

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN  
JAGUNG (*Zea mays* L.) SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK  
BATANG JAGUNG (*Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae*)  
SECARA IN VITRO**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**DEFI ARIZA**



**JURUSAN PROTEKSI TANAMAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.) SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BATANG JAGUNG (*Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae*) SECARA IN VITRO

Oleh

DEFI ARIZA

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri endofit yang mampu berperan sebagai antagonis *Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae*. dan mengetahui identitas bakteri endofit yang dapat mengendalikan *P. aroidearum* dan *D. oryzae*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Agustus 2022 - Maret 2023. Pada penelitian ini terdapat tiga percobaan utama, yaitu eksplorasi bakteri endofit pada tanaman jagung, karakterisasi bakteri, dan identifikasi molekuler isolat terpilih menggunakan primer fD1 dan rP2. Hasil penelitian menunjukkan dari 90 isolat bakteri diperoleh tiga isolat bakteri ((BB22(1), SA22(3), dan BA22(2)) yang mempunyai kemampuan antagonis terhadap *P. aroidearum* dan satu isolat bakteri (SB12(2)) antagonis terhadap *D. oryzae*. Hasil uji biokimia menunjukkan keempat isolat bakteri berkarakter *soft rot* negatif, hipovirulen, hipersensitif negatif, casein positif, fluoresensi pada media kings'B negatif, *arginine dihydrolase* positif, mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C, serta mampu menggunakan *glicerol*, *D-melibiose*, *sodium L-glutamat*, *sorbic acid*, *citric acid monohydrate*, dan *tri sodium citrate dihydrate* sebagai sumber karbonnya, serta mampu melarutkan fosfat. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat BB22(1) berada satu kelompok dengan *Pseudomonas aeruginosa* dan isolat SB12(2) satu kelompok dengan *Pseudomonas* sp.

**Kata kunci** : antagonis, bakteri endofit, *D. oryzae*, jagung, *P. aroidearum*.

**EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN  
JAGUNG (*Zea mays* L.) SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK  
BATANG JAGUNG (*Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae*)  
SECARA IN VITRO**

**Oleh**

**Defi Ariza**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar  
SARJANA PERTANIAN**

**Pada**

**Jurusan Proteksi Tanaman  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Skripsi : **EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI  
BAKTERI ENDOFIT TANAMAN JAGUNG  
(*Zea mays* L.) SEBAGAI ANTAGONIS  
PATOGEN BUSUK BATANG JAGUNG  
(*Pectobacterium aroidearum* DAN *Dickeya  
oryzae*) SECARA *In Vitro***


Nama Mahasiswa : **Defi Ariza**

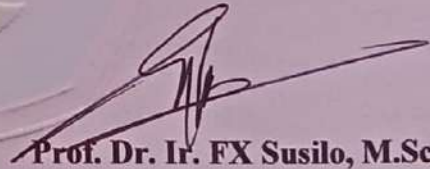
Nomor Pokok Mahasiswa : 1914191035

Jurusan : **Proteksi Tanaman**

Fakultas : **Pertanian**



  
**Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.**  
NIP. 198106212005011003

  
**Prof. Dr. Ir. FX Susilo, M.Sc.**  
NIP. 195908081983031001

2. **Ketua Jurusan Proteksi Tanaman**

  
**Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.**  
NIP. 198108152008122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Pembimbing Utama : Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.



Anggota Pembimbing : Prof. Dr. Ir. FX Susilo, M.Sc.



Penguji  
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. ....



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Erwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 10 Agustus 2023

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“EKSPLOKASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN JAGUNG SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN BUSUK BATANG JAGUNG (*Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae*) SECARA IN VITRO”** merupakan hasil saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 05 Agustus 2023

Penulis,



Dehi Anza

NPM 1914191035

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis lahir di Rajabasa Lama, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung pada 26 Desember. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Fendy Arizal dan Ibu Atminah. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di TK Pertiwi 2 pada tahun 2006, SDN 2 Rajabasa Lama pada tahun 2012, SMPN 1 Labuhan Ratu pada tahun 2015, dan SMKN Unggul Terpadu pada tahun 2018. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN).

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Desa Braja Fajar, Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur dan Praktik Umum di Laboratorium Pengamatan Hama dan Penyakit (LPHP) Trimurjo, Kecamatan Simbar Waringin, Kabupaten Lampung Tengah. Penulis pernah aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota Bidang Kewirausahaan (2021 dan 2022), organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Pertanian (BEM FP) sebagai anggota Departemen Advokasi dan Kesejahteraan Mahasiswa (ADKESMA) (2021 dan 2022), dan organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa Universitas (BEM-U) sebagai anggota Kementrian Sekretaris Kabinet (2020). Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi (2021), Perbanyak Massal Agensia Hayati (2023), dan Bioteknologi Proteksi Tanaman (2023).

*Bismillahirrohmanirrohim*

*Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya ini kepada:*

*Kedua orang tuaku tercinta Bapak Fendy Arizal dan Ibu Atminah*

*Adik-adikku tersayang Alvino Deo dan Anaswa Rahmadani*

*Kakek nenekku tercinta Pakwo Alm. Dullah Marjuki dan*

*Makwo Marmiati*

*Serta seluruh saudara-saudara terkasihku*

*Untuk diriku sendiri, Defi Ariza*

*Terima kasih telah bertahan dan berjuang dengan penuh tangis,*

*harap, dan do'a hingga sampai di titik ini*

*Dan, untuk Almamater Tercinta*

*Proteksi Tanaman*

*Universitas Lampung*



*Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan  
kesanggupannya  
(Q.S. Al-Baqarah: 286)*

*Jangan menjelaskan tentang dirimu kepada siapapun karena yang  
menyukaimu tidak butuh itu dan yang membencimu tidak percaya itu  
(Ali bin Abu Thalib)*

