan peran mikroba yang buruk sebagai patogen tanaman dan menyebabkan kontaminasi (Mendes <i>et al.</i> , 2013) .....	6
4.	Empat fase pertumbuhan bakteri yaitu: 1. Fase lag: penyesuaian bakteri pada tempat baru, 2. Fase Eksponensial: Pertumbuhan cepat, 3. Fase Stasioner : laju pertumbuhan bakteri sama besar dengan laju kematian, 4. Kematian: laju kematian lebih besar (Gokulan <i>et al.</i> 2014). .....	8
5.	Hasil uji patogenesitas isolat xoo pada daun padi 14 hari setelah inokulasi (A) kontrol tidak menunjukkan adanya gejala xoo; (B) pada lingkaran merah menunjukkan gejala xoo .....	16
6.	Perbedaan daya hambat pada masing-masing isolat bakteri rizosfer UB Forest pada pengamatan ke 72 jam setalah inokulasi. (a) kontrol streptomisin sulfat (b) <i>Erwinia</i> sp. A4, (c) <i>Clostridium</i> sp. N10, (d) <i>Pantoea</i> sp. N23 dan (e) <i>Bacillus</i> sp. N3 .....	18

7. Pertumbuhan koloni bakteri hasil goresan zona bening dari 11 bakteri yang bersifat antagonis terhadap xoo setelah 24 jam, menunjukkan 11 bakteri antagonis bersifat bakteriostatik.....	20
8. Zona hambat yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder terhadap xoo pada 72 jam setelah inokulasi (A) Metabolit sekunder <i>Clostridium</i> sp. N10, (B) Metabolit sekunder <i>Bacillus</i> sp.N3, (C) Metabolit sekunder <i>Pantoea</i> sp.N23 dan (D) Kontrol streptomisin sulfat.....	21
9. Serangan xoo pada pengamatan ke 5 pada semua perlakuan secara berturut-turut (a) <i>Bacillus</i> sp. N3, (b) <i>Pantoea</i> sp. N23, (c) <i>Clostridium</i> sp. N10, (d) Metabolit sekunder <i>Bacillus</i> sp. N3, (e) Metabolit sekunder <i>Pantoea</i> sp. N23, (f) Metabolit sekunder <i>Clostridium</i> sp. N10, (g) bakterisida, (h) kontrol positif dan, (i) kontrol negatif .....	28
10. Gejala fitotoksis pada perlakuan bakterisida yang ditandai daun klorosis berwarna putih.....	28

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
Teks	
1. Dokumentasi uji antagonis .....	36
2. Data indeks penghambatan uji antagonis bakteri rizosfer terhadap xoo.....	37
3. Analisis ragam uji penghambatan 24 jam .....	40
4. Analisis ragam uji antagonis 48 Jam.....	40
5. Analisis ragam uji antagonis 72 Jam.....	41
6. Dokumentasi uji antibiosis.....	42
7. Uji metabolit sekunder .....	43
8. Analisis ragam uji metabolit sekunder 24 Jam .....	43
9. Analisis ragam metabolit sekunder 48 Jam.....	44
10. Analisis ragam uji antagonis metabolit sekunder 72 Jam .....	44
11. Streak metabolit sekunder .....	45
12. Perhitungan koloni bakteri .....	45
13. Denah penanaman padi .....	46
14. Data pertumbuhan .....	47
15. Analisis ragam panjang akar .....	48
16. Analisis ragam jumlah daun.....	48
17. Analisis ragam panjang tanaman.....	49
18. Deskripsi Varietas IR64 .....	50
19. Dokumentasi pembibitan .....	51
20. Dokumentasi <i>in vivo</i> (14 HST) .....	52
21. Data persentase serangan xoo .....	53
22. Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke- 1 .....	54
23. Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke-2.....	54
24. Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke -3.....	55
25. Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke-4.....	56
26. Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke-5.....	56
27. Dokumentasi serangkaian pelaksanaan <i>in vivo</i> .....	57



28. Dokumentasi pengamatan penyakit ke 2.....	58
29. Dokumentasi pengamatan penyakit ke 5.....	59



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Oryza sativa* L. dikenal umum dengan tanaman padi. Tanaman padi merupakan tanaman yang sangat penting dalam kehidupan. Padi menjadi sumber kebutuhan pangan manusia hampir setengah dari dunia termasuk Indonesia.

Berdasarkan besarnya kebutuhan dalam kehidupan sehari-hari padi memiliki nilai secara spiritual, ekonomi, budaya dan politik. Berdasarkan Pusat Data dan Informasi Pertanian (2015) jumlah penduduk Indonesia mencapai 255,46 juta dengan pertumbuhan penduduk sekitar 1,20% pertahun dan prediksi permintaan tahun 2016-2019 kebutuhan konsumsi beras langsung yaitu 124,89 kg/kapita/tahun dengan demikian menjadi prioritas untuk meningkatkan produksi padi.

Luas panen padi di Indonesia pada tahun 2019 mengalami penurunan sebesar 700.05 ribu hektar (6.15%), diikuti produksi padi yang menurun sebanyak 4.60 juta ton (7.76%) dari tahun 2018 (BPS., 2020). Upaya untuk memenuhi kebutuhan dilakukannya impor beras, hal ini merupakan keadaan yang tidak dapat dilakukan secara terus menerus. Keberadaan beras yang masih belum mencukupi salah satunya dipengaruhi oleh produksi yang masih rendah disebabkan oleh berbagai permasalahan. Salah satu permasalahan terdapat dalam proses budidaya tanaman padi yaitu serangan penyakit. Penyakit yang menyerang padi salah satunya Hawar Daun Bakteri (HDB) yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (xoo). Penyakit HDB menginfeksi padi pada semua stadia tanaman melalui luka atau pori-pori dan gejala yang terlihat pada tanaman muda disebut dengan “kresek”. Gejala dari serangan HDB daun terdapat garis-garis basah berwarna putih dari tepi bagian atas daun dan bentuknya bergelombang. Semakin lama garis-garis putih ini akan berubah menjadi kuning dan tanaman akan mengalami kematian (Yasmin *et al.*, 2017).

Penyakit HDB menyerang pada stadia anakan, generatif dan pemasakan, dapat juga menyerang pada malai tanaman padi, yang menyebabkan pengisian gabah padi tidak maksimal. Dampak dari serangan penyakit HDB menyebabkan penurunan hasil panen yang bervariasi, tergantung stadia tanaman terserang.

Berdasarkan Sudir *et al.* (2012), persentase kerugian berupa penurunan hasil



akibat dari serangan HDB bisa mencapai 50% bila tanaman terinfeksi pada saat stadia anakan, dan setiap 10% peningkatan serangan penyakit dapat meningkatkan kerugian hasil 5-7%. Perkembangan penyakit HDB dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya faktor lingkungan terutama kelembaban, suhu dan cara budidaya termasuk varietas yang digunakan dan tata cara pemupukan. Menurut Khaeruni *et al.* (2014), pengendalian yang umum dilakukan oleh petani yaitu menggunakan varietas tahan, namun penggunaan varietas tahan ini menimbulkan berkembangnya patotipe xoo yang baru.

Selain itu, upaya pengendalian lain yang telah dilakukan yaitu menggunakan bakterisida. Penggunaan bakterisida secara terus menerus membawa dampak negatif yaitu berupa pencemaran lingkungan, dan mengandung residu pada setiap bulir padi sehingga berdampak pada kesehatan konsumen. Sebagai usaha dalam mewujudkan sasaran produksi rencana strategi kementerian pertanian 2015-2019 sasaran produksi padi pada tahun 2019 yaitu 82.078.000 Ton. Sehingga diperlukan adanya pengendalian yang efektif dan ramah lingkungan yaitu memanfaatkan mikroba khususnya bakteri yang mengandung metabolit sekunder dan bersifat antagonis terhadap HDB sehingga pertumbuhannya dapat dikendalikan.

Metabolit sekunder ini merupakan sisa-sisa metabolisme yang diproduksi diakhir fase pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya (2018), terdapat beberapa keuntungan dalam memanfaatkan metabolit sekunder dari mikroba yaitu diantaranya: (1) berperan dalam melindungi tanaman, metabolit sekunder dapat meningkatkan senyawa kimia pada tanaman yang berfungsi dalam meningkatkan ketahanan tanaman, (2) mampu menjangkau mikroorganisme patogen didalam jaringan tanaman melalui mekanisme yang beragam berdasar metabolit sekunder yang terkandung, (3) kemudahan dalam aplikasi dan penyimpanan. Pengaplikasian metabolit sekunder tidak bergantung pada wilayah tertentu dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

Berdasarkan besarnya manfaat menggunakan mikroba yang bersifat antagonis perlu dilakukan pemanfaatan bakteri rizosfer yang menghasilkan metabolit sekunder untuk mengendalikan HDB, untuk menciptakan pertanian

yang ramah lingkungan, aman dikonsumsi dan mampu menciptakan ketahanan pangan di Indonesia.

### **1.2.Rumusan Masalah**

1. Apakah terdapat isolat bakteri rizosfer UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap xoo ?
2. Bagaimana potensi bakteri rizosfer UB *Forest* dalam menghambat dan mengendalikan penyakit HDB ?
3. Apakah hasil ekstraksi metabolit sekunder bakteri rizosfer UB *Forest* bersifat efektif dalam menghambat penyakit HDB ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan koleksi isolat bakteri rizosfer UB *Forest* dalam mengendalikan penyakit hawar daun pada padi yang disebabkan oleh patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri rizosfer UB *Forest* melalui mekanisme antagonis berdasarkan zona hambat dan metabolit sekunder yang dihasilkan serta bertujuan meningkatkan ketahanan tanaman padi terhadap xoo.

### **1.4 Hipotesis Penelitian**

Bakteri Rizosfer UB *Forest* berpotensi memiliki sifat antagonis terhadap patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab hawar pada tanaman padi dan dapat meningkatkan ketahanan tanaman padi.

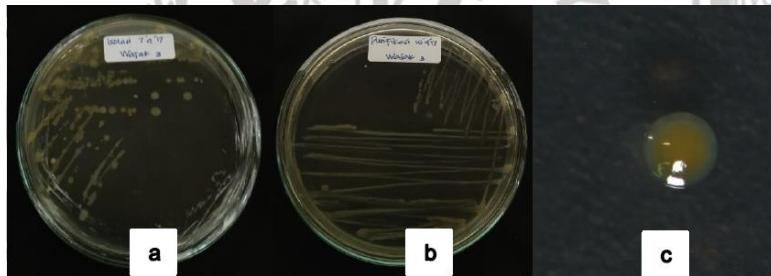
### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini ditinjau dari aspek sosial dapat memberikan informasi bagi masyarakat umum khususnya petani mengenai pengendalian penyakit hawar daun yang ramah lingkungan. Selain itu manfaat secara ekologi yaitu mengurangi residu bahan kimia pada tanaman, tanah dan air. Serta bakteri penghasil metabolit sekunder dapat meningkatkan ketahanan tanaman padi terhadap patogen xoo, sehingga dapat meminimalisir kehilangan hasil dan kerugian akibat serangan hawar daun bakteri.

**II. TINJUAN PUSTAKA**

### 2.1 Gejala Serangan *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*

Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (xoo) merupakan patogen penyebab hawar bakteri pada padi. Penyakit ini menyebar diseluruh pertanaman padi di kawasan Asia. Penyakit HDB ini muncul luas pada pertanaman padi irigasi maupun tada hujan dan menyebabkan kehilangan hasil 30-35% dan berpotensi hingga mencapai 50% bahkan lebih, tergantung pada varietas, stadia tanaman dan kondisi iklim. Karakter morfologi isolat xoo yaitu koloni bakteri berbentuk lingkaran, cembung, dan berwarna kuning dengan permukaan halus pada media NA (Gambar 1), karakteristik biokimia tercantum dalam tabel 1 (Shankara *et al.*, 2017). Bakteri xoo tergolong dalam bakteri gram negatif berbentuk batang pendek dengan ukuran  $0,45-0,75 \times 0,65-2,1 \mu$ , dengan satu flagella polar disalah satu ujungnya dengan ukuran  $0,03-8,75 \mu$  (Sudir *et al.*, 2012). Berdasarkan Chukwu *et al.* (2008), suhu pertumbuhan xoo yang mendukung berkisar  $25-34^{\circ}\text{C}$  dengan kelembaban nisbi diatas 70%.



**Gambar 1.** (a) Morfologi bakteri xoo pada media NA, (b) Hasil purifikasi bakteri xoo pada media NA, (c) Koloni tunggal xoo (Hasanah., 2018)

**Tabel 1:** Hasil uji karakteristik biokimia bakteri penyebab hawar daun (Shankara *et al.*, 2017)

Jenis Pengujian	Hasil Pengujian
Pewarnaan Gram	-
Uji KOH 3%	+
Hidrolisis Pati	-
Uji Gelatin	+
Uji H2S	+
Uji Katalase	+
Uji Oksidase	-

**Keterangan:** (+): Positif, (-): Negatif.

Gejala dari xoo berdasarkan Sudir *et al.* (2012), yaitu menginfeksi tanaman dengan cara masuk ke dalam jaringan tanaman melalui luka, hidatoda, stomata, atau benih yang terkontaminasi. Penyebarannya pada wilayah persawahan melalui perantara air irigasi. Gejala yang ditimbulkan oleh bakteri ini tergolong khas, yaitu mulai dari terbentuknya garis basah pada helaihan daun yang akan berubah menjadi kuning kemudian putih (Gambar 2). Gejala ini umum dijumpai pada stadium anakan, berbunga, dan pemasakan. Serangan penyakit pada tanaman yang masih muda dinamakan kresek, yang dapat menyebabkan daun berubah menjadi kuning pucat, layu, dan kemudian mati. Kresek merupakan bentuk gejala yang paling merusak.



**Gambar 2.** Gejala tanaman padi yang terserang hawar daun terdapat garis-garis kekuningan yang tidak teratur pada daun tanaman padi (Syamsiah.,2015)

## 2.2 Bakteri Rizosfer

Rizosfer merupakan daerah lingkungan mikro di sekitar perakaran tanaman. Menurut Prashar *et al.* (2013) rizosfer merupakan lingkungan ekologi tanah yang utama, terdapat berbagai jenis interaksi antara tumbuhan dan mikroba.

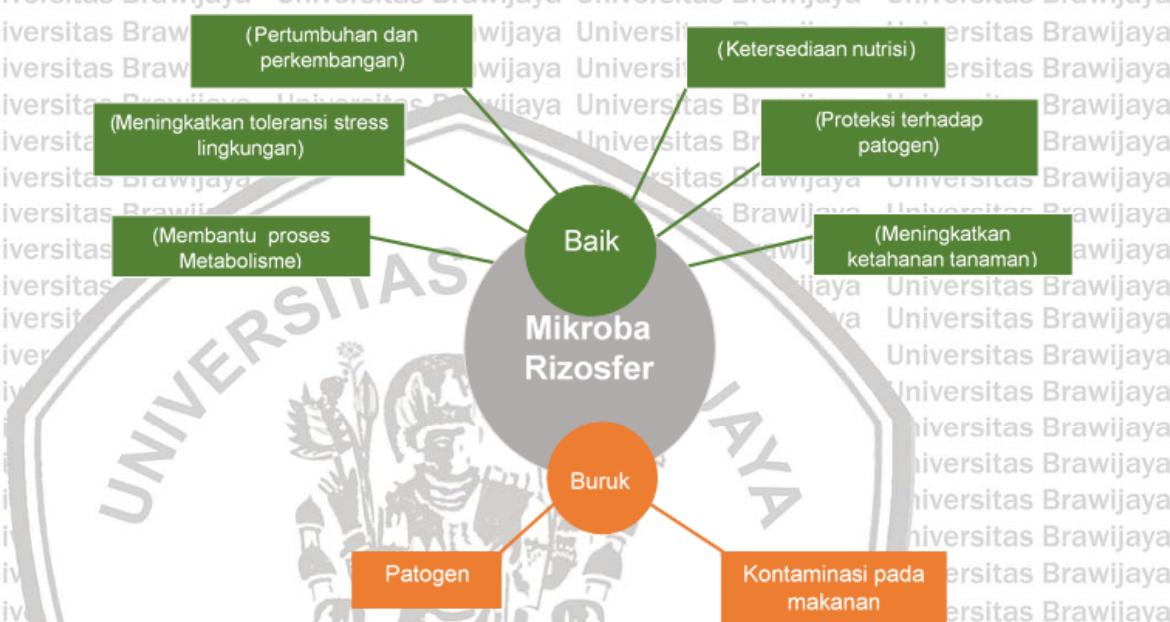
Pada daerah rizosfer terdapat kolonisasi mikroba tanah dan aktivitas formikrobial.

Kolonisasi mikroba di sekitar akar tanaman menyebabkan adanya hubungan asosiatif, simbiosis, netralistik atau parasit yang bergantung terhadap keberadaan unsur hara, lingkungan sekitar, mekanisme pertahanan tanaman dan populasi dari mikroba itu sendiri, Menurut Nihorimbere *et al.* (2010), perakaran tanaman dan tanah disekitarinya termasuk dalam rizosfer yang didalamnya terdapat interaksi yang sangat kompleks antara tanaman tanah dan mikrofauna didalamnya.

Interaksi tersebut membawa manfaat dalam pertumbuhan dan ketahanan tanaman inang.

Berdasarkan Mendes *et al.* (2013), rizosfer yaitu, zona yang berada disekitar dan dipengaruhi oleh akar tanaman, merupakan salah satu habitat

organisme dan merupakan ekosistem paling kompleks dengan populasi mikroba yang dapat melebihi jumlah sel tanaman. Organisme yang berada di rizosfer yaitu bakteri, jamur, nematoda, protozoa, virus, dan arthropoda. Organisme rizosfer telah diteliti memiliki peran yang menguntungkan pada pertumbuhan dan kesehatan tanaman yaitu bakteri pengikat nitrogen, jamur mikoriza, rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR), agens antagonis, dan protozoa. Berikut merupakan peran mikroba rizosfer.