*Life is like riding bicycle. To keep your balance, you must keep moving  
(Albert Einstein)*

*The way to get started is to quit talking and begin doing  
(Walt Disney)*

## SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Tanaman Jagung sebagai Antagonis Patogen Busuk Batang Jagung (*Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae*) secara *In Vitro***”. Skripsi ini disusun secara maksimal dan mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, nasihat, ilmu, doa, saran dan masukan selama penulis melaksanakan penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Ir. FX Susilo, M.Sc., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan ilmu, motivasi, nasihat, dan saran selama penulis proses penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku pembahas yang telah memberikan motivasi, nasihat, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan baik.
6. Ir. Lestari Wibowo, M.P., selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis dari awal hingga akhir perkuliahan.
7. Kedua orang tuaku tercinta, Ayah Fendy Arizal dan Ibu Atminah, terimakasih atas kasih sayang, nasihat, motivasi, dan doa yang tiada hentinya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dan dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung.

8. Adik-adikku tersayang, Alfino Deo dan Anaswa Rahmadani yang selalu mendoakan dan memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Rezky Reza Pratama yang selalu memberikan dukungan, semangat, motivasi, dan doa kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
10. Dita Meiliana as partner dari segala partner, terimakasih atas segala bantuan, motivasi, semangat dalam segala keadaan suka maupun duka selama perkuliahan khususnya penelitian.
11. Sobat santuy Dita Oktaviani, Alfiannida Tian Salsabila, dan Suci Aulia Hersaputri atas dukungan, motivasi, dan masukan yang telah diberikan kepada penulis.
12. Keluarga biotek 2019 Haura, Hafizh, Hikmah, Ketut, Intan, Oka, Andreas, dan teman-teman yang tidak dapat saya ucapkan satu persatu atas bantuan, doa, dan dukungan.
13. Mba Tariyati, Mba Yeyen, Mba Safira Nuraini, dan Bang Nando atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
14. Keluarga proteksi Tanaman 2019 yang tidak bisa saya ucapkan satu persatu.

Semoga skripsi ini bermanfaat

Bandar Lampung, Agustus 2023

Penulis,

Defi Ariza

## DAFTAR ISI

<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran .....	2
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanaman Jagung .....	4
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Jagung.....	4
2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Jagung .....	5
2.1.3 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Jagung.....	5
2.2 Penyakit Busuk Batang Jagung .....	6
2.2.1 Gejala Penyakit.....	6
2.2.2 Penyebab Penyakit .....	6
2.2.3 Epidemiologi .....	7
2.2.4 Pengendalian Penyakit Busuk Batang Jagung.....	7
2.3 Bakteri Endofit .....	7
2.4 Bakteri Endofit sebagai Antagonis Patogen Tanaman .....	8
2.5 Metode Identifikasi Bakteri.....	8
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat .....	10
3.2 Bahan dan Alat .....	10
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.3.1 Pengembalian Sampel Tanaman Jagung .....	11
3.3.2 Isolasi Bakteri Endofit.....	11
3.3.3 Pemurnian dan Peremajaan .....	12
3.3.4 Uji Antagonis Bakteri Endofit.....	12
3.3.5 Karakterisasi Bakteri .....	13
3.3.6 Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat .....	18
3.3.7 Identifikasi molekuler.....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil.....	22
4.1.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit pada Tanaman Jagung.....	22
4.1.2 Hasil Uji Antagonis .....	22
4.1.3 Karakterisasi Bakteri .....	23

4.1.4 Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat .....	31
4.1.5 Identifikasi Molekuler .....	32
4.2 Pembahasan .....	34

**V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40

**DAFTAR PUSTAKA**

**LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Skor keparahan penyakit .....	15
2. Hasil isolasi bakteri .....	22
3. Luas zona bening pada uji antagonis yang diperoleh.....	23
4. Hasil uji karakterisasi bakteri antagonis yang diperoleh.....	24
5. Hasil uji hipovirulen.....	26
6. Hasil uji kemampuan bakteri terhadap beberapa jenis bahan organik .....	31
7. Hasil uji kemampuan bakteri sebagai pelarut fosfat .....	32
8. Hasil isolasi bakteri .....	48
9. Data uji hipovirulen.....	50
10. Data uji fosfat .....	50

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema uji kemampuan antagonism bakteri.....	12
2. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri.....	19
3. Uji antagonisme secara <i>in vitro</i> .....	23
4. Hasil KOH <i>string test</i> untuk bakteri antagonis patogen busuk batang jagung.....	25
5. Hasil negatif pada uji hipersensitif.....	25
6. Hasil negatif pada uji <i>soft rot</i> .....	26
7. Hasil uji hipovirulen.....	27
8. Hasil uji O/F.....	27
9. Hasil positif uji <i>casein</i> .....	28
10. Hasil uji fluoresensi pada media kings'B.....	28
11. Hasil uji <i>lechitinase</i> .....	29
12. Hasil uji <i>arginine dihydrolase</i> .....	29
13. Hasil uji kemampuan tumbuh pada suhu 39°C dan 40°C.....	30
14. Hasil uji kemampuan bakteri terhadap beberapa jenis bahan organik .....	31
15. Hasil uji pelarut fosfat .....	32
16. Hasil eletroforesis hasil PCR .....	33
17. Pohon filogeni hasil analisis sekuen 16SrDNA yang dibuat dengan metode <i>Maximum Likelihood</i> .....	33

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Di Indonesia jagung (*Zea mays*) merupakan salah satu tanaman pangan pokok. Jagung memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi (Soegiharto, 2011). Selain menjadi bahan pangan pokok, jagung juga merupakan komponen utama bahan pakan ternak, bahan baku industri minuman, kimia dan farmasi (Ranum *et al.*, 2014; Temaja dkk., 2017).