**Gambar 3.** Peran mikroba disekitar perakaran terbagi menjadi 3 golongan yaitu peran yang berpengaruh baik diantaranya pada metabolisme, meningkatkan toleransi stres terhadap lingkungan, pertumbuhan tanaman, nutrisi tanaman, proteksi terhadap patogen, dan meningkatkan ketahanan tanaman, sedangkan peran mikroba yang buruk sebagai patogen tanaman dan menyebabkan kontaminasi (Mendes *et al.*, 2013)

### 2.3 Agens Antagonis

Agens antagonis merupakan mikroba yang berpotensi menjadi biopestisida yang aman untuk lingkungan tidak menimbulkan residu dan berkelanjutan. Cara kerja agen antagonis terdapat beberapa mekanisme yaitu antibiosis, kompetisi, parasitisme, enzim pendegradasi dinding sel, penginduksi ketahanan, pemacu pertumbuhan dan pengkoloni rizosfer (Prihatiningsih *et al.*, 2015). Terdapat beberapa keunggulan dalam memanfaatkan agens antagonis untuk mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT), antara lain: 1) tidak berdampak negatif terhadap lingkungan, 2) aman bagi musuh alami OPT tertentu, 3) mencegah timbulnya ledakan OPT sekunder, 4) menghasilkan produk yang

bebas residu senyawa kimiawi sintetis, 5) aman bagi kesehatan manusia, 6) terdapat di sekitar pertanaman sehingga mencegah ketergantungan petani pada pestisida kimiawi sintetis, dan 7) dapat menurunkan biaya produksi karena aplikasi agens pengendali hayati dilakukan satu atau dua kali dalam satu musim panen (Hanaudin., 2012).

Berdasarkan Kuswinanti *et al.* (2014), pengendalian hayati patogen dengan memanfaatkan mikro organisme yang berada di daerah rizosfer merupakan salah satu pengendalian yang ramah lingkungan. Tanah yang sehat tidak hanya subur dan banyak mengandung bahan organik untuk menunjang pertanian, namun tanah yang dapat menyediakan lingkungan yang sesuai sehingga akan terhindar dari patogen tular tanah. Beberapa bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis yaitu *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*.

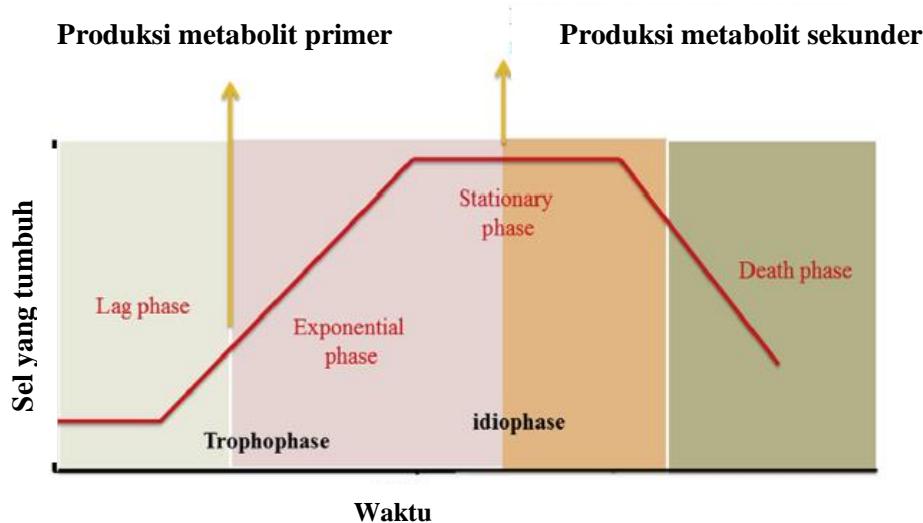
Bakteri antagonis *P. fluorescens* dilaporkan mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa *siderofor*, *pterin*, *pirol*, dan *fenazin*. *Siderofor* dapat berperan sebagai fungistasis dan bakteriostatis dan sebagai pengkhelat Fe. Sedangkan, mekanisme penekanan oleh genus *Bacillus* sp. adalah antibiosis, dengan menghasilkan antibiotika *bulbiformin* yang bersifat racun. Selain itu, antibiosis yang dihasilkan yaitu *basitrasin*, *subtilin*, dan *basilin*. Fungsi dari kedua bakteri antagonis tersebut dapat berperan sebagai PGPR dapat melalui mekanisme meningkatkan pelarutan dan penyerapan unsur hara dan atau menghasilkan senyawa pengatur pertumbuhan tanaman. *P. fluorescens* mampu molarutkan fosfat dan menghasilkan IAA, yang dapat memacu pertumbuhan tanaman. Fungsi dari IAA akan berpengaruh terhadap panjang akar, luas permukaan akar dan jumlah ujung akar. *Bacillus* sp. juga mampu menghasilkan senyawa fitohormon seperti auksin, sitokinin, etilen, giberelin dan asam absisat yang mampu merangsang pertumbuhan tanaman, dan berdampak pada peningkatan hasil (Magiastuti *et al.*, 2012).

#### 2.4 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan proses biokimia yang terjadi pada setiap organisme tunggal atau multiseluler. Metabolit diklasifikasikan menjadi primer dan sekunder. Metabolit primer sebagai sumber utama dalam proses biokimia (*asam amino*, *asam laktat*, *piruvat*), sedangkan metabolit sekunder tidak



diperlukan dalam pertumbuhan sel, namun berfungsi dalam kelangsungan hidup suatu organisme dalam keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan. Mikroorganisme penghasil metabolit sekunder diantaranya yaitu bakteri, jamur, tumbuhan dan organisme lainnya. Metabolit sekunder dihasilkan ketika kekurangan nutrisi, tekanan lingkungan, dan lingkungan pertumbuhan yang terbatas. Fungsi dari bakteri penghasil metabolit sekunder diantaranya yaitu agens antibakteri, agens antagonis, agens antikanker dan pestisida (Gokulan *et al.*, 2014).



**Gambar** 4. Empat fase pertumbuhan bakteri yaitu: 1. Fase lag: penyesuaian bakteri pada tempat baru, 2. Fase Eksponensial: Pertumbuhan cepat, 3. Fase Stasioner : laju pertumbuhan bakteri sama besar dengan laju kematian, 4. Kematian: laju kematian lebih besar (Gokulan *et al.* 2014).

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang fungsinya dalam metabolisme primer bakteri belum diketahui secara pasti. Menurut Gokulan *et al.* (2014) ciri-ciri dari metabolit sekunder yaitu : molekul berukuran kecil, dapat mensintesis senyawa baru, memiliki senyawa yang kompleks, produk akhir digunakan sebagai anti bakteri dan diproduksi pada fase akhir dan tidak aktif (gambar 4). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit maupun rizosfer berperan penting dalam interaksi dengan lingkungan maupun tanaman inangnya. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri dari genus *Pseudomonas* seperti *phenazine*, *oomycin*, *hydrogen sianida* dan *pyoverdin* yang bersifat antagonis terhadap berbagai jenis patogen penting



pada tanaman (Widiantini *et al.*, 2018). Berdasarkan Thirumurugan *et al* (2018), pengaplikasian metabolit sekunder dapat berfungsi sebagai antibiotik dan antitumor pada bidang pertanian. Terdapat beberapa bakteri yang sudah diketahui potensi metabolit sekundernya dalam hal antibiosis dan anti tumor yaitu *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Streptomyces* sp.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2019 sampai Agustus 2020 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan di Desa Bodang, Kecamatan Padang, Kabupaten Lumajang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting atau *couper*, cawan petri, timbangan analitik, kompor listrik, pipet, jarum ose, bunsen, tabung Erlenmeyer, botol spray, gelas beaker, gelas ukur, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), autoklaf, *shaker*, botol media, bunsen, korek api, micropipette, dan tube.

Bahan yang diperlukan adalah isolat koleksi bakteri rizosfer UB *Forest*, media NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), plastic wrap, aluminium foil, aquades steril, spiritus, tissue steril, alkohol, khlorox dan kertas label yang diperoleh dari toko kimia, sedangkan bahan yang dibutuhkan untuk penelitian *in vivo* yaitu benih padi varietas IR64, polybag, nampan dan media tanam.

#### 3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

- (1) Pembuatan media NA untuk menumbuhkan bakteri xoo dan isolat bakteri rizosfer UB *Forest*,
- (2) Purifikasi bakteri xoo dan rizosfer UB *Forest*,
- (3) Uji patogenesitas,
- (4) Uji antagonis bakteri xoo dengan bakteri rizosfer UB *Forest*,
- (5) Ekstraksi metabolit sekunder bakteri rizosfer UB *Forest* yang memiliki sifat antagonis,
- (6) Uji metabolit sekunder bakteri rizosfer UB *Forest* secara *in vitro*,
- (7) Pembibitan padi di *green house* dan pengaplikasian hasil ekstraksi metabolit sekunder secara *in vivo*, dan
- (8) Analisis Data.

#### 3.4 Tahapan Penelitian

##### 3.4.1 Pembuatan media Nutrient Agar (NA)

Komposisi media *Nutrient Agar* (NA) yaitu *peptone* 5 gr, *sodium chloride*, HM Pepton (sama dengan *beef extract*) 1.5 gr, *Yeast extract* 1.5 gr, dan agar 15 gr.

Pembuatan media NA dilakukan dengan cara menimbang media 2,8 gr kemudian dilarutkan dalam 1000 ml aquades dan dihomogenkan diatas kompor listrik, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 1 jam dengan suhu 121 °C

untuk menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah itu dilakukan *plating* pada cawan petri yang dilaksanakan di LAFC.

### 3.4.2 Purifikasi isolat bakteri xoo dan bakteri rizosfer UB Forest

Isolat bakteri xoo dan bakteri rizosfer UB Forest merupakan isolat koleksi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.

Koleksi diperoleh dari penelitian sebelumnya (Pradyasta, Rahmawati dan Utami, 2019) hasil dari eksplorasi di hutan pendidikan Universitas Brawijaya. Bakteri rizosfer tersebut dipurifikasi pada media NA menggunakan metode *streak*. Hasil *streak* diinkubasi selama 24–48 jam pada suhu ruang. Berikut merupakan genus bakteri yang digunakan yaitu (Tabel 2):

**Tabel 2.** Genus bakteri bakteri rizosfer yang digunakan pada pengujian antagonis

No	Kode Isolat Bakteri Rizosfer UB Forest	Genus Bakteri Rizosfer UB Forest
1	N3	<i>Bacillus</i> sp.
2	N10	<i>Clostridium</i> sp.
3	N7	<i>Xanthomonas</i> sp.
4	N24	<i>Pseudomonas</i> sp.
5	N26	<i>Pantoea</i> sp.
6	N27	<i>Erwinia</i> sp.
7	TH 16	<i>Clostridium</i> sp.
8	B6	<i>Pantoea</i> sp.
9	E1	<i>Erwinia</i> sp.
10	E3	<i>Pantoea</i> sp.
11	A1	<i>Erwinia</i> sp.
12	A4	<i>Erwinia</i> sp.
13	NS11	<i>Clostridium</i> sp.
14	NS12	<i>Bacillus</i> sp.
15	N23	<i>Pantoea</i> sp.

### 3.4.3 Uji Patogenesitas

Uji patogenesitas diaplikasikan pada tanaman inang yaitu padi. Proses uji patogenesitas diinokulasikan pada tanaman padi yang berumur 2 minggu, dengan cara menggunting ujung daun padi dengan gunting yang telah dicelupkan pada suspensi bakteri xoo selama kurang lebih 10 detik. Berdasarkan Wahyudi *et al.*, (2011), pengamatan dilakukan pada 3 dan 14 hari setelah inokulasi. Uji patogenesitas dikatakan positif jika bakteri yang diinokulasikan dapat memunculkan gejala serangan hawar daun bakteri pada daun padi.



### **3.4.5 Pengujian antagonis secara *in vitro***

Pengujian antagonis bakteri rizosfer UB *Forest* terhadap bakteri patogen *xoo* dilakukan dengan menggunakan metode *double layer* berdasarkan Lisboa *et al.*, (2006) yaitu: isolat bakteri dibiakkan dalam media cair yaitu NB (*Nutrient Broth*) selama 48 jam diatas inkubator bergoyang dengan kecepatan 125 rpm.

Suspensi *xoo* cair sebanyak 1 ml dicampur pada 100 ml media NA secara merata kemudian dituang pada cawan petri sebanyak 10 ml hingga memadat. Selanjutnya menyiapkan 4 potong kertas saring steril dengan diameter 5 mm diletakkan secara teratur di atas permukaan media yang telah direndam dalam suspensi bakteri rizosfer UB *Forest* selama 1 menit dan telah ditiriskan selama 1 jam. Kemudian dilakukan pengamatan lebar zona bening setelah 24, 48, dan 72 jam.

### **3.4.6 Uji Jenis Antibiosis**

Pengujian jenis antibiosis dilakukan pada bakteri yang memiliki sifat antagonis terhadap bakteri *xoo*. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil zona bening menggunakan jarum ose, kemudian digoreskan pada media NA. Selanjutnya, diinkubasi selama 24 jam dan diamati terdapat bakteri yang tumbuh pada media tersebut atau tidak. Jika terdapat bakteri yang tumbuh menandakan bahwa bakteri tersebut bersifat bakteriostatik.

### **3.4.7 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB *Forest***

Hasil dari uji antagonis yang memiliki daya hambat 3 terbesar dilakukan pengekstrakan. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder bakteri rizosfer menggunakan metode berdasarkan Lie *et al.*, (2016) yang telah dimodifikasi.

Isolat bakteri rizosfer UB *Forest* ditumbuhkan pada media NB pada inkubator bergoyang selama 5 hari dengan kecepatan 125 rpm. Setelah 5 hari media NB diambil 15 ml untuk di sentrifuge dengan kecepatan 6000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil menggunakan *syringe* untuk dilakukan penyaringan menggunakan membran filter ukuran 0.45 µm. Setelah disaring, di sentrifuge kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit. Kemudian hasil metabolit sekunder di antagonikan dengan *xoo* untuk mengetahui indeks penghambatannya pada media NA menggunakan media *double layer*. Selain itu,



hasil metabolit sekunder di *streak* pada media NA untuk mengetahui kandungannya masih terdapat bakteri atau sudah murni metabolit sekunder.

### **3.4.8 Pengujian Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB Forest terhadap Bakteri xoo**

Pengujian metabolit sekunder bakteri rizosfer UB *Forest* terhadap bakteri patogen xoo dilakukan dengan menggunakan metode *double layer* berdasarkan Lisboa *et al.*, (2006), yaitu: isolat bakteri dibiakkan dalam media cair yaitu NB (*Nutrient Broth*) selama 48 jam diatas inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm. Suspensi xoo cair sebanyak 1 ml dicampur pada 100 ml media NA secara merata kemudian dituang pada cawan petri sebanyak 10 ml hingga memadat. Selanjutnya menyiapkan 4 potong kertas saring steril dengan diameter 5 mm diletakkan secara teratur di atas permukaan media yang telah direndam dalam suspensi metabolit sekunder bakteri rizosfer UB *Forest* selama 1 menit dan telah ditiriskan selama 1 jam. Kemudian dilakukan pengamatan lebar zona bening setelah 24, 48, dan 72 jam.

### **3.4.9 Pengujian Metabolit Sekunder secara *in vivo* pada Pembibitan Padi**

Pengujian *in vivo* untuk mengetahui perkecambahan padi yang dilakukan dalam nampakan persemaian selama 14 hari, kemudian dipindahkan pada *polybag*. Tahapan penelitian ini yaitu dimulai dengan menyiapkan benih padi IR 64, Selanjutnya dilakukan perendaman pada bakteri rizosfer UB *Forest* ( $10^9$  CFU/ml) yang bersifat antagonis selama 24 jam. Penanaman dilaksanakan pada nampakan yang telah berisi tanah dengan pupuk kandang (1:1). Pada hari ke 14 setelah tanam dilakukan pindah tanam pada *polybag*. Sebelum ditanam pada *polybag*, dilakukan pengamatan berupa persentase tumbuh, jumlah daun, panjang daun dan panjang akar. Setelah itu akar tanaman padi dilakukan perendaman selama 60 menit. Selanjutnya ditanam pada *polybag*, setiap *polybag* terdapat 3 tanaman padi.

Setelah 7 hari pindah tanam dilakukan pengaplikasian xoo dengan cara menggunting daun  $\pm 1$  cm, kemudian dicelupkan pada suspensi xoo selama 10 detik. Pengamatan intensitas penyakit dilakukan setiap 3 hari sekali menggunakan rumus berdasarkan Yasmin *et al.* (2017):

$$\text{Intensitas serangan} = \frac{\text{Panjang gejala}}{\text{panjang daun}} \times 100\%$$

**Tabel 3.** Perlakuan pengujian metabolit sekunder pada pembibitan padi

No	Perlakuan
1	Bakteri <i>Bacillus</i> sp. N3
2	Bakteri <i>Pantoea</i> sp. N23
3	Bakteri <i>Clostridium</i> sp. N10
4	Metabolit sekunder <i>Bacillus</i> sp. N3
5	Metabolit sekunder <i>Pantoea</i> sp. N23
6	Metabolit sekunder <i>Clostridium</i> sp. N10
7	Kontrol positif
8	Kontrol negatif
9	Kontrol bakterisida

### 3.4.10 Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) pada tahap *in vitro* dan RAK (Rancangan Acak Kelompok) pada tahap *in vitro* kemudian data yang diperoleh diolah menggunakan software SPSS, kemudian di uji lanjut dengan DMRT 5%.

### 3.5 Variabel Pengamatan

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, dalam setiap penelitian tersebut memiliki variabel pengamatan masing-masing, yaitu:

#### 1. *In Vitro*

##### a. Luas zona hambat

Pengamatan zona hambat yang terbentuk akibat adanya hambatan senyawa metabolit sekunder dari bakteri rizosfer UB *Forest* terhadap pertumbuhan bakteri *xoo*. Diameter zona hambat berupa daerah zona bening. Perhitungan indeks daya hambat (zona bening) yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder bakteri rizosfer UB *Forest* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *xoo* secara *in vitro* dihitung dengan menggunakan rumus Nurfitriani *et al.* (2016):

$$\text{Daya hambat} = \frac{\text{Diameter zona bening (cm)} - \text{Diameter kertas saring(cm)}}{\text{Diameter kertas saring (cm)}}$$



b. Dokumentasi luas zona hambat

Dokumentasi merupakan variabel kualitatif yang menjadi bukti ootentik kemampuan bakteri rizosfer UB *Forest* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen xoo melalui zona hambat yang dihasilkan.

2. *In Vivo*

Penelitian secara *in vivo* variabel pengamatannya yaitu:

a. Daya kecambah tanaman padi

Tujuan dari pengamatan daya kecambah adalah untuk mengetahui potensi benih padi dapat berkembang dengan baik ketika ditumbuhkan. Persentase daya kecambah dihitung dengan membandingkan benih yang tumbuh dengan total benih yang ditanam. Rumus perhitungan daya kecambah berdasarkan Prabandaru *et al.* (2017) sebagai berikut:

$$DK = \frac{JK}{JC} \times 100\%$$

DK = Daya kecambah

JK = Jumlah kecambah normal yang dihasilkan

JC = Jumlah benih yang ditanam

b. Panjang tanaman

Pengamatan panjang tanaman dilaksanakan pada saat tanaman padi berumur 14 hari, saat akan dilakukan pindah tanam. Pengamatan panjang tanaman menggunakan penggaris dengan mengukur pangkal batang padi hingga ujung daun. Pengamatan panjang daun dinyatakan dalam satuan cm.

c. Jumlah daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan dengan menghitung satu persatu daun pada tanaman padi. Pengamatan dilakukan pada saat bibit padi berumur 14 hari bersamaan dengan pengamatan panjang tanaman, jumlah daun, dan panjang akar.

d. Panjang akar

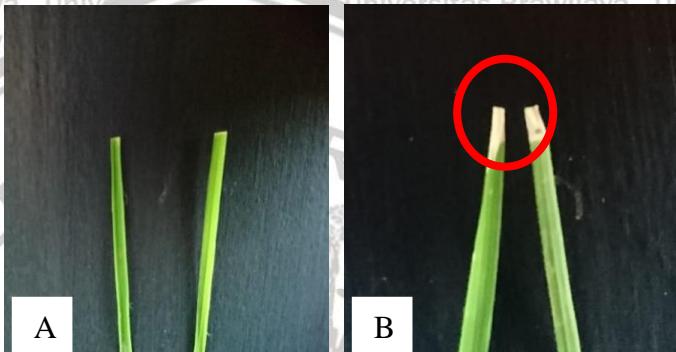
Panjang akar merupakan salah satu parameter pertumbuhan. Panjang akar diukur mulai dari pangkal batang sampai ujung akar. Pengukuran dilakukan setelah pemberian umur 2 minggu dalam satuan cm.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji Patogenesitas

Uji patogenesitas bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri yang diperoleh ianya saprofit atau bakteri patogen. Uji patogenesitas diaplikasikan pada tanaman inang yaitu padi untuk mengetahui gejala xoo yang ditimbulkan dan masa inkubasi.

Pengujian ini dilakukan pada tanaman padi yang berumur 2 minggu, dengan cara ujung daun dilakukan pengguntingan, kemudian daun yang sudah digunting dicelupkan pada suspensi bakteri xoo selama 10 detik. Berikut merupakan hasil pengujian patogenesitas pada tanaman padi disajikan pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Hasil uji patogenesitas isolat xoo pada daun padi 14 hari setelah inokulasi (A) kontrol tidak menunjukkan adanya gejala xoo, (B) pada lingkaran merah menunjukkan gejala xoo

Suspensi bakteri yang di inokulasikan pada tanaman padi menghasilkan gejala penyakit hawar daun yang ditandai dengan gejala berubahnya warna daun menjadi kuning pucat yang dimulai dari tepi daun kemudian meluas menuju arah ke pangkal daun. Berdasarkan Wahyudi *et al.* (2011), xoo menginfeksi masuk ke jaringan tanaman melalui luka, hidatoda, stomata atau benih yang terkontaminasi. Gejala yang ditimbulkan tergolong khas yaitu terdapat garis basah yang berwarna kuning keputih-putihan. Penyakit hawar daun ini menyerang pada semua stadia tanaman. Pada tanaman muda yang terserang penyakit hawar daun akan menimbulkan daun berubah menjadi kuning pucat, layu dan kemudian mati yang disebut *kresek*. Gejala kresek ini merupakan gejala yang paling merusak (Sudir *et al.*, 2012).

Pengamatan munculnya gejala dilakukan 2 kali yaitu pada 3 dan 14 hari setelah tanam. Pada pengamatan 3 hari setelah inokulasi sudah terdapat gejala pada daun yang di aplikasikan yaitu sekitar 0.2 cm dan 0.3 cm, kemudian pada

hari ke 14 dilakukan pengamatan kembali dan gejala yang ditimbulkan terus membesar yaitu menjadi 0.5 dan 0.8 cm. Sedangkan pada perlakuan kontrol tidak terdapat gejala pada pengamatan ke 3 dan 14 hari setelah tanam. Kemunculan gejala tersebut sesuai yang dilaporkan oleh Djatmiko dan Prakoso (2010) dalam Sariyah *et al.* (2020), bahwa masa inkubasi dari penyakit hawar daun bakteri berkisar antara 3-5 hari.

#### 4.2 Uji Antagonis Bakteri Rizosfer UB Forest

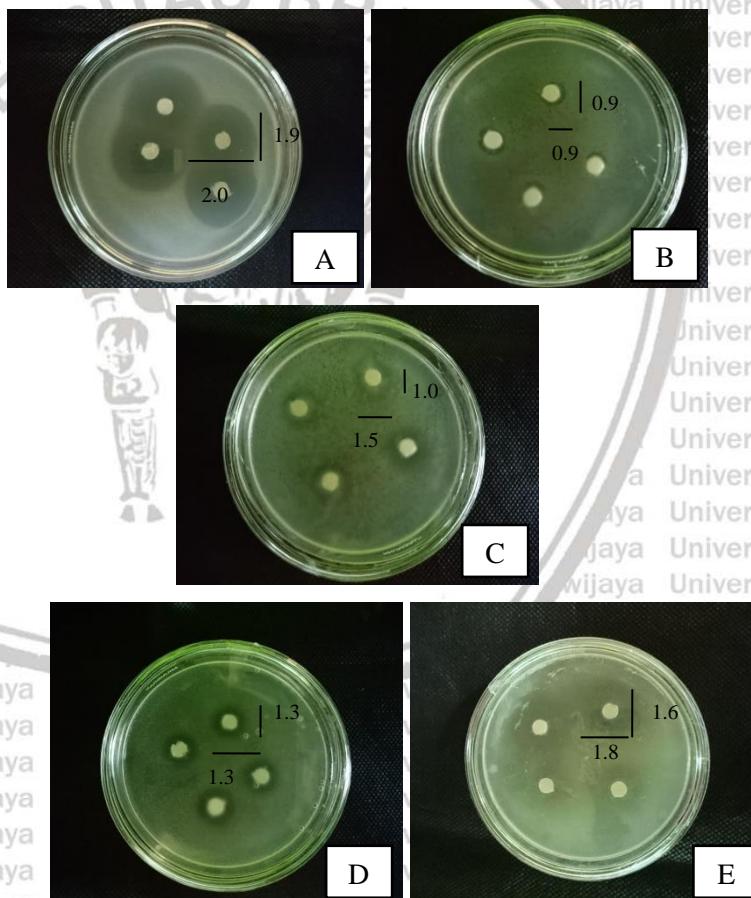
Uji antagonis dilakukan pada 15 bakteri dari penelitian terdahulu terhadap bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Berdasarkan hasil penelitian terdapat 11 bakteri yang mampu menghasilkan zona bening (Lampiran 2). Besar daya hambat bakteri rizosfer UB Forest terhadap bakteri patogen xoo diketahui berdasarkan indeks penghambatan yang dihasilkan oleh 11 bakteri tersebut. Hasil analisis ragam yang diperoleh perbedaan isolat bakteri rizosfer memiliki kemampuan menghambat yang berbeda nyata terhadap bakteri patogen xoo (Tabel 4). Kemudian, dilakukan uji lanjut DMRT 5% diperoleh bahwa semua perlakuan isolat bakteri rizosfer UB Forest berbeda nyata dengan perlakuan *Bacillus* sp. N3 dan kontrol bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat.

**Tabel 4.** Rerata indeks penghambatan bakteri rizosfer UB Forest terhadap bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae*

Perlakuan	Rerata Indeks Penghambatan (cm)		
	24 Jam	48 Jam	72 Jam
Kontrol aquades	0.00 a	0.00 a	0.00 a
<i>Erwinia</i> sp. A4	0.73 b	0.75 b	0.75 b
<i>Clostridium</i> sp. NS11	1.00 bc	1.30 cd	1.33 c
<i>Bacillus</i> sp. NS12	1.15 cd	1.33 cd	1.38 c
<i>Clostridium</i> sp. TH16	1.18 cd	1.25 c	1.25 c
<i>Pantoea</i> sp. B6-2	1.28 cde	1.50 cd	1.58 c
<i>Pseudomonas</i> sp. N24	1.30 cde	1.29 cd	1.83 c
<i>Pantoea</i> sp. N26	1.50 def	1.60 cde	1.65 c
<i>Erwinia</i> sp. N27	1.50 def	1.65 cde	1.55 c
<i>Pantoea</i> sp. N23*	1.58 ef	1.730 de	1.78 c
<i>Clostridium</i> sp. N10*	1.58 ef	1.95 e	1.45 c
<i>Bacillus</i> sp. N3*	1.83 g	2.45 f	2.78 d
Kontrol Streptomicin	2.55 g	2.70 f	2.75 d

**Keterangan:** Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT dengan taraf 5%. \* = menunjukkan isolat bakteri yang terpilih untuk dilakukan ekstraksi metebolit sekunder

Berdasarkan tabel diatas isolat bakteri *Bacillus* sp. N3 dan kontrol streptomisin memiliki nilai indeks yang paling tinggi dan isolat bakteri *Erwinia* sp. A4 memiliki daya hambat paling kecil diantara 11 bakteri tersebut (Gambar 6). Perbedaan indeks penghambatan masing-masing isolat bakteri dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Berdasarkan Kurniawati *et al.* (2015), mekanisme senyawa antibiotik dalam menghambat bakteri patogen dapat berupa produksi enzim, pendegradasi senyawa polimerik seperti protein, kitin, selulosa, hemiselulosa, dan DNA. Selain itu berdasarkan Serdani *et al.* (2018), beberapa bakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan menghasilkan antibiotik, siderofor dan menghasilkan enzim, yang sangat berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.



**Gambar 6.** Perbedaan daya hambat pada masing-masing isolat bakteri rizosfer UB Forest pada pengamatan ke 72 jam setalah inokulasi. (a) kontrol streptomisin sulfat (b) *Erwinia* sp. A4, (c) *Clostridium* sp. N10, (d) *Pantoea* sp. N23 dan (e) *Bacillus* sp. N3



Zona hambat yang dihasilkan (Gambar 6) pada masing-masing isolat bakteri rizosfer UB *Forest* berbeda-beda berdasarkan kandungan metabolit sekunder yang bersifat dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Serdani *et al.* (2018), setiap bakteri memiliki potensi yang berbeda-beda dalam menghadapi lingkungannya yang berpengaruh terhadap jumlah koloni maupun metabolit sekunder yang dihasilkan berperan dalam menghambat bakteri patogen. Menurut Bargabus *et al.* (2013), bakteri yang bersifat antagonis dapat berfungsi sebagai agens pengendali patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, parasitisme atau melalui ketahanan tanaman yang terinduksi. Pemanfaatan pengendalian patogen secara hayati menggunakan mikroorganisme dan bahan organik merupakan pendekatan yang efisien dan ramah lingkungan.

Beberapa penelitian banyak yang telah melaporkan bahwa bakteri rizosfer berpotensi menjadi agens antagonis pada berbagai penyakit yang disebakan bakteri maupun cendawan. Wardhika *et al.* (2014), melaporkan mekanisme penghambatan *Fusarium graminearum* oleh bakteri rizosfer yang bersifat antagonis melalui mekanisme perebutan kompetisi, senyawa antibiotik yang dihasilkan didifusikan pada medium yang dapat menghambat pertumbuhan *F.graminearum* dengan cara membentuk zona hambat pada media dan menghasilkan senyawa volatil yang bersifat antifungal. Bustamam (2006), melaporkan bahwa pemberian agens antagonis dibandingkan dengan kontrol dapat menurunkan penyakit layu antara 60%-84%. Pemberian antagonis dapat menghalangi serangan patogen sehingga tanaman bebas dari penyakit layu.

Berkurangnya serangan patogen dapat disebabkan oleh perbedaan kemampuan setiap bakteri antagonis. Kurniawati *et al.* (2014), melaporkan juga mengenai penghambatan patogen xoo, bahwa patogen xoo pertumbuhannya terhambat oleh bakteri hasil eksplorasi pada rizosfer maupun endofit tanaman padi yang diduga melalui berbagai mekanisme diantaranya kompetisi dan menghasilkan antibiotik.

Salah satunya yaitu antibiotik *kasugamycin* yang dihasilkan oleh *Streptomyces kasugaensis*, antibiotik tersebut bersifat bakterisida dan fungisida, cara kerjanya yaitu dengan cara menghambat sintesis protein pada mikroba.

**4.3 Uji Jenis Antibiosis**  
 Bakteri rizosfer UB Forest yang bersifat antagonis berupa menghasilkan zona hambat dilakukan uji antibiosis. Pengujian jenis antibiosis ini bertujuan untuk mengetahui jenis antibakteri yang dihasilkan yaitu bakteriostatik atau bakterisidal. Salah satu cara dalam mengetahui jenis antibiosis yaitu lebar zona hambat dan daerah zona hambat yang dihasilkan di goreskan pada media padat dengan menggunakan jarum ose. Berikut merupakan hasil dari goresan 11 bakteri yang bersifat bakteriostatik pada bakteri xoo yaitu: *Erwinia* sp. A4, *Clostridium* sp. NS11, *Bacillus* sp. NS12, *Clostridium* sp. TH16, *Pantoea* sp. B6, *Pseudomonas* sp. N24, *Pantoea* sp. N26, *Erwinia* sp. N27, *Pantoea* sp. N23, *Clostridium* sp. N10 dan *Bacillus* sp. N3.



**Gambar 7.** Pertumbuhan koloni bakteri hasil goresan zona bening dari 11 bakteri yang bersifat antagonis terhadap xoo setelah 24 jam, menunjukkan 11 bakteri antagonis bersifat bakteriostatik

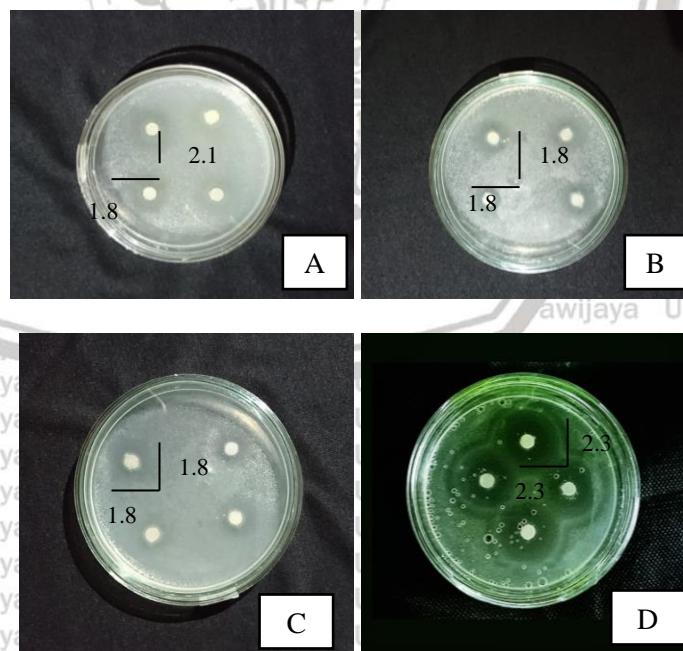
Berdasarkan hasil pengamatan semua bakteri yang bersifat antagonis pada bakteri xoo bersifat bakteriostatik. Pada uji antagonis bakteri tersebut diamati pada waktu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam diperoleh rerata indeks penghambatan terus meningkat namun hasil pengukuran zona hambat terdapat beberapa bakteri yang tetap dan menurun diantaranya yaitu bakteri *Clostridium* sp. N10 dan *Clostridium* sp. TH16 (Lampiran 2). Menurut Septiani *et al.* (2017), penurunan lebar zona hambat merupakan salah satu kriteria bakteriostatik, dikarenakan bakteri yang bersifat bakteriostatik bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan bersifat sementara (*reversible*) sedangkan bakteri yang memiliki sifat bakterisidal memiliki mekanisme membunuh bakteri yang bersifat tetap (*irreversible*).

Antibiotik yang dihasilkan bakteri mempengaruhi pertumbuhan dan viabilitas bakteri lainnya. Bakteri yang bersifat bakterisidal membunuh

sepenuhnya bakteri infeksi dengan cara mempengaruhi metabolisme DNA. Sedangkan bakteri yang bersifat bakteriostatik yaitu memperlambat atau menghentikan agen infeksi, biasanya melalui penghambatan sintesis protein (Bernatova *et al.*, 2013). Menurut Pankey dan Sabath (2004), bakteri antagonis dapat dikatakan bakterisidal jika mampu membunuh bakteri mencapai 90-99% dalam kurun waktu 18-24 jam. Hasil penelitian tersebut bakteri rizosfer UB Forest mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* namun tidak sampai membunuh bakteri patogen.