Hingga saat ini produksi jagung di Indonesia belum mampu memenuhi permintaan dalam negeri, sehingga impor jagung masih terus dilakukan. Volume impor jagung mengalami peningkatan dari 452 ribu ton pada tahun 2017 menjadi 477 ribu ton pada tahun 2018 (Fitra, 2018). Pada tahun 2020 impor jagung mengalami penurunan dari tahun sebelumnya yaitu sebesar 911.194 ton (Yuniartha dan Laoli, 2020). Namun pada tahun 2021 impor jagung meningkat kembali sebesar 15% dibandingkan dengan tahun 2020. Pada 2021, telah dilakukan impor jagung sebanyak 995,99 ribu ton (Sembiring, 2022).

Produksi jagung di Indonesia sebenarnya perlu ditingkatkan. Namun upaya peningkatan produksi jagung masih menghadapi berbagai kendala (Soerjandono, 2008). Produksi jagung terkendala oleh adanya serangan bakteri patogen tanaman yang dapat berpengaruh terhadap penurunan hasil (Oerke, 2006), salah satunya penyakit busuk batang jagung *Bacterial Stalk Rot* (BSR). Penyakit ini dilaporkan disebabkan oleh *Dickeya zea* (Kumar *et al.*, 2015). Baru-baru ini ditemukan penyebab lain dari penyakit ini yaitu *Pectobacterium aroidearum* dan *Dickeya oryzae* (Pattat and Gijsegem, 2021). Kerugian finansial akibat BSR cukup besar. Filipina mengalami kerugian ekonomi akibat *Bacterial Stalk Rot* (BSR) mencapai



20 juta *philippines peso* atau setara dengan Rp 3,5 miliar setiap tahun (Subekti dan Salazar, 2007).

Pada umumnya petani menggunakan bakterisida untuk mengendalikan bakteri patogen tanaman. Bakterisida yang sering digunakan yaitu bakterisida yang berbahan aktif antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu yang lama sangat tidak dianjurkan karena akan menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Selain itu, apabila hasil produksi tersebut dikonsumsi mungkin akan berdampak terhadap resistensi bakteri yang ada di dalam tubuh manusia (McManus *et al.*, 2002). Dengan adanya dampak negatif dari penggunaan bakterisida, maka perlu dicari alternatif pengendalian yang aman untuk mengendalikan bakteri patogen. Salah satunya dengan menggunakan agens hayati.

Bakteri endofit merupakan salah satu agens hayati yang telah dilaporkan mampu menghambat patogen tanaman (Afzal *et al.*, 2019). Namun begitu, hingga saat ini belum ada laporan tentang jenis bakteri endofit, khususnya yang berasal dari tanaman jagung yang mampu menghambat perkembangan *P. aroidearum* dan *D.oryzae*. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi untuk mendapatkan bakteri endofit yang mampu mengendalikan *P. aroidearum* dan *D. oryzae*.

## 1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini sebagai berikut:

1. Mendapatkan bakteri endofit yang mampu berperan sebagai antagonis *P. aroidearum* dan *D. oryzae*.
2. Mengidentifikasi bakteri endofit yang dapat mengendalikan *P. aroidearum* dan *D. oryzae*.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Penyakit busuk batang jagung (*Bacterial Stalk Rot*) pertama kali dilaporkan pada tahun 1930 oleh Prasad, yang mengidentifikasi patogen penyebab penyakit tersebut sebagai *Erwinia dissolvens*. Namun, gejala yang dijelaskannya lebih

mirip dengan gejala yang disebabkan oleh *E. chrysanthemi* pv. *zeae*. Pada tahun 1969 penyakit busuk batang jagung ini menjadi penting ketika terjadi wabah yang parah di Distrik Mandi, Himachal Pradesh (Kumar *et al.*, 2017b). Menurut Subekti dan Salazar (2007), kerugian akibat BSR (*Bacterial Stalk Rot*) di Filipina diperkirakan sebesar 20 juta *philippines peso* (setara dengan Rp 3,5 miliar) setiap tahun.

Pemanfaatan agens hayati saat ini menjadi alternatif pengendalian *Pectobacterium* sp. dan *Dickeya* sp. Beberapa jenis bakteri antagonis dilaporkan mampu menekan tingkat serangan *Dickeya* sp. dan *Pectobacterium* sp. antara lain *Pseudomonas putida* PA14H, *Pseudomonas fluorescens* PA3G8 dan PA4C2, *Bacillus simplex* BA2H, dan *Pseudomonas brassicacearum* strains PA1G7 dan PP1210F (Essarts *et al.*, 2016). Selain itu, beberapa jenis bakteri antagonis lainnya juga dilaporkan mampu berperan sebagai agens pengendali *Dickeya* sp. antara lain yaitu *Pseudomonas putida* STRAIN PF-20, *Aspergillus* sp. SNTH003, dan *Penicillium* sp. SNTH001 (Supriyanto dkk., 2011).