#### 4.4 Uji Antagonis Metabolit Sekunder Bakteri Rizosfer UB Forest

Bakteri yang memiliki daya hambat dipilih 3 tertinggi, yaitu *Bacillus* sp. N3, *Clostridium* sp. N10, dan *Pantoea* sp. N23. Ketiga isolat tersebut ditumbuhkan pada media NB (*Nutrient Broth*) kemudian diekstrak untuk diperoleh hasil metabolit sekundernya. Tujuan dari pengujian ini yaitu untuk mengetahui potensi metabolit sekunder dari ketiga isolat bakteri tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* secara *in vitro*. Hasil dari pengujian metabolit sekunder ini ketiga isolat bakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen xoo (Gambar 8).



**Gambar 8.** Zona hambat yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder terhadap xoo pada 72 jam setelah inokulasi (A) Metabolit sekunder *Clostridium* sp. N10, (B) Metabolit sekunder *Bacillus* sp.N3, (C) Metabolit sekunder *Pantoea* sp.N23 dan (D) Kontrol streptomisin sulfat

Perlakuan	Rerata Indeks Penghambatan (cm)		
	24 Jam	48 Jam	72 Jam
MS <i>Clostridium</i> sp.N10	1.83 a	1.90 a	2.25 a
MS <i>Pantoea</i> sp. N23	2.35 ab	2.45 a	2.55 a
MS <i>Bacillus</i> sp.N3	2.43 b	2.47 a	2.63 a
Kontrol Streptomycin	2.68 b	3.35 b	3.63 b

**Keterangan:** Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT dengan taraf 5%. MS= Metabolit Sekunder

Trisia *et al.* (2018), zona hambat yang dihasilkan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu >20 mm daya hambat tergolong sangat kuat, 10-20 mm daya hambat kuat, 5-10 mm daya hambat sedang dan daya hambat <5 mm daya hambat lemah. Perbedaan zona hambat yang dihasilkan oleh ketiga bakteri tersebut menunjukkan adanya perbedaan komposisi yang berbeda dalam kandungan metabolit sekundernya. Menurut Butarbutar *et al.* (2018), metabolit sekunder yang terkandung berupa gula, asam amino, asam organik, glikosida, senyawa-senyawa nukleotida, enzim, vitamin dan senyawa indol. Aktivitas metabolisme dan senyawa metabolit yang dikeluarkan oleh tanaman salah satu faktor yang mempengaruhi kondisi mikroba yang berada disekitar perakaran tanaman tersebut.

Pada tabel 4 menunjukkan nilai indeks penghambatan metabolit sekunder *Bacillus* sp. N3 setelah 24 jam inkubasi memiliki daya hambat yang sama besar dengan kontrol bakterisida. Menurut Harwood *et al.* (2018), kandungan senyawa

metabolit sekunder dari kelompok *Bacillus* yaitu terdapat 2 kelompok besar yang terdiri dari non ribosom dan ribosom. Non ribosom yaitu *surfactin*, *lichenycin*, *plipastatin* dan *fengycin*, *bacillaene*, *iturin group*, *bacitracin*, *bacillabactin*, Sedangkan yang ribosomal yaitu *lantipeptides*, *sublancin*, dan *lassopeptides*. Berdasarkan Al-Saraireh *et al.* (2015), kelompok *Bacillus* melaporkan banyak mengandung antimikroba dengan struktur yang berbeda-beda, diantaranya yaitu *bakteriosin*, *iturin* dan *surfactin*, metabolit sekunder yang berperan sebagai antimikroba biasanya dihasilkan pada fase stasioner.

Yasmin *et al.* (2017), melaporkan hasil penelitiannya yaitu mekanisme penekanan penyakit hawar daun bakteri pada padi yang diinokulasikan bakteri antagonis BRp3 (*Bacteria Rizosphere Pseudomonas aeruginosa*) yang mampu meningkatkan aktivitas enzim terdefinisasi di dalam tanaman. Tanaman padi yang telah diaplikasikan bakteri menunjukkan adanya peningkatan aktivitas peroksidase (POD), katalase (CAT) dan *Phenylalanine ammonia lyase* (PAL) setelah diamati 24 jam dan 48 jam pasca inokulasi, sedangkan aktivitas *Polyphenol oxidase* (PPO) dilakukan pengamatan setelah 72 jam - 6 hari setelah inokulasi. Produksi POD, PPO, CAT dan PAL merupakan sebuah respon yang diberikan oleh tanaman setelah diaplikasikan PGPR yang berkaitan dengan ketahanan terinduksi pada tanaman terhadap patogen.

## 4.5 Pengujian Bakteri Beserta Metabolit Sekundernya pada Pembibitan Padi

### 4.5.1 Pengamatan pertumbuhan pada bibit tanaman padi

Pengamatan parameter pertumbuhan dilaksanakan pada pembibitan saat akan dilakukan pindah tanam, kecuali persentase perkecambahan diamati pada hari ke 7 setelah persemaian. Pengamatan persentase perkecambahan, jumlah daun, tinggi tanaman dan panjang akar bertujuan untuk mengetahui indikator pertumbuhan dan mengetahui pengaruh perlakuan yang diterapkan. Pada tabel 5 menunjukkan hasil pengamatan parameter pertumbuhan. Persentase perkecambahan tertinggi pada perlakuan *Bacillus* sp. N3 dan *Pantoea* sp. N23 sebesar 94% sedangkan persentase terkecil pada perlakuan streptomisin sebesar 88%. Persentase pertumbuhan berhubungan dengan mutu benih. Mutu benih yang baik diharapkan menghasilkan tanaman yang serempak dan hasil yang tinggi.

Pada penelitian ini salah satu cara untuk meningkatkan mutu benih dengan



melakukan perlakuan benih (*seed treatment*) menggunakan bakteri rizosfer dan metabolit sekundernya yang bersifat antagonis terhadap xoo. Berdasarkan Wahyuni *et al.* (2020), perlakuan *seed treatment* yang umum dilakukan yaitu priming (*hydration treatment*), pelapisan (*coating*) dan *seed conditioning*, dalam aplikasi perlakuan benih dapat dilakukan dengan penambahan zat pengatur tumbuh, penambahan pestisida, biopestisida atau penambahan agens hayati.

**Tabel 6.** Hasil pengamatan parameter pertumbuhan

Perlakuan	Perkecambahan (%)	Jumlah Daun	Panjang Tanaman (cm)	Panjang Akar (cm)
<i>Bacillus</i> sp. N3	94%	2.75 ab	15.43 bc	12.27 c
<i>Pantoea</i> sp. N23	94%	2.85 ab	15.41 bc	7.73 b
<i>Clostridium</i> sp. N10	92%	2.49 a	14.36 bc	9.95 b
MS <i>Bacillus</i> sp.	93%	2.84 ab	16.38 bc	9.53 b
MS <i>Pantoea</i> sp.	92%	2.92 b	16.64 c	8.57 b
MS <i>Clostridium</i> sp.	93%	2.74 ab	16.58 bc	7.79 b
Kontrol positif	90%	2.74 ab	14.04 ab	5.38 a
Kontrol negatif	91%	2.58 ab	14.03 ab	5.28 a
Streptomicin	88%	2.50 ab	11.82 a	4.99 a

**Keterangan:** Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT dengan taraf 5%. MS=Metabolit sekunder. Kontrol positif = Daun diinokulasi xoo. Kontrol negatif = Daun tidak diinokulasi xoo.

Jumlah daun dan panjang tanaman tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua perlakuan (Tabel 6). Hal tersebut diduga karena faktor umur tanaman yang seragam dan faktor lingkungan yang masih tergolong homogen.

Menurut Birnadi (2012), aplikasi mikroba yang tidak berbeda nyata pada jumlah daun dan panjang tanaman dikarenakan penyerapan unsur hara tanaman padi masih dalam proses fisiologi, karena tanaman masih muda dan dimungkinkan unsur hara masih tersedia di dalam biji dan belum terpengaruh oleh lingkungan.

Panjang akar menunjukkan berbeda nyata pada benih padi yang diberikan perlakuan mikroba dibandingkan dengan kontrol dan streptomicin (Tabel 6).

Ukuran akar yang lebih panjang dari perlakuan kontrol merupakan dampak positif dari aplikasi bakteri dan metabolit sekunder yang dimungkinkan memiliki potensi sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), sehingga dapat

memproduksi hormon-hormon yang dapat meningkatkan pertumbuhan. Nurkartika *et al.* (2017), melaporkan aplikasi agens hayati dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman padi salah satunya melalui produksi IAA yang berpengaruh terhadap pembelahan, pemanjangan, dan diferensiasi sel tanaman, menstimulasi perkecambahan benih, meningkatkan perkembangan xylem dan akar, menginisiasi pembentukan akar lateral dan adventif, mediator respon terhadap cahaya, memperengaruhi fotosintesis, pembentukan beragam metabolit serta resistensi terhadap kondisi stres.

Keberadaan bakteri yang berada disekitar perakaran memiliki peran sebagai biofertilizer sebagai pemicu pertumbuhan dan sebagai biopestisida yang berfungsi dalam proteksi tanaman terhadap OPT. Olanrewaju *et al.* (2017), menyatakan aplikasi agens hayati memiliki 2 mekanisme yaitu secara langsung dalam memacu pertumbuhan sedangkan mekanisme tidak langsung melalui sifat antagonis terhadap patogen melalui hormon ataupun enzim. Agens hayati khususnya mikroba tanah memiliki peran terhadap pertumbuhan diantaranya yaitu melindungi tanaman selama siklus hidupnya dengan memproduksi hormon tumbuh, memfiksasi nitrogen, melarutkan P. (Windia *et al.*, 2018).

#### **4.5.2 Persentase serangan penyakit**

Pada variabel intensitas serangan penyakit diamati setiap 3 hari sekali untuk mengetahui perkembangan dari serangan hawar daun bakteri tersebut. Berikut merupakan hasil pengamatan serangan penyakit selama 5 kali pengamatan disajikan pada tabel 7:



**Tabel 7.** Hasil pengamatan intensitas serangan xoo

Perlakuan	Pengamatan ke (%)				
	1	2	3	4	5
<i>Bacillus</i> sp. N3	0.18 a	1.07 a	1.51 a	2.17 a	3.27 a
<i>Pantoea</i> sp. N23	0.29 a	1.10 a	1.10 a	4.45 a	6.59 a
<i>Clostridium</i> sp. N10	0.42 a	1.32 a	1.92 a	8.09 a	15.26 ab
MS <i>Bacillus</i> sp. N3	0.00 a	0.49 a	1.81 a	2.50 a	3.77 a
MS <i>Pantoea</i> sp.	0.20 a	1.10 a	3.41 a	4.75 a	14.78 ab
MS <i>Clostridium</i> sp.	0.00 a	1.32 a	2.76 a	8.44 a	16.07 ab
Kontrol Positif	0.95 a	5.50 b	13.52 a	23.51 b	41.46 b
Kontrol Negatif	0.00 a	0.58 a	2.29 a	4.43 a	4.43 a
Streptomisin	1.07 a	0.58 a	13.40 a	14.10 ab	22.07 ab

**Keterangan:** Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT dengan taraf 5%. MS = Metabolit sekunder. Kontrol positif = Daun diinokulasi xoo. Kontrol negatif = Daun tidak diinokulasi xoo.

Intensitas serangan penyakit pada pengamatan pertama dan ketiga tidak berbeda nyata pada semua perlakuan. Pada pengamatan pertama persentase serangan terendah 0.00% pada perlakuan metabolit sekunder *Bacillus* sp. N3 dan metabolit sekunder *Clostridium* sp. N10. Pengamatan kedua dan keempat berbeda nyata pada perlakuan metabolit sekunder dan bakteri rizosfer UB Forest dengan perlakuan kontrol positif, sedangkan perlakuan streptomisin tidak berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol dan aplikasi agens hayati.

Pengamatan ke 5 intensitas serangan terbesar pada kontrol positif dan bakterisida dibandingkan dengan perlakuan bakteri rizosfer dan metabolit sekunder. Aplikasi bakteri *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23, *Clostridium* sp. N10, metabolit sekunder *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 dan *Clostridium* sp. N10 menunjukkan persentase serangan xoo lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif (Tabel 7). Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri rizosfer dan metabolit sekunder mampu menghambat serangan xoo secara *in vivo* dan berpotensi sebagai bioprotektan terhadap xoo. Metabolit sekunder yang diaplikasikan memiliki keutamaan dapat menjangkau patogen yang berada dalam jaringan tanaman dengan ukurannya yang kecil sedangkan aplikasi mikroba dapat bekerja dengan baik jika lingkungan dan nutrisi untuk pertumbuhannya sesuai. Berdasarkan



Dalimunthe dan Arief (2017) metabolit sekunder memiliki ukuran yang relatif kecil, umumnya dengan bobot molekul kurang dari 3000 Da dengan jalur yang spesifik dan unik, keragaman struktur kimia yang berlimpah disertai susunannya yang kompleks. Mikroba tanah yang berasosiasi dengan akar menghasilkan mekanisme secara tidak langsung dicirikan adanya penghambatan aktivitas mikroorganisme patogen. Mekanisme tidak langsung berupa ACC deaminase, antibiotik, enzim pendedegradasi dinding sel, kompetisi, ISR (*Induced Systemic Resistance*) mekanisme tersebut dihasilkan oleh bakteriofag sebagai kontrol terhadap fitopatogen (Olanrewaju *et al.*, 2017).

Salah satu mekanisme aplikasi agens hayati yaitu menghasilkan antibiotik melalui metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri rizosfer dan meningkatkan ketahanan tanaman yang disebut ISR. Ketahanan terinduksi (ISR) didapat dari hasil kolonisasi mikroba pada akar tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan yang dimediasi oleh asam jasmonat (JA) dan etilen (ET) (Walters *et al.*, 2013). Giopany *et al.* (2018), memaparkan mekanisme ISR dapat menstimulasi terbentuknya senyawa kimia dan perubahan fisiologi seperti penguatan epidermis dan korteks pada dinding sel, peningkatan produksi beberapa enzim seperti kitinase, peroksidase, *phenylalanine ammonium lyase* (PAL) serta dapat meningkatkan pembentukan fitoleksin. Perubahan sifat fisiologis ini berperan sebagai penghalang fisik yang menghambat masuknya atau berkembangnya patogen dan adanya biokimia seperti hormon dan enzim yang bersifat racun pada patogen (Wijayanti., 2018). Yasmin *et al.* ( 2017) melaporkan hasil percobaan di lapang tanaman padi yang terinfeksi xoo diberi perlakuan agens hayati berupa *Pseudomonas aeruginosa* BRp3 menunjukkan hasil yang signifikan mengurangi luas daun yang terserang xoo dibandingkan dengan kontrol (tanpa aplikasi agens hayati) namun tidak signifikan dibandingkan dengan perlakuan *streptocyclin*. Sehingga, strain BRp3 menunjukkan penekanan yang setara dengan kontrol *streptocyclin*, dianggap sebagai agens hayati yang menjanjikan untuk menekan xoo. Inokulasi BRp3 pada akar atau benih memberikan perlindungan terhadap serangan xoo pada awal pertumbuhan, untuk fase pertumbuhan selanjutnya dilakukan aplikasi kembali dengan cara menyemprotkan suspensi bakteri BRp3.





**Gambar 9.** Serangan xoo pada pengamatan ke 5 pada semua perlakuan secara berturut-turut (a) *Bacillus* sp. N3, (b) *Pantoea* sp. N23, (c) *Clostridium* sp. N10, (d) Metabolit sekunder *Bacillus* sp. N3, (e) Metabolit sekunder *Pantoea* sp. N23, (f) Metabolit sekunder *Clostridium* sp. N10, (g) bakterisida, (h) kontrol positif dan, (i) kontrol negatif.

Berdasarkan gambar 9 terlihat bahwa gejala serangan yang terbesar yaitu perlakuan kontrol positif dan bakterisida. Sehingga menunjukkan perlakuan bakterisida pada penelitian ini tidak efektif. Hal tersebut dikarenakan terlalu lama pada perendaman bibit saat akan pindah tanam sehingga bibit mengalami keracunan. Bibit padi yang keracunan menyebabkan daun berwarna hijau muda hingga berwarna putih (Gambar 10). Nalis *et al* (2015), melaporkan kejadian fitotoksik pada benih jagung dengan gejala adanya klorosis pada kecambah.

Gejala fitotoksik dapat berupa klorosis pada tulang daun, klorosis pada seluruh lamina daun ataupun klorosis pada kecambah. Terjadinya keracunan pada bibit padi tersebut menyebabkan tanaman sangat mudah terserang oleh xoo.

Berdasarkan Raini (2015), anjuran aplikasi bakterisida berbahan aktif streptomisin cukup pada permukaan tanaman dan tidak diinjeksikan, dikarenakan bakterisida tersebut bersifat bakterisidal, menghambat sintesis protein dan kadar tinggi menyebabkan fitotoksik pada tanaman.



**Gambar 10.** Gejala fitotoksik pada perlakuan bakterisida yang ditandai daun klorosis berwarna putih

Aplikasi agens hayati merupakan salah satu upaya untuk menginduksi ketahanan tanaman sehingga tanaman dapat membangun pertahanan sendiri dalam mengurangi serangan penyakit atau dari kondisi yang mencekam. Keefektifan aplikasi agens hayati dilapang seringkali hasilnya tidak selalu baik seperti saat pengujian pada skala laboratorium atau rumah kaca, hal tersebut diduga dipengaruhi oleh lingkungan sekitar. Keberhasilan aplikasi agens hayati dibatasi oleh faktor lingkungan yang saling berkaitan yang berdampak pada kemampuan bertahan dan aktivitas agens hayati tersebut, selain itu sulitnya pemantauan kerapatan mikroba yang diaplikasikan (Nurkartika *et al.*, 2017).