Beberapa jenis bakteri endofit juga dilaporkan mampu berperan sebagai antagonis patogen tanaman. Bakteri endofit pada tanaman paitan (isolat Tb45n dan Tb42n) mampu menekan pertumbuhan isolat *Fusarium oxysporum* (Andriani dan Oktafianto, 2019). Selain itu, bakteri endofit pada tanaman padi (*Bacillus cereus*, *Burkholderia* sp., dan *Enterobacter* sp.) secara *in vitro* juga dilaporkan mampu menekan pertumbuhan patogen *Xanthomonas oryzae* (Serdani dkk., 2018). Kemungkinan terdapat bakteri endofit pada tanaman jagung yang dapat berperan sebagai antagonis patogen tanaman, khususnya *P. aroidearum* dan *D. oryzae*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Jagung

Jagung dapat ditanam dan tumbuh baik di hampir setiap daerah di wilayah tropis. Produksi jagung setiap daerah berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh perbedaan suhu udara, pH tanah, kesuburan tanah, ketersediaan air, dan varietas yang ditanam. Kondisi untuk pertumbuhan tanaman jagung yang optimum adalah 26-30 °C, pH tanah 5,7-6,8. Tanah yang subur, ketersediaan air baik, dan penggunaan varietas unggul. Umur tanaman jagung dapat dipengaruhi oleh ketinggian dataran. Pada dataran rendah, umur jagung berkisar antara 3-4 bulan dan berumur 4-5 bulan pada dataran tinggi dengan ketinggian 1000 m dpl. Hal ini karena perbedaan suhu udara pada setiap tempat. Umur panen jagung mundur satu hari setiap kenaikan tinggi tempat 50 m dari permukaan laut (Kosim, 2017).

#### 2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Jagung

Berdasarkan taksonominya, tanaman jagung dapat diklasifikasikan sebagai berikut (USDA, 2020) :

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Subclass	: Commelinidae
Order	: Cyperales
Family	: Poaceae
Genus	: <i>Zea</i> L.
Species	: <i>Zea mays</i> L.

Secara morfologi tanaman jagung memiliki jenis akar serabut dengan tiga macam akar, yaitu: akar seminal, akar adventif, dan akar kait atau penyangga. Akar seminal adalah akar yang berkembang dari radikula dan embrio. Sedangkan akar adventif merupakan akar yang semula berkembang dari buku ujung mesokotil, lalu berkembang dari tiap buku secara berurutan dan terus ke atas antara 7-10 buku. Akar adventif akan berkembang menjadi serabut akar tebal. Tanaman jagung mempunyai batang yang berbentuk silindris, tidak bercabang, terdiri atas sejumlah ruas dan buku ruas. Pada buku ruas terdapat tunas yang berkembang menjadi tongkol (Kosim, 2017).

### **2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Jagung**

Tanaman jagung dapat tumbuh pada semua jenis tanah, namun sifat tanah yang paling dikehendaki oleh tanaman jagung adalah tanah yang memiliki drainase lancar, subur dengan humus dan pupuk yang mencukupi persediaan untuk pertumbuhan tanaman jagung. Iklim atau cuaca juga menentukan pertumbuhan suatu tanaman. Tanaman jagung dapat berproduksi dengan baik pada daerah yang beriklim sejuk yaitu 50°LU sampai 40°LS dengan ketinggian 3000 mdpl. Selain sifat tanah dan iklim, keasamaan tanah atau pH juga menentukan pertumbuhan tanaman jagung. Keasamaan tanah (pH) yang baik untuk pertumbuhan tanaman jagung berkisar antara 5,5-7 (Rochani, 2007).

### **2.1.3 Kendala dalam Budidaya Tanaman Jagung**

Salah satu kendala umum yang timbul dalam budidaya jagung adalah serangan hama dan penyakit (Surtikanti, 2011). Hama yang sering menyerang tanaman jagung antara lain yaitu ulat tanah (*Agrotis ipsilon*), lalat bibit (*Atherigona exigua*), penggerek batang jagung (*Ostrinia furnicalis*), belalang (*Locusta* sp.), ulat grayak (*Spodoptera frugiperda*), *Helicoverpa armigera*, wereng jagung (*Stenocarnus pacifacus*), dan *Spodoptera litura* (Nelly, 2002). Sedangkan beberapa jenis penyakit pada tanaman jagung antara lain yaitu penyakit bulai, hawar daun jagung, penyakit busuk tongkol, busuk batang bakteri, dan lain lain (Sudjono, 1988).

## 2.2 Penyakit Busuk Batang Jagung

### 2.2.1 Gejala Penyakit

Penyakit busuk batang jagung memiliki gejala umum tanaman jagung yang tiba-tiba rebah karena bagian pangkal batang yang terinfeksi bakteri menjadi lunak, berlendir dengan warna coklat sampai coklat tua. Gejala awal penyakit ini adalah perubahan warna daun selubung kemudian menyebar ke batang, dalam kondisi parah tanaman akan roboh dan tercium bau busuk (Kumar *et al.*, 2017a). Gejala eksternal penyakit ini yaitu terjadi maserasi dari batang dan ruas basal, menghasilkan pelunakan dan perubahan warna jaringan yang terinfeksi bau busuk dan akhirnya tanaman roboh mengakibatkan kehilangan hasil yang parah (Kumar *et al.*, 2015).

### 2.2.2 Penyebab Penyakit

Pada umumnya penyakit busuk batang jagung disebabkan oleh *Dickeya zaeae* (Samson *et al.*, 2005). Bakteri ini memiliki beberapa ciri morfologi yaitu bersifat motil, merupakan bakteri gram-negatif, bentuknya seperti tongkat berukuran 0,8-3,2 x 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  (rata-rata 1,8 x 0,6  $\mu\text{m}$ ), mempunyai 3-14 flagella peritrikus biasanya berpasangan. Isolat diidentifikasi pada media kristal violet pektat (*crystal violet pectate* = CVP) berdasarkan pembentukan rongga. Kemudian kultur ini dimurnikan pada media King's B. Didapatkan koloni berwarna putih pudar, berlendir, dan berkilau (Kumar *et al.*, 2015). Namun baru-baru ini ditemukan spesies baru penyebab lain penyakit busuk batang jagung yaitu *D. oryzae*. Spesies *D. oryzae* masih berkerabat dekat dengan *D. zaeae*. Spesies baru yang disebut *D. oryzae* ini berkaitan erat dengan *D. zaeae*, sehingga perbedaan antar kedua spesies tersebut sulit untuk didefinisikan (Pattat and Gijsegem, 2021).