## V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian bakteri rizosfer UB *Forest* dan metabolit sekundernya terhadap patogen xoo secara *in vitro* dan *in vivo* dapat disimpulkan:

1. Uji antagonis terdapat 11 dari 15 bakteri rizosfer yang bersifat antagonis, zona hambat terbesar dihasilkan oleh *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 dan *Clostridium* sp. N10.
2. Metabolit sekunder *Bacillus* sp. N3, *Pantoea* sp. N23 dan *Clostridium* sp. N10 bersifat antagonis terhadap xoo meskipun indeks penghambatannya lebih kecil dibandingkan dengan kontrol bakterisida streptomisin sulfat.
3. Bakteri dan metabolit sekunder *Bacillus* sp. N3, *Clostridium* sp. N10 dan *Pantoea* sp. N23 mampu meningkatkan pertumbuhan yang terlihat pada persentase pekecambahan dan panjang akar serta mampu menekan gejala serangan xoo.
4. Perlakuan pemberian aplikasi *Bacillus* sp. N3 maupun metabolit sekunder dari *Bacillus* sp. N3 lebih baik dari perlakuan lainnya.

### 5.2 Saran

Dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengetahui potensi bakteri rizosfer UB *Forest* dan mengidentifikasi molekuler isolat bakteri antagonis yang digunakan. Penelitian ini membahas hanya pada fase vegetatif sehingga dibutuhkan penelitian lebih lanjut pada fase generatif hingga sampai panen. Hal tersebut untuk mengetahui potensi bakteri dan metabolit sekunder rizosfer UB *Forest* terhadap hasil dan biomassa. Penelitian ini sebaiknya menetukan target metabolit sekunder sehingga dapat menetukan pelarut dan metabolit sekunder yang efektif untuk xoo dan identifikasi bakteri antagonis hingga molekuler untuk mengetahui spesies dari bakteri tersebut.

- DAFTAR PUSTAKA**
- Al-Sarireh, H., W. A. Al-Zareini, and K. A. Tarwneh. 2015. Antimicrobial Activity of Secondary Metabolite from Soil *Bacillus* sp. 7BI Isolated from South Al-Karak, Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences* 8(2): 127-132.
- Badan Pusat Statistik. 2020. Luas Panen dan Produksi Padi di Indonesia 2019. <https://www.bps.go.id/pressrelease/2020/02/04/1752/luas-panen.html>
- Bernatova, S., O. Samek., Z. Pilat., M. Sery., J. Jazek., P. Jakl., M. Siler., V. Krzyanek., P. Zemanek., V. Hola., M. Dvorackova, and F. Ruzicka. 2013. Following the Mechanisms of Bacteriostatic versus Bactericidal Action Using Raman Spectroscopy. *Molecules* 18: 13188-13199.
- Birnadi, S. Respon Tanaman Padi Organik (*Oriza sativa* L.) terhadap Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dan Mikoriza Vesikular Arbuskular (MVA). *Jurnal Islam dan Teknologi* 6(2): 1-15
- Bustaman, H. 2006. Seleksi Mikroba Rizosfer Antagonis terhadap Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Jahe di Lahan Tertindas. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian* 8(1): 12-18
- Butarbutar, R., H. Marwan, dan S. Mulyati. 2018. Eksplorasi *Bacillus* spp. Dari Rizosfer Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*) dan Potensinya sebagai Agens Hayati Jamur Akar Putih (*Rigidoporus* sp.). *Jurnal Agroecotania* 1(2): 2621-2846
- Chukwu,S.C., M.Y. Rafi., S.I. Ramlee., S.I. Ismail., M.M. Hasan., Y.A. Oladosu, U.G Magaji., Ibrahim Akos and K.K. Olalekan. 2018. Bacterial Leaf Blight Resistance of Rice: a Review of Conventional Breeding to Molecular Approach. *Molecular Biology Report*
- Dalimunthe, C.I dan A. Rachmawan. 2017. Prospek Pemanfaatan Metabolit Sekunder Tumbuhan sebagai Pestisida Nabati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman Karet. *Wartha Perkaretan* 36(1): 15-28
- Djatmiko, H.A. dan B. Prakoso, 2010. Keragaman Patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* pada Tanaman Padi di Tiga Ketinggian Tempat Berdasarkan Pola RAPD. *Agrivita* Vol. 32(2) : 155 – 162.
- Giopany, P.M., I.M. Sudana, dan T. A. Phabiola. 2018. Pengaruh Rhizobakteria untuk Memacu Pertumbuhan dan Ketahanan Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.) terhadap Penyakit Berak serta Karat Daun. *J. Agroekoteknologi Tropika* 7(3): 1-11

- Gokulan,K., S. Khare., and C. Cerniglia. 2014. Production of Secondary Metabolites of Bacteria. Encyclopedia of Food Microbiologi (2): 561-569
- Hanudin dan Budi Marwoto. 2012. Prospek Penggunaan Mikroba Antagonis Sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Utama Pada Tanaman Hias Dan Sayuran. Jurnal Litbang Pertanian, 31(1): 8-13
- Harwood, G. R., J. M. Moillon., S. Pohl, and J. Arnau. 2018. Secondary Metabolite Production and The Safety of Industrially Important Members of The *Bacillus subtilis* Group. FEMS Microbiology Reviews 42(6): 721-738
- Hasanah, L. 2017. Keragaman Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* pada Tanaman Padi di Malang Raya. Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang
- Kementerian Pertanian. 2015. Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan Padi. Pusat Data dan Inforfasi Pertanian. Jakarta
- Kementerian Pertanian. 2015. Rencana Strategis Kementerian Pertanian (RENSTRA) 2015-2019. Jakarta
- Khaeruni, Andi, Abdul Rahim , Syair , dan Adriani. 2014. Induksi Ketahanan terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi Di Lapangan Menggunakan Rizobakteri Indigenous. Jurnal HPT Tropika 14(1): 57–63
- Kurniawati, S., K. Hamzah dan Giyanto. 2015. Eksplorasi dan Uji Senyawa Bioaktif Bakteri Agensi Hayati iuntuk Pengendalian Penyakit Kresek pada Padi. Jurnal HPT Tropika 15(2): 170-179
- Kuswinanti,T.,Baharuddin, dan S.Sukmawati. 2014. Efektivitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Kentang. Jurnal Fitopatologi 10(2):68-72
- Li, X., Y.Zhang., Z.Wei., Z.Guan., Y. Cai., and X. Liao. 2016. Antifungal Activity of Isolated *Bacillus amyloliquefaciens* SYBC H47 for The Biocontrol of Peach Gummosis. Journal Plos One 11(9): 1-22
- Lisboa MP, Bonatto D, Bizani D, Henriques JAP, dan Brandelli A. 2006. Characterization of a bakteriosin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian Atlantic forest. *Int. Microbiol.* 9: 111–118.
- Magiastuti, E., R.F. Rahayuniati., dan P. Sulistyanto.2012. Pemanfaatan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* untuk Mengendalikan Penyakit Layu Tomat Akibat Sinergi *Ralstonia solanacearum* dan *Meloidogyne* sp.



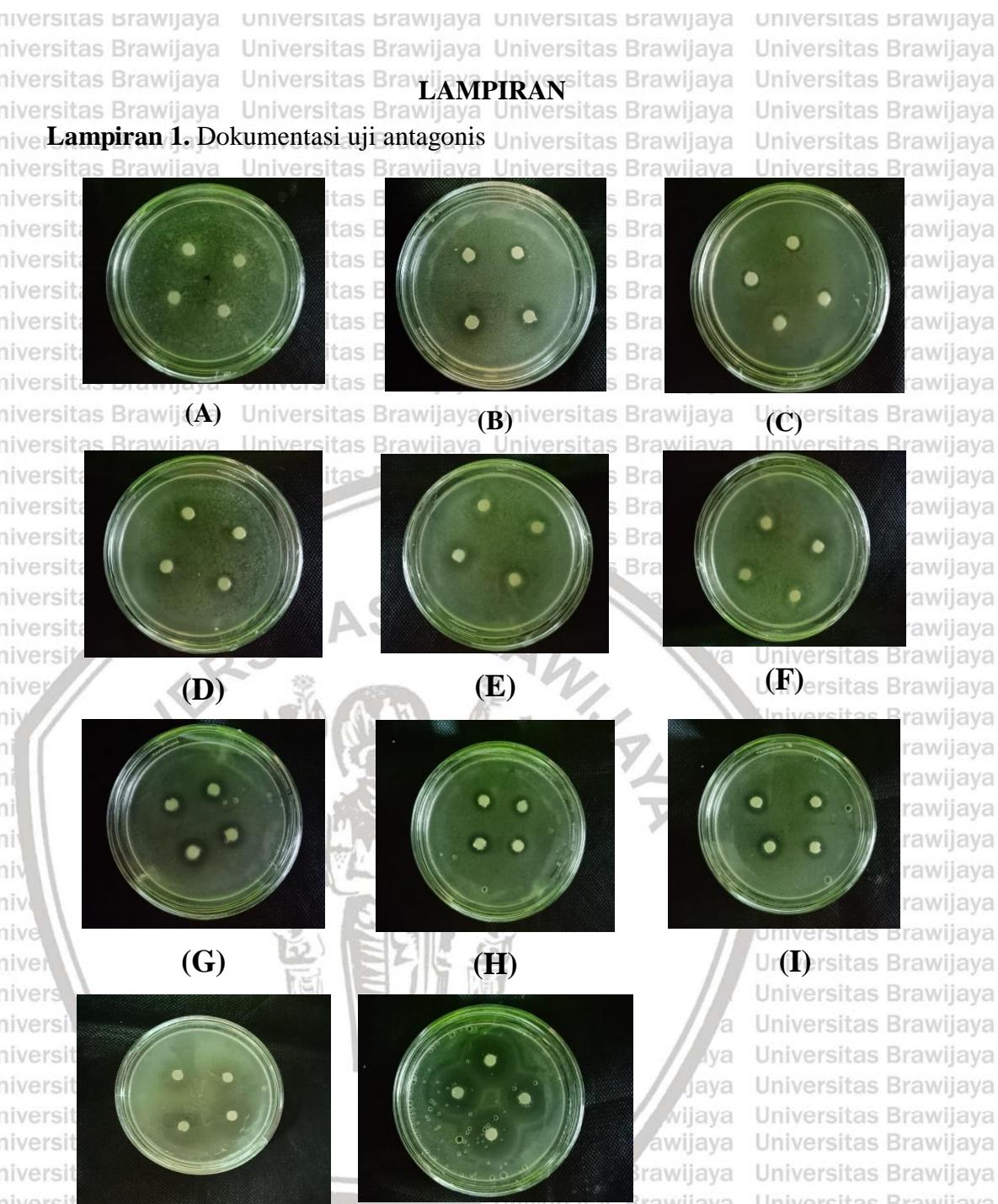
- Maria, A. 2018. Inovasi Pengendalian OPT dengan Metabolit Sekunder di BPPPTP Surabaya. Surabaya: Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan.
- Mendes, R., P. Garbeva and J.M. Raaijmaker. 2013. The Rhizosphere Microbiome: Significance Of Plant Beneficial, Plant Pathogenic, and Human Pathogenic Microorganisms. *FEMS Microbiology*
- Nalis, S., G. Suastika, dan Riyanto. 2015. Perlakuan Panas Kering dan Bakterisida untuk Menekan Infeksi *Pantoea stewartii* subsp. *Stewartii* pada Benih Jagung Manis. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11(4): 128-136
- Nihorimbere,V., M. Ongena, M. Smagliassi, and P. Thonart. 2011. Beneficial Effect Of The Rhizosphere Microbial Community For Plant Growth and Health. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 15(2), 327-337
- Nurfitriani, R., N. P. A. Krishanti. A. Akhdiya, dan A.T. Wahyudi. 2016. Penapisan Bakteri Filosfer Penghasil Senyawa Bioaktif Anti *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Penyebab Hawar Daun Bakteri pada Padi. *Jurnal Sumberdaya Hayati* 2(1): 19-24
- Nurkartika, R., S. Ilyas, dan M. Machmud. 2017. Aplikasi Agens Hayati untuk Mengendalikan Hawar Daun Bakteri pada Produksi Benih Padi. *Jurnal Agron Indonesia* 45(3): 235-242
- Olanrewaju, O.S., B.R. Glick and O.O. Babolala. 2017. Mechanism of Action of Plant Growth Promoting Bacteria. *World Journal Microbiol Bioethanol* 33(197): 1-16.
- Pankey, G.A, and L. D. Sabath. 2004. Clinical Relevance of Bacteriostatic Versus Bactericidal Mechanism of Action in The Treatment of Gram Positive Bacterial Infections. *Clinical Infectious Disease* 38: 864-870
- Prabandaru,I dan T.B. Saputro. 2017. Respon Perkecambahan Benih Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Lokal SiGadis Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 6(2): E48-E52
- Pradyasta, C.G. 2019. Potensi Bakteri Rhizosfer Sebagai Agens Bioremediasi dan Antagonis Pada Lahan Tanaman Kedelai Tercemar Herbisida. *Oksipluorfem. Skripsi*. Universitas Brawijaya: Malang
- Prashar, P., N. Kapoor, and S. Sachdeva. 2013. Rhizosphere: Its Structure, Bacterial Diversity and Significance. *Review Environ Sci Biotechnol*: 1-18

- Prihatiningsih., N, T. Arwiyanto, B. Hadisutrisno dan J. Widada. 2015. Mekanisme Antibiosis *Bacillus Subtilis* B315 Untuk Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Kentang. *J. HPT Tropika* 15(1): 64 – 71
- Raini, M. 2015. Kajian Pestisida Berbahan Aktif Antibiotika. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan 25(1): 33-42
- Rachmawati, R.A. 2019. Eksplorasi Indigenous PGPR dari Rizosfer Tanaman Bambu di UB Forest dan Potensinya sebagai Agens Antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Skripsi. Universitas Brawijaya; Malang
- Sariyah, S., F. Widiani dan W. Widiawati. 2020. Metode Penyimpanan Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi Menggunakan *Glycerol*. *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Pendidikan* 2(1): 1-7
- Septiani., E. N. Dewi, dan I. Wijayanti. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan* 13(1): 1-6
- Serdani, A. D., L. Q. Aini, dan A. L. Abadi. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Tanaman Padi (*Oryza sativa*) sebagai Pengendali Penyakit Hawar Daun Bakteri Akibat *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Jurnal Viabel Pertanian* 12(1): 18-26
- Shankara, K., Patil, M.B., Pramesh, D., Sunkad, G., Yenjerappa, S.T., Ibrahim, M., Rajesh, N.L. and Chikkannaswamy. 2017. Characterization of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolates from Rice Growing Regions of Southern India. *Int. J. Pure App. Biosci.* 5(4): 452-461
- Sudir, B. Nuryanto, dan T. S. Kadir. 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. *Iptek Tanaman Pangan* 7(2):79-87
- Suprihatno, B., A. A. Daradjat., Satoto., I.N.Widiarta., Baehaki., A.Setyono., S.D. Indrasari., O.S. Lesmana., dan H.Sembiring. 2009. Deskripsi Varietas Padi. Sukamandi: Balai Besar Penelitian Tanaman Padi.
- Syamsiah, M. 2015. Efektivitas Aplikasi *Peanibacillus polymyxia* dalam Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi Varietas Mekonga. *Jurnal Agroscience* 5(1): 24-28
- Thirumurugan, D., A.Cholarajan., Raja, S.S.S and R. Vijayakumar. 2018. An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. *Secondary Metabolite Sources and Applications*. IntechOpen



- Trisia, A., R. Philyria, dan A.N. Toemon. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstraks Etanol Daun Kalanduyung (*Gauzuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *J. Anterior* 17(2): 136-143
- Utami, A.R. 2019. Potensi Rizobakteri UB *Forest* dan Senyawa Metabolit Sekundernya dalam Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Kentang (*Erwinia* sp.). Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang
- Wahyudi, A.T., S. Meliah., dan A. A. Nawangsih. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun Pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, Dan Telaah Mutagenesis Dengan Transposon. *Makara Sains* 15(1): 89-96
- Wahyuni, S., Z. Susanti, dan A. Yajid. 2020. Pengaruh Perlakuan Benih terhadap Mutu Fisiologi Benih dan Pertumbuhan Bibit Padi. Prosiding Seminar Nasional Kesiapan Sumber Daya Pertanian dan Inovasi Spesifik Lokasi Memasuki Era Industri 4.0
- Waltres, D.R., J.Ratsep and N.D. Havis. 2013. Controlling Crop Disease Using Induced Resistance Challages for The Feature. *Journal Experimental Botany* 64(5): 1263-1280.
- Widianti, F., E. Yulia, dan C. Nasahi. 2018. Potensi Antagonisme Senyawa Metabolit Sekunder Asal Bakteri Endofit dengan Pelarut Metanol terhadap Jamur *G. boninense*. *Jurnal Agrikultura* 2018, 29 (1): 55-60
- Wijayanti, K. S. 2018. Pemanfaatan Rhizobakteria untuk Mengendalikan Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* spp.) pada Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). *Balai Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri* 10(2): 90-99
- Windia, E. S., Sumadi, dan A. Nuraini. 2018. Pengaruh Pemberian Agen Hayati pada Benih dan Pupuk Bokashi terhadap Mutu Fisiologis Benih Kedelai (*Glycine max* L. (Merill) Kultivar Grobogan. *Agrologia* 7(1): 24-31
- Yasmin, S., F.Y. Hafeez., M.S. Mirza., M. Rasul., H. M. I. Arshad., M. Zubair and M. Iqbal. 2017. Biocontrol of Bacterial Leaf Blight of Rice and Profiling of Secondary Metabolites Produced by Rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* BRp3. *Frontiers in Microbiology* (8): 1-23





**Gambar Lampiran 1:** Hasil dokumentasi uji antagonis (A) Kontrol, (B) Isolat TH16, (C) Isolat 4, (D) Isolat N24, (E) Isolat N10, (F) Isolat N23, (G) Isolat N11, (H) Isolat NS12, (I) Isolat N27, (J) Isolat N3 dan (K) Streptomisin sulfat