Selain *D. oryzae*, baru-baru ini ditemukan juga *P. aroidearum*. Bakteri ini berpotensi menyerang tanaman monokotil (Nabhan *et al.*, 2013), misalnya jagung. *P. aroidearum* memiliki beberapa karakteristik, diantaranya yaitu termasuk bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, berbentuk batang, anaerob fakultatif, memanfaatkan pektin dan mencairkan medium crystal violet pektat

semi selektif (CVP). Bentuk koloni *P.aroidearum* yaitu kecil dan rata pada media King's B. *P.aroidearum* dapat tumbuh di *Luria Broth* dengan 5% NaCl dan suhu 37°C dan 39 °C. Dalam genus *Pectobacterium*, *P.aroidearum* dapat dibedakan dari spesies lain dengan kemampuannya dalam memanfaatkan *glikogen*, *D-serine*, *L-alaninamide*, *D-alanine*, *L alanine*, *glucouramide* dan *L-alanyl glycine* (Nabhan *et al.*, 2013).

### **2.2.3 Epidemiologi**

Patogen menyebarkan penyakit dari satu tanaman ke tanaman lain melalui air hujan dan *runoff* (Kumar *et al.*, 2015). Curah hujan yang tinggi dapat mempercepat perkembangan bakteri busuk batang. Selain itu, tanaman jagung yang disiram menggunakan springkel atau pada tanah-tanah yang mudah banjir juga akan menyebabkan peningkatan dampak buruk karena penyakit ini. Penyakit busuk batang jagung ini dapat berkembang sangat baik pada suhu tinggi yaitu sekitar 30-35 °C dengan sirkulasi udara yang kurang baik (Sudjono, 1988).

### **2.2.4 Pengendalian Penyakit Busuk Batang Jagung**

Pengendalian penyakit busuk batang jagung dapat dilakukan dengan menggunakan varietas tahan, pengolahan tanah yang baik, dan drainase yang baik (Sudjono, 1988). Berdasarkan hasil penelitian Agustiani (2020), isolat bakteri *Paenibacillus polymyxa* berpotensi sebagai antagonis terhadap *Dickeya* sp. penyebab penyakit busuk batang jagung secara *in vitro* dengan luas diameter penghambatan sebesar 0,34-3,63 cm. Hal tersebut menandakan ada kemungkinan penyakit ini dikendalikan menggunakan pengendalian hayati.

## **2.3 Bakteri Endofit**

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan kerusakan pada tanaman (Hallmann, 2001). Bakteri endofit sebagai agen biokontrol memiliki keunggulan dibandingkan bioagen lain karena kehadirannya di jaringan tanaman, sehingga mudah beradaptasi dengan kondisi

lingkungan agar dapat bertahan hidup secara biotik dan cekaman abiotik (Hong and Park, 2016).

Bakteri endofit mampu menjajah jaringan tanaman dimana bakteri patogen berkembang. Selain itu, bakteri endofit dapat mengurangi atau mencegah efek negatif dari patogen tertentu. Mekanisme bakteri endofit dalam pengendalian patogen pada tanaman inang terjadi secara langsung dan secara tidak langsung. Dalam mekanisme langsung, bakteri meningkatkan penyerapan dan peningkatan nutrisi (fosfat, nitrogen, besi) hormon tumbuhan (auxin, ethylene, cytokinin, giberelin). Di sisi lain, mekanisme tidak langsung melibatkan antibiosis, enzim litik, kompetisi nutrisi, dan induksi pertahanan (Afzal *et al.*, 2019). Menurut Hallmann *et al.* (1997) bakteri endofit dapat hidup pada akar, batang, daun, dan buah tanaman. Pada saat ini, mikroba endofit banyak diteliti karena memiliki manfaat dan efek positif pada tanaman inang seperti antimikroba, hormon pertumbuhan, fiksasi nitrogen, mobilitas fosfat, produksi siderofor, induksi SAR dan ISR, serta meningkatkan ketahanan terhadap stres lingkungan.

#### **2.4 Bakteri Endofit sebagai Antagonis Patogen Tanaman**

Beberapa bakteri endofit dilaporkan mampu sebagai antagonis *Pectobacterium* sp. dan *Dickeya* sp. diantaranya yaitu *Pseudomonas* sp., *Curtobacterium luteum* dan *Pantoea agglomerans* yang telah dilaporkan mampu menghambat *Pectobacterium carotovorum* (Sturz *et al.*, 1999). Selain itu, *Pectobacterium carotovorum* juga dilaporkan dapat dihambat oleh beberapa jenis bakteri endofit antara lain yaitu *Pantoea ananatis*, *Mynoides odoratimimus*, *Enterobacter asburiae* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Hu *et al.*, 2009). Dilaporkan juga bahwa bakteri endofit *Serratia plymuthica* A30 mampu menghambat perkembangan *D.solani* (Hadizadeh *et al.*, 2019).

#### **2.5 Metode Identifikasi Bakteri**

Identifikasi bakteri dilakukan melalui serangkaian uji yang meliputi uji gram (pengujian reaksi dengan KOH), uji oksidatif fermentatif, uji pigmen fluoresen

pada media King's B, dan pengujian pada media arginin (Schaad *et al.*, 2001). Menurut Suharjo dkk. (2022) identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan uji kemampuan tumbuh pada beberapa jenis bahan organik, uji *soft rot* pada umbi kentang, uji *lechitinase*, dan uji kemampuan tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C. Selain itu, menurut Baroroh dkk. (2014) dapat juga dilakukan uji hipersensitif untuk mengetahui karakter dari suatu bakteri.