**Lampiran 2.** Data indeks penghambatan uji antagonis bakteri rizosfer terhadap XOO

**UJI ANTAGONIS**

Bakteri	Ulangan	Diameter	24 jam	IP	Diameter	48 jam	IP	Diameter	72 jam	IP
	1	DH	1.5		DH	1.6		DH	1.5	
		DV	1.5		DV	1.5		DV	1.5	
	Rata -rata	1.5	2		Rata -rata	1.55	2.1	Rata -rata	1.5	2
N10	2	DH	1.5		DH	1.5		DH	1.5	
		DV	1.5		DV	1.5		DV	1	
	Rata -rata	1.5	2		Rata -rata	1.5	2	Rata -rata	1.25	1.5
	3	DH	1.3		DH	1.5		DH	1.3	
		DV	1.5		DV	1.5		DV	1	
	Rata -rata	1.4	1.8		Rata -rata	1.5	2	Rata -rata	1.15	1.3
	4	DH	1.3		DH	1.4		DH	1	
		DV	1.2		DV	1.3		DV	1	
	Rata -rata	1.25	1.5		Rata -rata	1.35	1.7	Rata -rata	1	1
	1	DH	1.3		DH	1.3		DH	1.3	
		DV	1.3		DV	1.3		DV	1.3	
	Rata -rata	1.3	1.6		Rata -rata	1.3	1.6	Rata -rata	1.3	1.6
N27	2	DH	1.2		DH	1.3		DH	1.2	
		DV	1.2		DV	1.3		DV	1.2	
	Rata -rata	1.2	1.4		Rata -rata	1.3	1.6	Rata -rata	1.2	1.4
	3	DH	1.3		DH	1.4		DH	1.3	
		DV	1.2		DV	1.3		DV	1.3	
	Rata -rata	1.25	1.5		Rata -rata	1.35	1.7	Rata -rata	1.3	1.6
	4	DH	1.3		DH	1.4		DH	1.3	
		DV	1.3		DV	1.3		DV	1.3	
	Rata -rata	1.3	1.6		Rata -rata	1.35	1.7	Rata -rata	1.3	1.6
N23	1	DH	1.5		DH	1.5		DH	1.5	
		DV	1.4		DV	1.4		DV	1.5	
	Rata -rata	1.45	1.9		Rata -rata	1.45	1.9	Rata -rata	1.5	2
	2	DH	1.3		DH	1.3		DH	1.3	
		DV	1.2		DV	1.3		DV	1.3	
	Rata -rata	1.25	1.5		Rata -rata	1.3	1.6	Rata -rata	1.3	1.6
	3	DH	1.4		DH	1.4		DH	1.5	
		DV	1.3		DV	1.3		DV	1.5	
	Rata -rata	1.35	1.7		Rata -rata	1.35	1.7	Rata -rata	1.5	2
	4	DH	1.2		DH	1.4		DH	1.3	
		DV	1		DV	1.3		DV	1.2	
	Rata -rata	1.1	1.2		Rata -rata	1.35	1.7	Rata -rata	1.25	1.5
NS12	1	DH	1		DH	1.1		DH	1.2	
		DV	1		DV	1.1		DV	1.1	
	Rata -rata	1	1		Rata -rata	1.1	1.2	Rata -rata	1.15	1.3
	2	DH	1.1		DH	1.2		DH	1.2	
		DV	1.1		DV	1.1		DV	1.2	
	Rata -rata	1.1	1.2		Rata -rata	1.15	1.3	Rata -rata	1.2	1.4
	3	DH	1.2		DH	1.2		DH	1.2	
		DV	1		DV	1.2		DV	1.2	
	Rata -rata	1.1	1.2		Rata -rata	1.2	1.4	Rata -rata	1.2	1.4
	4	DH	1.1		DH	1.2		DH	1.2	
		DV	1.1		DV	1.2		DV	1.2	
	Rata -rata	1.1	1.2		Rata -rata	1.2	1.4	Rata -rata	1.2	1.4



		DH	1.2		DH	1.2		DH	1.2	
	1	LDV	1.3		DV	1.3		DV	1.3	
	Rata - rata	1.25	1.5		Rata - rata	1.25	1.5	Rata - rata	1.25	1.5
	DH	1			DH	1.1		DH	1.1	
	DV	1			DV	1		DV	1	
	Rata - rata	1	1		Rata - rata	1.05	1.1	Rata - rata	1.05	1.1
TH16	3	LDV	1.1		DV	1.2		DH	1.3	
	DV	1.1			DV	1.3		DV	1.3	
	Rata - rata	1.1	1.2		Rata - rata	1.25	1.5	Rata - rata	1.3	1.6
	DH	0.9			DH	1		DH	1	
	LDV	0.8			DV	0.9		DV	1	
	Rata - rata	0.85	0.7		Rata - rata	0.95	0.9	Rata - rata	1	1
	DH	0.9			DH	1.1		DH	1.1	
	DV	0.9			DV	1.2		DV	1.2	
	Rata - rata	0.9	0.8		Rata - rata	1.15	1.3	Rata - rata	1.15	1.3
	DH	1.1			DH	1.2		DH	1.2	
	DV	1			DV	1.2		DV	1.2	
	Rata - rata	1.05	1.1		Rata - rata	1.2	1.4	Rata - rata	1.2	1.4
N11	3	LDV	1		DV	1.1		DH	1.1	
	DV	1			DV	1.2		DV	1.2	
	Rata - rata	1	1		Rata - rata	1.15	1.3	Rata - rata	1.15	1.3
	DH	1.1			DH	1.2		DH	1.2	
	LDV	1			DV	1		DV	1.1	
	Rata - rata	1.05	1.1		Rata - rata	1.1	1.2	Rata - rata	1.15	1.3
	DH	1.2			DH	1.2		DH	1.5	
	DV	1			DV	1		DV	1.2	
	Rata - rata	1.1	1.2		Rata - rata	1.1	1.2	Rata - rata	1.35	1.7
	DH	1.2			DH	1.2		DH	1.6	
	LDV	1.2			DV	1.3		DV	1.5	
	Rata - rata	1.2	1.4		Rata - rata	1.25	1.5	Rata - rata	1.55	2.1
	DH	1.1			DH	1.1		DH	1.6	
	LDV	1.2			DV	1.2		DV	1.4	
	Rata - rata	1.15	1.3		Rata - rata	1.15	1.3	Rata - rata	1.5	2
	DH	1.1			DH	1.1		DH	1.3	
	LDV	1.2			DV	1.2		DV	1.2	
	Rata - rata	1.15	1.3		Rata - rata	1.15	1.3	Rata - rata	1.25	1.5
	DH	0.8			DH	0.8		DH	0.8	
	LDV	0.8			DV	0.8		DV	0.8	
	Rata - rata	0.8	0.6		Rata - rata	0.8	0.6	Rata - rata	0.8	0.6
	DH	0.8			DH	0.9		DH	0.9	
	LDV	0.9			DV	0.9		DV	0.9	
	Rata - rata	0.85	0.7		Rata - rata	0.9	0.8	Rata - rata	0.9	0.8
	DH	0.9			DH	0.9		DH	0.9	
	LDV	0.9			DV	0.9		DV	0.9	
	Rata - rata	0.9	0.8		Rata - rata	0.9	0.8	Rata - rata	0.9	0.8
A4	4	LDV	1		DV	0.8		DH	1	
	DH	0.8			DH	0.9		DH	0.9	
	Rata - rata	0.9	0.8		Rata - rata	0.9	0.8	Rata - rata	0.9	0.8
	DH	0.8			DH	0.9		DH	0.9	
	LDV	0.9			DV	0.9		DV	0.9	
	Rata - rata	0.85	0.7		Rata - rata	0.9	0.8	Rata - rata	0.9	0.8
	DH	0.9			DH	0.9		DH	0.9	
	LDV	0.9			DV	0.9		DV	0.9	
	Rata - rata	0.9	0.8		Rata - rata	0.9	0.8	Rata - rata	0.9	0.8
	DH	1			DH	1		DH	1	
	LDV	0.8			DV	0.8		DV	0.8	
	Rata - rata	0.9	0.8		Rata - rata	0.9	0.8	Rata - rata	0.9	0.8
	DH	1.3			DH	1.5		DH	1.5	
	LDV	1.2			DV	1.3		DV	1.4	
	Rata - rata	1.25	1.5		Rata - rata	1.4	1.8	Rata - rata	1.45	1.9
	DH	1.3			DH	1.4		DH	1.4	
	LDV	1.4			DV	1.4		DV	1.4	
	Rata - rata	1.35	1.7		Rata - rata	1.4	1.8	Rata - rata	1.4	1.8
B6	3	LDV	1		DV	1.1		DH	1.1	
	DH	0.9			DV	1		DV	1.2	
	Rata - rata	0.95	0.9		Rata - rata	1.05	1.1	Rata - rata	1.15	1.3
	DH	1			DH	1.1		DH	1.1	
	LDV	1			DV	1.2		DV	1.2	
	Rata - rata	1	1		Rata - rata	1.15	1.3	Rata - rata	1.15	1.3



		universitas Brawijaya					
		DH	1.1	DH	1.2	DH	1.2
		DV	1.3	DV	1.3	DV	1.3
		Rata - rata	1.2	Rata - rata	1.25	Rata - rata	1.25
	1	DH	1.2	DH	1.2	DH	1.2
		DV	1.1	DV	1.1	DV	1.1
		Rata - rata	1.15	Rata - rata	1.15	Rata - rata	1.15
N26	2	DH	1.2	DH	1.4	DH	1.2
		DV	1.1	DV	1.1	DV	1.1
		Rata - rata	1.15	Rata - rata	1.15	Rata - rata	1.15
	3	DH	1.4	DH	1.4	DH	1.5
		DV	1.3	DV	1.4	DV	1.4
		Rata - rata	1.35	Rata - rata	1.4	Rata - rata	1.45
	4	DH	1.3	DH	1.4	DH	1.5
		DV	1.3	DV	1.4	DV	1.4
		Rata - rata	1.3	Rata - rata	1.4	Rata - rata	1.45
	1	DH	1.8	DH	1.9	DH	2.2
		DV	1.6	DV	1.7	DV	2
		Rata - rata	1.7	Rata - rata	1.8	Rata - rata	2.1
N3	2	DH	2	DH	2.3	DH	2.5
		DV	1.8	DV	2	DV	2.2
		Rata - rata	1.9	Rata - rata	2.15	Rata - rata	2.35
	3	DH	1.6	DH	1.7	DH	1.8
		DV	1.5	DV	1.6	DV	1.6
		Rata - rata	1.55	Rata - rata	1.65	Rata - rata	1.7
	4	DH	1.3	DH	1.3	DH	1.5
		DV	1.2	DV	1.3	DV	1.3
		Rata - rata	1.25	Rata - rata	1.3	Rata - rata	1.4
	1	DH	1.5	DH	1.6	DH	1.7
		DV	1.7	DV	1.7	DV	1.7
		Rata - rata	1.6	Rata - rata	1.65	Rata - rata	1.7
Bakterisida	2	DH	1.8	DH	1.9	DH	2
		DV	1.8	DV	1.9	DV	1.9
		Rata - rata	1.8	Rata - rata	1.9	Rata - rata	1.95
	3	DH	1.9	DH	2	DH	2
		DV	1.8	DV	1.9	DV	1.9
		Rata - rata	1.85	Rata - rata	1.95	Rata - rata	1.95
	4	DH	2	DH	2	DH	2
		DV	1.7	DV	1.8	DV	1.8
		Rata - rata	1.85	Rata - rata	1.9	Rata - rata	1.9
	1	DH	0	DH	0	DH	0
		DV	0	DV	0	DV	0
		Rata - rata	0	Rata - rata	0	Rata - rata	0
Kontrol	2	DH	0	DH	0	DH	0
		DV	0	DV	0	DV	0
		Rata - rata	0	Rata - rata	0	Rata - rata	0
	3	DH	0	DH	0	DH	0
		DV	0	DV	0	DV	0
		Rata - rata	0	Rata - rata	0	Rata - rata	0
	4	DH	0	DH	0	DH	0
		DV	0	DV	0	DV	0
		Rata - rata	0	Rata - rata	0	Rata - rata	0

**Lampiran 3.** Analisis ragam uji penghambatan 24 jam

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	19.606	12	1.634	26.716	.000
Galat	2.385	39	.061		
Total	21.991	51			

**2. Uji lanjut DMRT 5% (24 Jam)**

Kode Isolat	Ulangan	a	b	c	d	e	f	Daya hambat	g
Kontrol	4	.0000							
A4	4		.7250						
N11	4			1.0000	1.0000				
NS12	4				1.1500	1.1500			
TH16	4					1.1750	1.1750		
B6	4						1.2750	1.2750	
N24	4							1.3000	
N26	4								1.5000
N27	4								1.5250
N23	4								1.5750
N10	4								1.8250
N3	4								2.2000
Bakterisida	4								2.5500
Sig.		1.000	.124	.134	.065	.134	.096	.052	

**Lampiran 4.** Analisis ragam uji antagonis 48 Jam

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	22.476	12	1.873	25.749	.000
Galat	2.837	39	.073		
Total	25.312	51			



## 2. Uji lanjut DMRT 5%

Kode Isolat	Ulangan	a	b	c	d	Daya hambat
Kontrol	4	.0000				
A4	4		.7500			
TH16	4			1.2500		
N24	4			1.2875		1.2875
N11	4			1.3000		1.3000
NS12	4			1.3250		1.3250
B6	4			1.5000		1.5000
N26	4			1.6000		1.6000
N27	4			1.6500		1.6500
N23	4					1.7250
N10	4					1.9500
N3	4					2.4500
Bakterisida	4					2.7000
Sig.		1.000	1.000	.075	.052	.101 .198

## Lampiran 5. Analisis ragam uji antagonis 72 Jam

### 1. Tabel anova

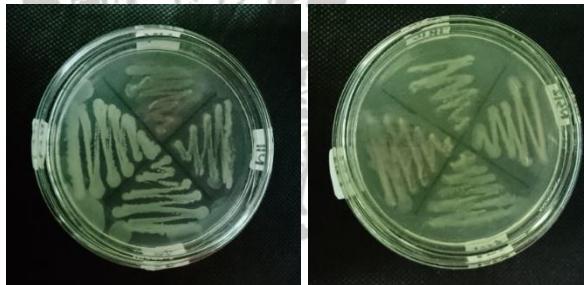
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	25.094	12	2.091	19.534	.000
Galat	4.175	39	.107		
Total	29.269	51			



## 2. Uji lanjut DMRT 5%

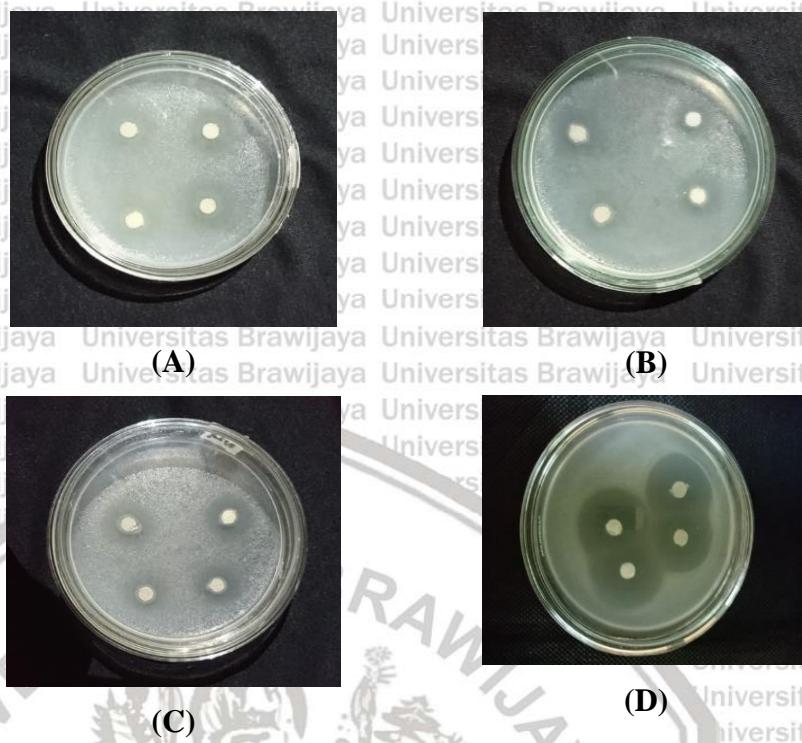
Kode Isolat	Ulangan	Daya hambat a	Daya hambat b	Daya hambat c	Daya hambat d
Kontrol	4	.0000			
A4	4		.7500		
TH16	4			1.3000	
N11	4			1.3250	
NS12	4			1.3750	
N10	4			1.4500	
N27	4			1.5500	
B6	4			1.5750	
N26	4			1.6500	
N23	4			1.7750	
N24	4			1.8250	
Bakterisida	4				2.7500
N3	4				2.7750
Sig.		1.000	1.000	.059	.915

### Lampiran 6. Dokumentasi uji antibiosis



**Gambar Lampiran 6:** Hasil dokumentasi uji antibiosis isolat TH16, Isolat A4, Isolat N24, Isolat N10, Isolat N23, Isolat N11, Isolat NS12, Isolat N27, Isolat N2, Isolat N3.

**Lampiran 7.** Uji metabolit sekunder



**Gambar Lampiran 7:** Hasil dokumentasi uji antagonis metabolit sekunder (A) MSN10,

(B) MSN23, (C) MSN3, dan (D) Streptomisin

**Lampiran 8.** Analisis ragam uji metabolit sekunder 24 Jam

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	1.532	3	0.511	4.160	0.031
Galat	1.473	12	0.123		
Total	3.004	15			

**2. Uji lanjut DMRT 5%**

Kode Isolat	Ulangan	Daya hambat	
		a	b
N10	4	1.8250	
N23	4	2.3500	2.3500
N3	4		2.4250
Streptomisin	4		2.6750
Sig.		0.056	0.235

**Lampiran 9.** Analisis ragam metabolit sekunder 48 Jam  
**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	4.319	3	1.440	6.244	0.008
Galat	2.767	12	0.231		
Total	7.086	15			

**2. Uji lanjut DMRT 5%**

Kode Isolat	Ulangan	Daya hambat
N10	4	a 1.9000
N23	4	b 2.4500
N3	4	2.4625
Streptomisin	4	3.3500
Sig.		.140 1.000

**Lampiran 10.** Analisis ragam uji antagonis metabolit sekunder 72 Jam

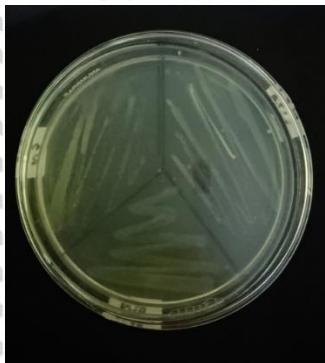
**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	4.283	3	1.428	11.160	0.001
Galat	1.535	12	0.128		
Total	5.818	15			

**2. Uji lanjut DMRT 5%**

Perlakuan	Ulangan	Daya Hambat
N10	4	a 2.2500
N23	4	b 2.5500
N3	4	2.6250
Streptomisin	4	3.6250
Sig.		.183 1.000

### Lampiran 11. Streak metabolit sekunder

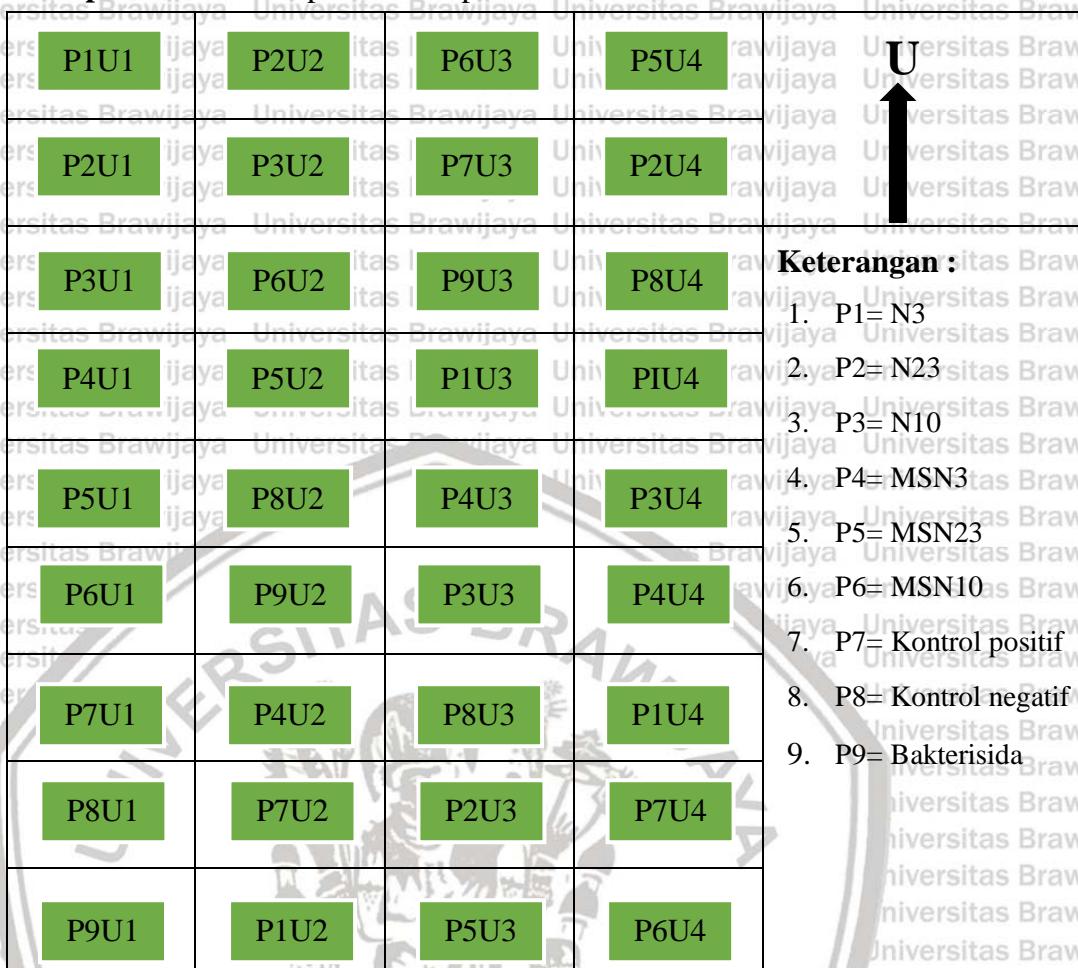


**Gambar Lampiran 11 :** Hasil dokumentasi streak metabolit sekunder metabolit sekunder Isolat N3, Isolat N23, dan Isolat N10.

### Lampiran 12. Perhitungan koloni bakteri

 N3	<p>Jumlah koloni bakteri : 281 CFU/ml</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• V. aplikasi <math>\times 10^9 \times</math> J. koloni  <math>100 \text{ ml} \times 10^9 \times 281 = 2.81 \times 10^{13}</math></li> <li>• <math>M1 \times V1 = M2 \times V2</math>  <math>M1 \times 2.81 \times 10^{13} = 10^9 \times 100</math>  <math>M1 = 0.003 \text{ ml}</math></li> </ul>
 N10	<p>Jumlah koloni bakteri : 241 CFU/ml</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• V. aplikasi <math>\times 10^9 \times</math> J. koloni  <math>100 \text{ ml} \times 10^9 \times 241 = 2.41 \times 10^{13}</math></li> <li>• <math>M1 \times V1 = M2 \times V2</math>  <math>M1 \times 2.47 \times 10^{13} = 10^9 \times 100</math>  <math>M1 = 0.004 \text{ ml}</math></li> </ul>
 N23	<p>Jumlah koloni bakteri : 247 CFU/ml</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• V. aplikasi <math>\times 10^9 \times</math> J. koloni  <math>100 \text{ ml} \times 10^9 \times 247 = 2.47 \times 10^{13}</math></li> <li>• <math>M1 \times V1 = M2 \times V2</math>  <math>M1 \times 2.47 \times 10^{13} = 10^9 \times 100</math>  <math>M1 = 0.004 \text{ ml}</math></li> </ul>

**Lampiran 13. Denah penanaman padi**

P1U1	P2U2	P6U3	P5U4	 <p><b>Keterangan :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. P1= N3</li> <li>2. P2= N23</li> <li>3. P3= N10</li> <li>4. P4= MSN3</li> <li>5. P5= MSN23</li> <li>6. P6= MSN10</li> <li>7. P7= Kontrol positif</li> <li>8. P8= Kontrol negatif</li> <li>9. P9= Bakterisida</li> </ol>
P2U1	P3U2	P7U3	P2U4	
P3U1	P6U2	P9U3	P8U4	
P4U1	P5U2	P1U3	PIU4	
P5U1	P8U2	P4U3	P3U4	
P6U1	P9U2	P3U3	P4U4	
P7U1	P4U2	P8U3	P1U4	
P8U1	P7U2	P2U3	P7U4	
P9U1	P1U2	P5U3	P6U4	



**Lampiran 14. Data pertumbuhan**

No	Perlakuan	Panjang tanaman	Jumlah daun	Panjang akar	Perkecambahan (%)
1	N3	16.8	3	13.97	94
1	N3	14.98	3	12.67	
1	N3	15.28	2.3	10.27	
1	N3	14.68	2.7	12.17	
2	N23	15.7	3	6.8	94
2	N23	15.13	3	7.83	
2	N23	15.7	2.7	8.23	
2	N23	15.1	2.7	8.07	
3	N10	16.07	2.3	11	92
3	N10	12.87	2.67	11.13	
3	N10	15.6	2.67	8.17	
3	N10	12.9	2.3	9.5	
4	MSN3	19.97	2.67	11.67	93
4	MSN3	13.73	3	9.3	
4	MSN3	15.9	3	10.83	
4	MSN3	15.93	2.67	6.3	
5	MSN23	17	2.67	6.83	92
5	MSN23	17.77	3	10.16	
5	MSN23	15.8	3	8.8	
5	MSN23	16	3	8.5	
6	MSN10	15.83	2.3	9	93
6	MSN10	16	3	5.83	
6	MSN10	17	2.67	5.83	
6	MSN10	17.5	3	10.5	
7	Kontrol (+)	12.5	2.67	5.1	90
7	Kontrol (+)	17.16	3	5.33	
7	Kontrol (+)	11.67	2.3	6.6	
7	Kontrol (+)	15.3	3	4.5	
8	Kontrol (-)	14.5	2.67	4.3	91
8	Kontrol (-)	13.43	2.3	6.16	
8	Kontrol (-)	14.1	2.67	5.5	
8	Kontrol (-)	16	2.67	5.16	
9	Bakterisida	12	2.67	5.16	88
9	Bakterisida	10.67	2.67	5.5	
9	Bakterisida	12.3	2	5.33	
9	Bakterisida	12.3	2.67	4	



**Lampiran 15.** Analisis ragam panjang akar

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	192.165	8	24.02	10.292	0.000
Ulangan	2.538	3	0.864	0.362	0.781
Galat	54.014	24	2.334		
Total		35			

**2. Uji lanjut DMRT 5%**

Perlakuan	Ulangan	Daya hambat	
		a	b
			C
Bakterisida	4	4.9975	
K-	4	5.2800	
K+	4	5.3825	
BN23	4	7.7325	
MSN10	4	7.7900	a
MSN23	4	8.5725	
MSN3	4	9.5250	
BN10	4	9.9500	
BN3	4		12.2700
Sig.		0.740	0.076
			1.000

**Lampiran 16.** Analisis ragam jumlah daun

**1.Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	0.773	8	0.097	1.527	0.200
Ulangan	0.336	3	0.112	1.771	0.180
Galat	2.627	24	0.063		
Total		35			



## 2. Uji lanjut DMRT 5%

Perlakuan	Ulangan	Daya hambat
BN10	4	2.4850
Bakterisida	4	2.5025
K-	4	2.5775
MSN10	4	2.7425
K+	4	2.7425
BN3	4	2.7500
MSN3	4	2.8350
BN23	4	2.8500
MSN23	4	2.9175
Sig.		0.087
		0.053

## Lampiran 17. Analisis ragam panjang tanaman

### 1. Tabel anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	79.417	8	9.927	4.460	0.002
Ulangan	4.848	3	1.616	0.726	0.546
Galat	53.421	24	2.226		
Total	137.686	35			

### 2. Uji lanjut DMRT 5%

Perlakuan	Ulangan	Daya Hambat	C
		a	b
Bakterisida	4	11.8175	
K-	4	14.0300	14.0300
K+	4	14.0425	14.0425
BN10	4		14.3600
BN23	4		15.4075
BN3	4		15.4350
MSN3	4		16.3825
MSN10	4		16.5825
MSN23	4		16.6425
Sig.		0.056	0.059
			0.066



### Lampiran 18. Deskripsi Varietas IR64

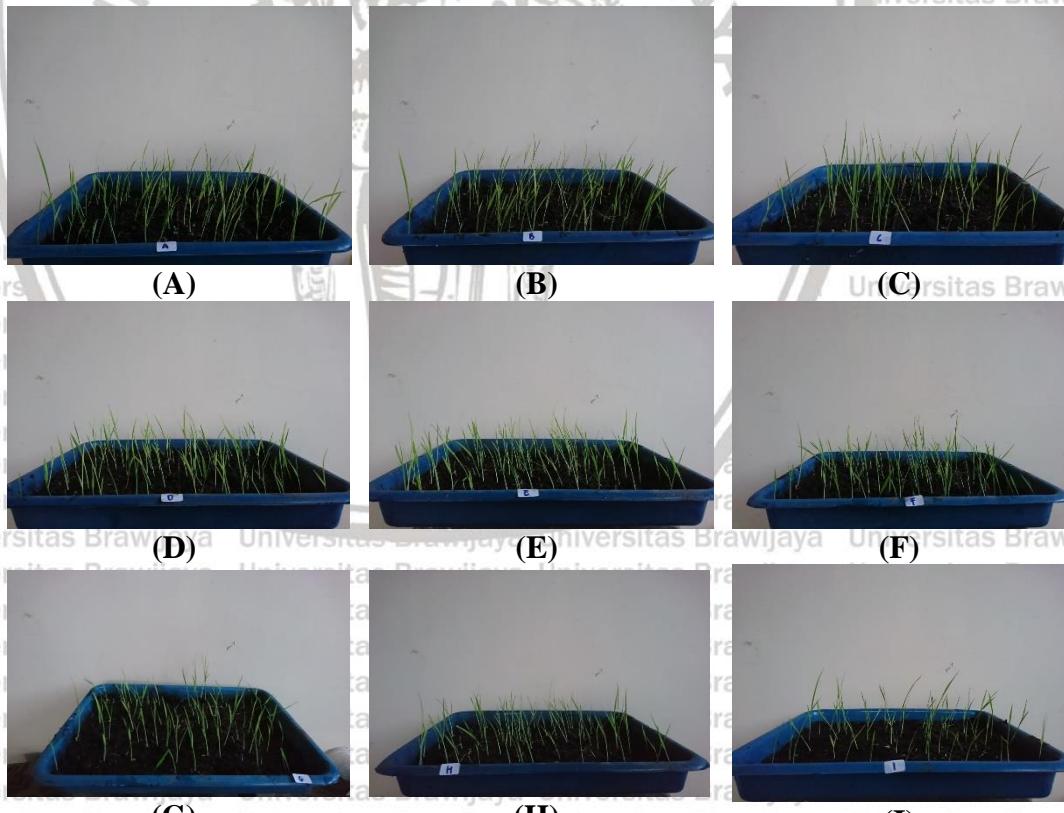
Varietas IR 64 digunakan sebagai pengujian *in vivo* yaitu untuk mengetahui ketahanan padi pada masa pembibitan terhadap serangan XOO, berikut merupakan deskripsi varietas IR 64 berdasarkan Suprihatno *et al* (2009):

Nomor seleksi	: IRI8348-36-3-3
Asal persilangan	: IR5657/ IR2061
Golongan	: Cere
Umur tanaman	: 110–120 hari
Bentuk tanaman	: Tegak
Tinggi tanaman	: 115–126 cm
Anakan produktif	: 20–35 batang
Warna kaki	: Hijau
Warna batang	: Hijau
Warna telinga daun	: Tidak berwarna
Warna lidah daun	: Tidak berwarna
Warna daun	: Hijau
Muka daun	: Kasar
Posisi daun	: Tegak
Daun bendera	: Tegak
Bentuk gabah	: Ramping, Panjang
Warna gabah	: Kuning bersih
Kerontokan	: Tahan
Kereahan	: Tahan
Tekstur nasi	: Pulen
Kadar amilosa	: 23%
Indeks Glikemik	: 70



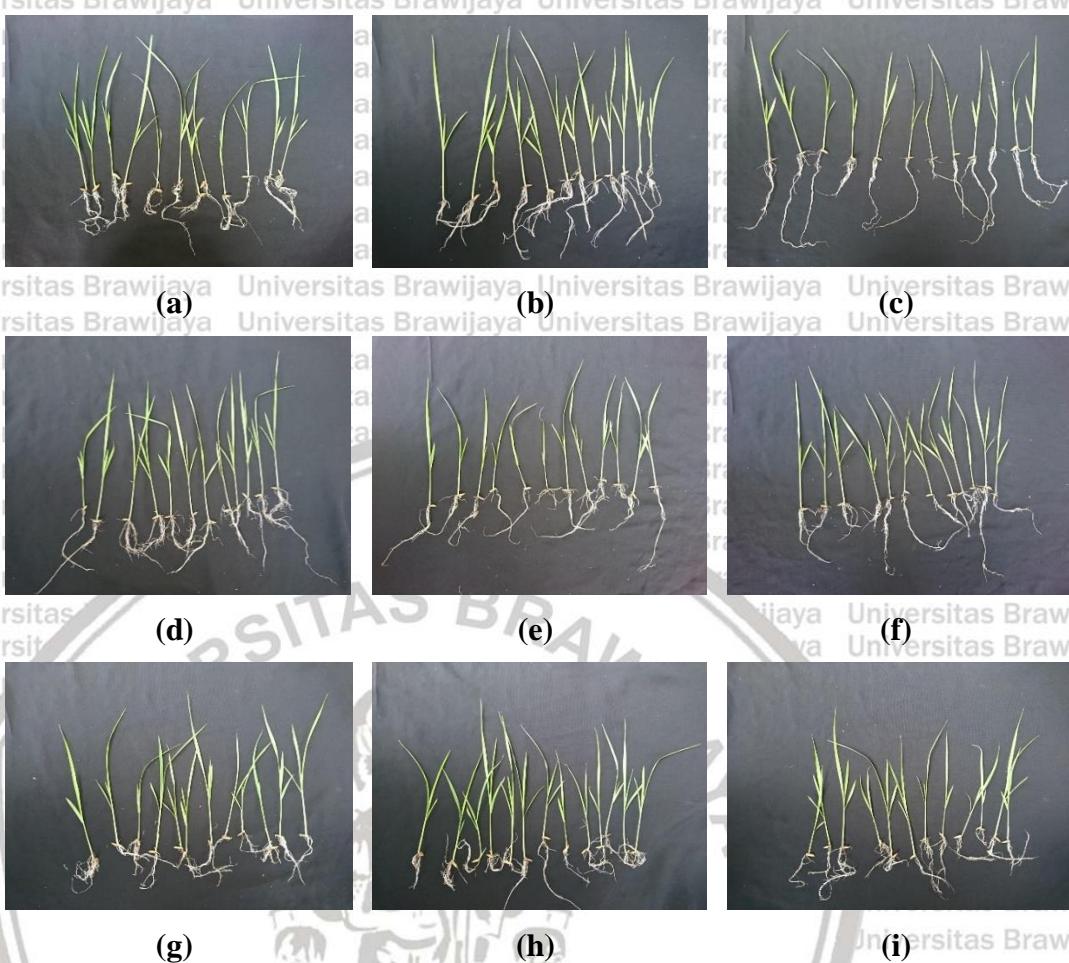
Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya
Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya
Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya
Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya
<b>Bobot 1000 butir</b>	: 24,1 g			
<b>Rata-rata hasil</b>	: 5,0 t/ha			
<b>Potensi hasil</b>	: 6,0 t/ha			
<b>Ketahanan terhadap Hama dan Penyakit</b>	: 1. Tahan wereng coklat biotipe 1,2 dan agak tahan wereng coklat biotipe 3 2. Agak tahan hawar daun bakteri strain IV 3. Tahan virus kerdil rumput			
<b>Anjuran tanam</b>	: Baik ditanam di lahan sawah irrigasi dataran rendah sampai sedang			
<b>Pemulia</b>	: Introduksi dari IRRI			
<b>Dilepas tahun</b>	: 1986			