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2022 hingga Maret 2023. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Agustus 2022 hingga September 2022, sedangkan isolasi dan pengujian di laboratorium dilakukan pada bulan Oktober 2022 hingga Maret 2023. Tempat dilaksanakannya penelitian ini yaitu di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu beberapa bahan isolasi hingga uji karakteristik dan identifikasi molekuler. Beberapa bahan isolasi hingga uji karakteristik ialah alkohol 70%, minyak parafin, HCl, KOH 3%, 5% NaCl, *sodium hypochlorite* 2%, KOH 3%, *Bromothymol Blue* (BTB) 2 %, air steril, akuades, benih mentimun, tembakau, media *Yeast Peptone Agar* (YPA), *Water Agar* (WA), *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA), Oksidatif/Fermentatif (O/F), media *Skim Milk*, media *Ayer's*, media *King's B*, media *Yeast Pepton* (YP), *moeller media*, media pikovskaya. Selain itu, digunakan juga beberapa bahan organik yaitu *Myo-inositol*, *D-raffinose*, *Innulin*, *Mannitol*, *Glycerol*, *5-ketogluconate*, dan *Ascorbic acid*. Bahan-bahan PCR yang digunakan antara lain yaitu *ethidium bromide* (EtBr), *MyTaq™ Red Mix*, DNA primer (fD1 dan rP2), *marker DNA ladder*, *loading dye*, buffer TE, dan agarose.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat untuk isolasi hingga uji karakterisasi, dan uji molekuler. Alat yang digunakan untuk isolasi

hingga uji karakterisasi ialah tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, jarum ent, *Laminar Air Flow* (LAF), *rotamixer*, timbangan elektrik, autoklaf, mikropipet, kertas merang, *water bath*, pinset, tabung *eppendorf* 1,5 mL, plastik tahan panas, nampan, spidol, pisau, penggaris, *plastic wrapping*, *tissue*, *aluminium foil*, karet gelang, korek api, kapas, dan alat tulis. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler yaitu cetakan gel 20x16x1 cm<sup>3</sup>, *freezer*, mikropipet 0 - 1000 µL, pipet tip 0 - 1000 µL, tabung *eppendorf* 100 µL, *microcentrifuge*, mesin PCR, alat elektroforesis, dan *gel documentation system*.

### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Pengambilan Sampel Tanaman Jagung**

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 kali pada bulan Agustus 2022 hingga September 2022. Sampel tanaman jagung sehat (pertumbuhan secara visual paling subur) diambil dari tiga varietas jagung (NK 212, BISI 2, dan NK 22) di pertanaman jagung yang terdapat serangan patogen busuk batang jagung di Desa Sukadamai 5°14'29.5"S 105°18'10.7"E, Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan. Lalu sampel dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk diisolasi.

#### **3.3.2 Isolasi Bakteri Endofit**

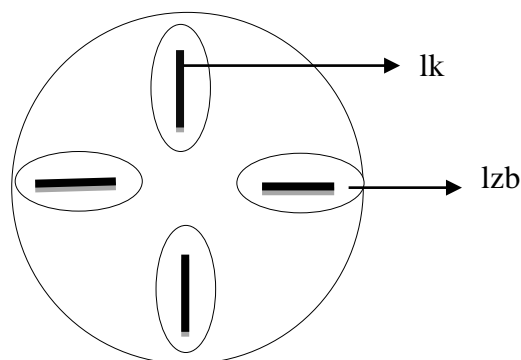
Beberapa bagian tanaman jagung yang akan diisolasi diantaranya yaitu bagian akar, batang, dan daun. Tahap awal yaitu sampel dicuci menggunakan aquades kemudian dikeringanginkan. Setelah itu disemprot menggunakan alkohol 70% kemudian didiamkan 1-2 menit. Isolasi dilakukan didalam LAF dengan cara menyiapkan 2 tabung *eppendorf* 1,5 mL berisi 1 mL aquades steril untuk setiap bagian tanaman. Setelah itu setiap bagian tanaman jagung dipotong kecil-kecil ( $\pm$  5 mm) menggunakan gunting atau scalpel steril lalu potongan tersebut dibilas kembali dengan menyelupkan ke dalam air steril. Setiap bagian dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* yang berisi air steril dengan dua kali ulangan lalu digerus sampai hancur, kemudian diambil 1 ose suspensi dan digoreskan ke media YPA.

### 3.3.3 Pemurnian dan Peremajaan

Pemurnian dilakukan dengan mengambil koloni bakteri dengan bentuk dan warna yang berbeda kemudian digoreskan dalam tabung reaksi berisi media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Isolat tersebut diremajakan pada media yang sama. Sebelum dilakukan pengujian isolat diremajakan 1 hari sebelumnya pada media PPGA. Setiap koloni dengan bentuk dan warna yang sama dalam satu petri diambil sebanyak satu koloni sebagai representasi koloni bakteri yang tumbuh.

### 3.3.4 Uji Antagonis Bakteri Endofit

Pengujian ini dilakukan menggunakan  $\pm 20$  mL media PPGA dengan suhu  $40^{\circ}\text{C}$  yang telah ditambahkan  $100\ \mu\text{L}$  suspensi bakteri *P. aroidearum* maupun *D. oryzae* yang kemudian dituangkan ke dalam cawan petri (Gambar 1). Setelah media padat, bakteri antagonis digoreskan pada cawan petri. Pengamatan terhadap pertumbuhan zona bening dilakukan setiap hari selama 7 hari dengan menggambar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri menggunakan plastik transparan dan spidol kemudian luas zona bening dihitung menggunakan kertas *milimeterblock*. Uji antagonis dikelompokkan berdasarkan besarnya nilai penghambatan.