#### Lampiran 19. Dokumentasi pembibitan



**Gambar Lampiran 19:** Hasil dokumentasi pembibitan (a) BN23, (b) MSN23, (c) BN3, (d) MSN3, (e) BN10, (f) MSN10, (g) kontrol negatif, (h) kontrol positif, dan (i) bakterisida

**Lampiran 20.** Dokumentasi *in vivo* (14 HST)



**Gambar Lampiran 20:** Hasil dokumentasi pembibitan padi 21 HST yang telah siap pindah tanam, (a) BN23, (b) MSN23, (c) BN3, (d) MSN3, (e) BN10, (f) MSN10, (g) kontrol negatif, (h) kontrol positif, dan (i) bakterisida

**Lampiran 21.** Data persentase serangan xoo

No	Perlakuan	Pengamatan ke-				
		1	2	3	4	5
1	N3	0.00%	1.68%	1.29%	1.83%	2.01%
2	N3	0.00%	0.00%	2.17%	2.82%	3.92%
3	N3	0.00%	0.75%	0.75%	0.75%	2.88%
4	N3	0.71%	1.83%	2.91%	3.29%	4.28%
5	N23	0.00%	0.84%	3.47%	5.14%	10.27%
6	N23	0.00%	0.00%	1.35%	2.34%	5.51%
7	N23	1.14%	2.91%	6.93%	7.92%	7.92%
8	N23	0.00%	0.63%	2.17%	2.38%	2.66%
9	N10	0.00%	1.20%	2.21%	2.74%	4.96%
10	N10	0.00%	1.35%	7.35%	7.56%	7.56%
11	N10	0.00%	1.71%	3.49%	3.69%	4.29%
12	N10	1.69%	3.41%	5.06%	18.37%	44.20%
13	MSN3	0.00%	0.00%	0.93%	1.26%	1.42%
14	MSN3	0.00%	0.00%	0.81%	1.50%	3.08%
15	MSN3	0.00%	1.96%	4.00%	5.72%	6.57%
16	MSN3	0.00%	0.00%	1.50%	1.50%	3.98%
17	MSN23	0.00%	0.00%	1.19%	1.63%	3.58%
18	MSN23	0.00%	1.44%	3.33%	7.33%	42.72%
19	MSN23	0.00%	2.79%	4.00%	4.77%	6.09%
20	MSN23	0.81%	3.68%	5.10%	5.26%	6.71%
21	MSN10	0.00%	0.58%	2.39%	20.65%	21.56%
22	MSN10	0.00%	3.31%	5.16%	7.04%	31.68%
23	MSN10	0.00%	1.38%	2.52%	2.88%	5.96%
24	MSN10	0.00%	0.00%	0.87%	3.20%	5.07%
25	Kontrol (+)	1.33%	6.11%	15.56%	38.61%	82.17%
26	Kontrol (+)	0.00%	1.88%	5.21%	11.69%	18.58%
27	Kontrol (+)	2.45%	12.24%	29.00%	36.79%	51.30%
28	Kontrol (+)	0.00%	1.75%	4.30%	6.96%	13.77%
29	Kontrol (-)	0.00%	0.34%	1.19%	1.53%	1.53%
30	Kontrol (-)	0.00%	1.98%	3.66%	8.53%	8.53%
31	Kontrol (-)	0.00%	0.00%	0.00%	0.38%	0.38%
32	Kontrol (-)	0.00%	0.83%	4.31%	7.26%	7.26%
33	Bakterisida	2.51%	4.84%	41.00%	41.01%	41.85%
34	Bakterisida	0.00%	1.47%	1.37%	2.99%	4.23%
35	Bakterisida	0.71%	1.25%	3.00%	3.00%	4.56%
36	Bakterisida	1.06%	3.32%	8.23%	9.38%	37.61%



**Lampiran 22.** Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke- 1

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	5.203	8	0.650	1.546	0.194
Ulangan	1.441	3	0.480	1.142	0.352
Galat	10.094	24	0.421		
Total		35			

**2. Uji lanjut DMRT 5%**

	Perlakuan	Ulangan	Daya Hambat
MSN3			a
MSN10			0.00000
K-			0.00000
BN3			0.17750
MSN23			0.20250
BN23			0.28500
BN10			0.42250
K+			0.94500
Bakterisida			1.07000
Sig			0.055

**Lampiran 23.** Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke-2

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	72.587	8	9.073	2.351	0.050
Ulangan	13.630	3	4.543	1.177	0.339
Galat	92.634	24	3.860		
Total	178.51	35			

## 2. Uji lanjut DMRT 5%

Perlakuan	Ulangan	Daya Hambat
MSN23	4	0.49000
K-	4	0.58000
BN3	4	1.06500
BN23	4	1.09500
MSN10	4	1.31750
BN10	4	1.71750
MSN3	4	1.91750
Bakterisida	4	1.97750
K+	4	5.49500
Sig		0.362 1.00

Lampiran 24. Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke -3

### 1. Tabel anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	816.034	8	102.004	1.795	0.128
Ulangan	121.023	3	40.341	0.710	0.556
Galat	1363.990	24	56.833		
Total	3073.146	35			

## 2. Uji lanjut DMRT 5%

Perlakuan	Ulangan	Daya hambat
BN23	4	1.09500
BN3	4	1.51000
MSN3	4	1.81000
BN10	4	1.91750
K-	4	2.29000
MSN10	4	2.73500
MSN23	4	3.40500
Bakterisida	4	13.40000
K+	4	13.51750
Sig		0.055



**Lampiran 25.** Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke-4

**1. Tabel anova**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	1512.931	8	189.116	2.261	0.058
Ulangan	272.183	3	90.728	1.085	0.374
Galat	2007.477	24	83.645		
Total	3792.591	35			

**2. Uji lanjut DMRT 5%**

Perlakuan	Ulangan	Daya hambat
BN3	a	b
MSN3	2.17250	
K-	2.49500	
BN23	4.42500	
MSN23	4.44500	
BN10	4.74750	
MSN10	8.09000	
Bakterisida	8.44250	
K+	14.09500	
Sig	0.122	0.158

**Lampiran 26.** Analisis ragam persentase penyakit pengamatan ke-5

**1. Tabel anova**

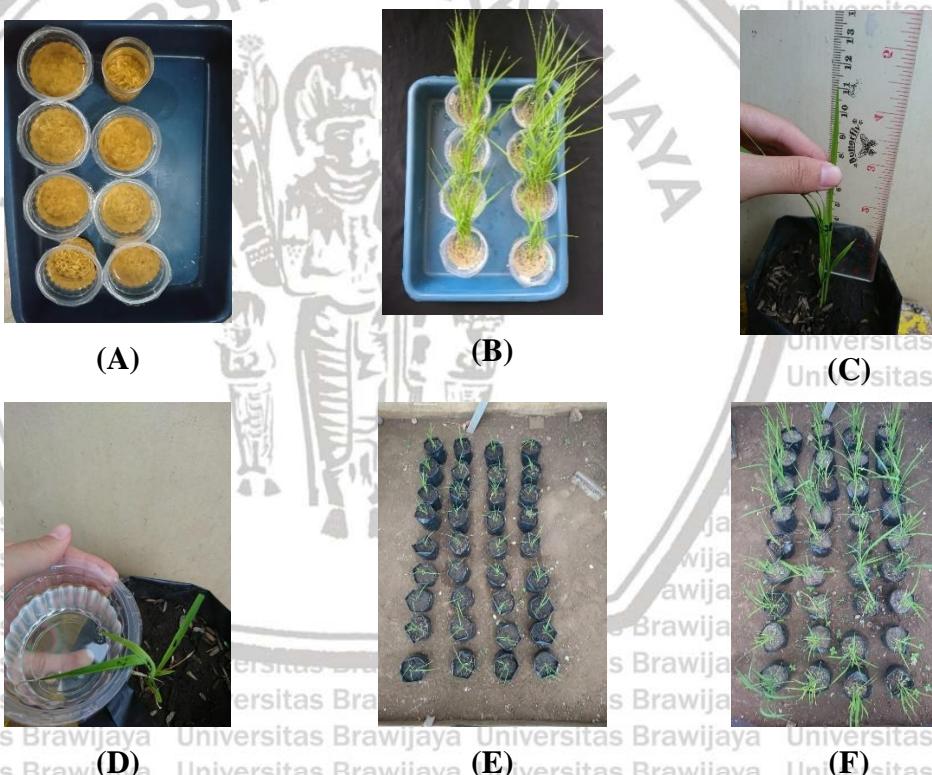
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	4765.110	8	595.639	2.129	0.073
Ulangan	352.206	3	117.402	0.419	0.741
Galat	6715.269	24	279.803		
Total	11832.56	35			



## 2. Uji lanjut DMRT 5%

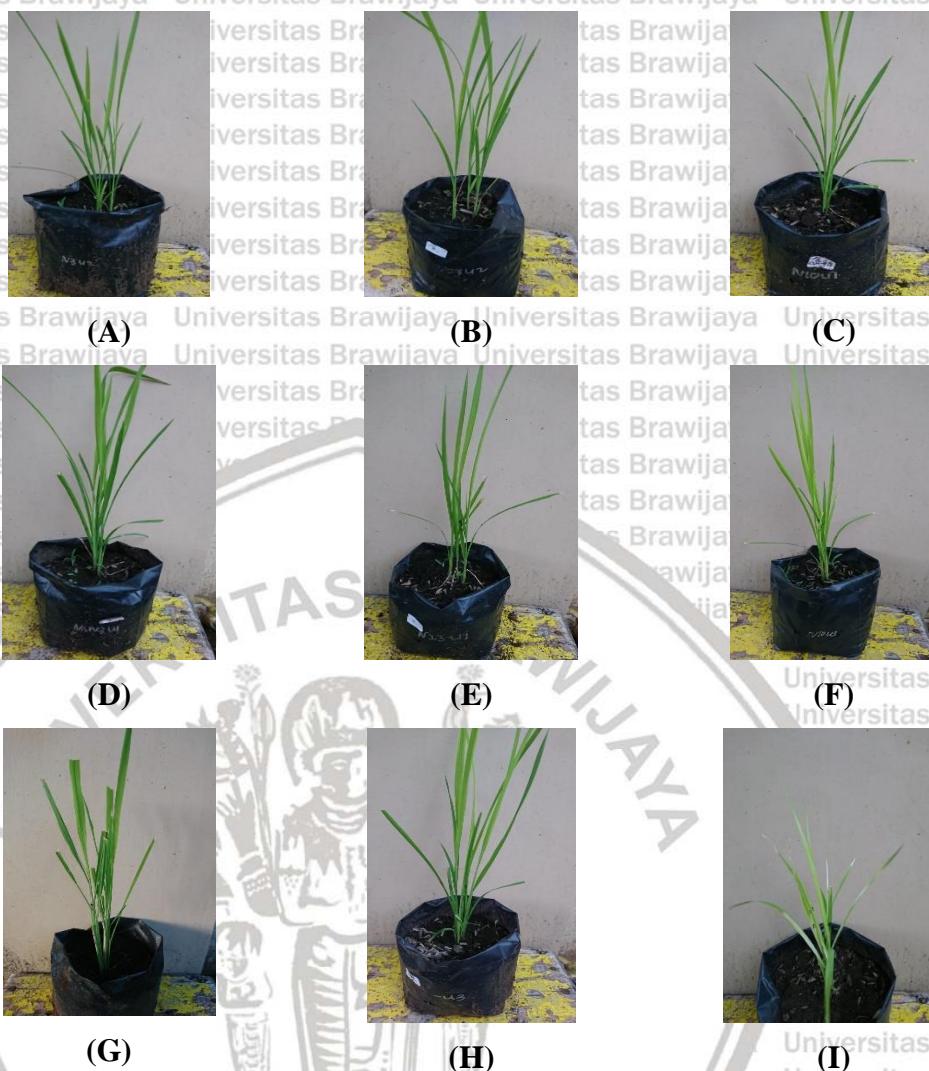
Perlakuan	Ulangan	Daya hambat
BN3	4	a 3.27250
MSN3	4	b 3.76800
K-	4	4.42500
BN23	4	6.59000
MSN23	4	14.77500
BN10	4	15.25250
MSN10	4	16.06750
Bakterisida	4	22.06250
K+	4	41.45500
Sig.		0.181 0.053

Lampiran 27. Dokumentasi serangkaian pelaksanaan *in vivo*



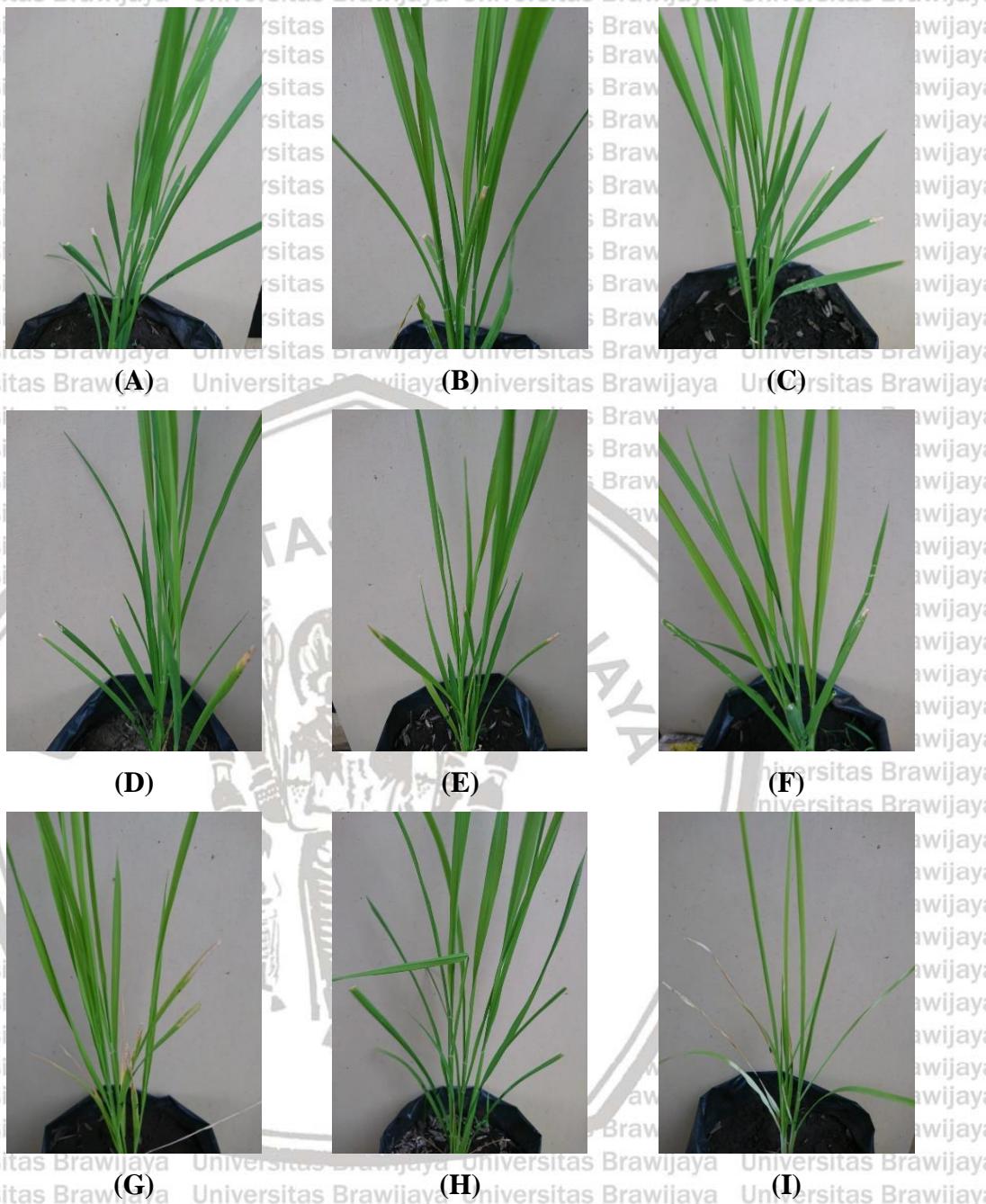
Gambar Lampiran 27: Dokumentasi serangkaian pelaksanaan *in vivo*, (a) perendaman benih, (b) perendaman bibit yang akan pindah tanam, (c) pengukuran panjang tanaman, (d) inokulasi xoo (e) tanaman padi 13HST, (f)tanaman padi 28 HST

**Lampiran 28.** Dokumentasi pengamatan penyakit ke 2



**Gambar Lampiran 28:** Hasil dokumentasi pengamatan penyakit pengamatan ke 2, (a) BN23, (b) MSN23, (c) BN3, (d) MSN3, (e) BN10, (f) MSN10, (g) kontrol negatif, (h) kontrol positif, dan (i) bakterisida

**Lampiran 29.** Dokumentasi pengamatan penyakit ke 5



**Gambar Lampiran 29:** Hasil dokumentasi pengamatan penyakit pengamatan ke 5, (a) BN23, (b) MSN23, (c) BN3, (d) MSN3, (e) BN10, (f) MSN10, (g) kontrol negatif, (h) kontrol positif, dan (i) bakterisida