Gambar 1. Skema uji kemampuan antagonisme bakteri. Luas koloni (lk), luas zona bening (lzb).

### **3.3.5 Karakterisasi Bakteri**

#### **3.3.5.1 Uji Gram**

Uji gram bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri termasuk gram positif atau gram negatif. Dalam uji ini, isolat yang digunakan berumur 24 jam. Satu ose bakteri isolat diambil, diletakkan di atas kaca preparat, dan ditetesi KOH 3% sebanyak 1 tetes. Campuran itu dihomogenkan menggunakan jarum ose. Jarum ose disentuhkan pada suspensi bakteri dan diangkat perlahan sampai kurang lebih setinggi 1 cm. Jika terlihat lendir yang berbentuk seperti benang tidak terputus maka bakteri tersebut termasuk kelompok gram negatif, jika sebaliknya maka bakteri tersebut termasuk kelompok gram positif (Powers, 1995).

#### **3.3.5.2 Uji Hipersensitif**

Pengujian bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang ditemukan berpotensi menjadi patogen tanaman atau tidak. Uji dilakukan dengan memasukkan 1 mL air steril ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. Satu ose isolat bakteri diambil lalu dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi tersebut diambil sebanyak 300  $\mu$ L dan diinokulasikan (disuntikkan) di antara kedua epidermis daun tembakau menggunakan jarum suntik. Pengamatan dilakukan pada 24-48 jam setelah inokulasi. Apabila setelah diinkubasi muncul gejala nekrotik pada area inokulasi maka reaksi tersebut menunjukkan reaksi positif. Sebaliknya jika tidak muncul gejala nekrotik maka reaksi tersebut menandakan reaksi negatif (Baroroh dkk., 2014).

#### **3.3.5.3 Uji *Soft rot***

Uji *soft rot* dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri endofit termasuk ke dalam bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Pada uji ini, digunakan umbi kentang yang dipotong setebal kurang lebih 1 cm kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30-45 menit. Setelah itu, irisan umbi kentang diletakkan di atas tisu lembab di dalam cawan. Lalu, diambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam dari media PPGA kemudian digoreskan pada bagian tengah permukaan umbi. Setelah

itu umbi kentang diinkubasi selama 24 jam dan dilakukan pengamatan. *Soft rot* positif ditunjukkan apabila bakteri tersebut menyebabkan busuk lunak pada umbi kentang yang telah diinokulasikan (Suharjo dkk., 2022).

### 3.3.5.4 Uji Hipovirulen

Pada uji ini menggunakan kecambah mentimun sebagai tanaman indikator. Benih mentimun direndam di dalam air hangat ( $\pm 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama 30 menit, setelah itu direndam dalam alkohol selama 10 detik, direndam dalam air klorok 0,3% selama 10 detik, dan dicuci 3 kali menggunakan akuades. Benih dikecambahkan di atas kertas merang lembab dalam nampan. Nampan ditutup menggunakan wrap selama 2 hari. Setelah 2 hari, empat benih dipindahkan ke dalam cawan petri berisi media *water agar* untuk diinkubasi dalam suhu kamar selama 1 hari. Cara membuat media *water agar* adalah dengan cara memasukkan 2 g agar dan 500 mL air steril ke dalam *erlenmeyer* lalu disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 1 atm.

Dalam pengujian ini, isolat bakteri yang diuji berumur 24 jam. Suspensi dibuat dengan memasukkan 1 mL air steril ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL, lalu sebanyak 1 ose isolat bakteri diambil dan dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi tersebut diambil sebanyak 10  $\mu\text{L}$ , diteteskan di tengah-tengah hipokotil bibit mentimun berumur 3 hari. Setiap perlakuan dengan isolat bakteri tertentu diulang sebanyak 3 kali atau 3 cawan yang masing-masing berisi 4 kecambah mentimun. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari terhadap gejala nekrotik yang muncul. Pengamatan gejala bertujuan untuk menentukan Indeks Keparahan Penyakit (*Disease Severity Index/DSI*). Isolat dikatakan hipovirulen jika nilai  $\text{DSI} < 2$ . Rumus *Disease Severity Index* (DSI) yang digunakan adalah (Supriyanto, 2009):

$$\text{DSI} = \frac{\sum N}{Z}$$

dengan:

DSI = Indeks Keparahan Penyakit;

N = Skor keparahan penyakit pada masing-masing sampel (Tabel 1);

Z = Jumlah sampel yang digunakan.

Tabel 1. Skor keparahan Penyakit

Skor	Gejala
0	sehat, tidak ada infeksi pada hipokotil
1	satu atau dua bercak coklat muda < 0,25 cm
2	bercak coklat muda <0,5 cm dan area kebasahan <10% pada hipokotil
3	bercak coklat muda sampai tua >1 cm yang kemudian bergabung dengan bercak lainnya. Daerah kebasahan 10% <x<100% pada hipokotil (daun belum layu dan hipokotil masih putih)
4	hipokotil kolap, daun layu, dan bibit mati.

Sumber: Supriyanto (2009).

### 3.3.5.5 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

Uji oksidatif/fermentatif bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri endofit termasuk aerob atau anaerob. Pengujian dilakukan menggunakan media O/F yang dibuat dengan cara memasukkan 0,938 g O/F Basal Medium, 1 g Glukosa, dan 100 mL akuades ke dalam erlenmeyer. Campuran dipanaskan menggunakan *microwave*. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 4 mL kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Isolat bakteri pada media PPGA berumur kurang lebih 24 jam diambil menggunakan jarum preparat kemudian dimasukkan ke dalam media O/F sampai dasar tabung, diulang 2 kali. Salah satu tabung ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 mL. Pengamatan dilakukan selama 7-14 hari.

Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna media O/F. Apabila warna hijau berubah menjadi kuning terjadi pada media yang ditambah dan tidak ditambah minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya, apabila terjadi perubahan warna hanya pada media yang tidak ditambah minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat oksidatif (Suharjo dkk., 2022).

### 3.3.5.6 Uji Casein

Uji casein bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein. Uji *casein* dilakukan menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA). Cara membuatnya adalah dengan mencampur 10 g bubuk Skim Milk dengan 100 mL akuades. Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose, lalu isolat bakteri digoreskan pada media *Skim Milk Agar* (SM Agar), diinkubasi pada suhu 28 °C selama 24-48 jam. Reaksi positif ditandai dengan adanya zona bening di sekitar goresan bakteri. Sebaliknya reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya zona bening di sekitar goresan bakteri (Fardiaz, 1992 dalam Prasojo, 2022).

### 3.3.5.7 Uji Floresensi pada Media King's B

Uji fluoresensi bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan fluoresen. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media King's B. Cara membuat media adalah dengan mencampurkan 20 g protease peptone, 1,5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,5 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 15 mL *glycerol*, 15 g agar, dan 1000 mL akuades. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dalam suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Setelah media King's B disiapkan lalu isolat bakteri pada media PPGA yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose menggunakan jarum ose lalu digoreskan secara zig-zag pada media King's B dan inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28 °C. Pengamatan dilakukan di bawah Sinar Ultraviolet (UV). Hasil positif ditunjukkan apabila terlihat adanya pendar pada koloni bakteri (Suharjo dkk., 2022).

### 3.3.5.8 Uji *Lechitinase*

Uji *lechitinase* bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menggunakan lechitin. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media berbahan dasar YPA dan *egg yolk*. Bahan yang digunakan untuk membuat media YPA antara lain yaitu 10 g pepton, 5 g yeast, 20 g agar, dan 1000 mL, akuades. Pengujian ini dilakukan dengan memasukkan 0,5 ml *egg yolk* ke dalam cawan petri setelah itu ditambahkan 10 mL media YPA kemudian dihomogenkan sampai

merata dan ditunggu sampai media menjadi dingin. Setelah itu diambil sebanyak satu ose isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam, lalu digoreskan pada media lechitinase. Kemudian bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C dan diamati selama 1-7 hari. Jika pada area goresan terdapat zona putih buram yang menyebar maka isolat tersebut menunjukkan *lechitinase* positif. Sebaliknya jika tidak menunjukkan zona putih buram maka isolat tersebut menunjukkan *lechitinase* negatif (Suharjo dkk., 2022).

#### **3.3.5.9 Uji Arginine dihydrolase (Moeller media)**

Uji *arginine dihydrolase* dilakukan untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Pengujian dilakukan menggunakan media moeller 21 g dan 1000 ml akuades, kemudian dihomogenkan. Setelah itu media dipanaskan menggunakan *microwave* dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu disterilkan menggunakan *autoclave*. Pengujian dilakukan dengan mengambil bakteri yang berumur 24 jam menggunakan jarum preparat kemudian ditusukkan pada media moeller hingga ke dasar tabung kemudian ditambahkan minyak parafin steril. Setelah itu media moeller diinkubasi pada suhu 28 °C dan dilakukan pengamatan selama 7-14 hari. Apabila terjadi perubahan warna pada media dari merah kecoklatan menjadi warna ungu maka reaksi tersebut menunjukkan reaksi positif. Sebaliknya apabila terjadi perubahan warna media menjadi warna kuning maka reaksi tersebut menunjukkan reaksi negatif (Suharjo dkk., 2022).

#### **3.3.5.10 Uji Kemampuan Tumbuh pada Suhu 39 °C dan 40 °C**

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dapat tumbuh pada suhu 39 °C dan suhu 40 °C. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media YP (*Yeast Peptone*) dengan bahan 10 g pepton, 5 g yeast, dan 1000 mL akuades. Selanjutnya diambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam kemudian disuspensikan ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang telah berisi air steril. Setelah itu suspensi diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media YP. Lalu bakteri diinkubasi di dalam



*waterbath* selama 3-7 hari yang dilakukan secara bergantian pada suhu 39 °C dan suhu 40 °C. Apabila terjadi perubahan warna media dari warna kuning menjadi putih keruh maka reaksi tersebut menandakan reaksi positif (Suharjo dkk., 2022).

#### **3.3.5.11 Uji Kemampuan Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik**

Media yang digunakan adalah media Ayer's. Cara membuat media tersebut adalah dengan mencampurkan 1 g  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , 0,2 g KCl, 0,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2% *Bromothymol Blue* (BTB) dan 1000 mL akuades. Bahan organik *Mannitol*, *Glycerol*, *Starch*, *D-raffinose*, *Lactose*, *D-melibiose*, *D-arabionose*, *Sodium L-glutamat*, *Myo-inositol*, *M-tartrate*, *Sorbic acid*, *5-ketogluconate*, *Innulin*, *Citric acid monohydrate*, *Tri sodium citrate dihydrate*, dan *D-tartrate* dimasukkan ke dalam botol kaca (volume 100 mL) berisi media Ayer's. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Satu ose isolat bakteri diambil dari media miring PPGA, disuspensi dengan 0,5 mL air steril dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL dan dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Jarum preparat dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, diinokulasi pada media Ayer's dengan cara jarum preparat ditusukkan sampai dasar tabung, diinkubasi pada suhu 28 °C selama 21 hari. Pengamatan dilakukan pada 2, 4, 7, 14 dan 21 hari terhadap perubahan warna media. Jika terjadi perubahan warna media dari warna asal, artinya bakteri mampu menggunakan bahan organik tersebut (Suharjo dkk., 2022).

#### **3.3.6 Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat**

Pengujian ini menggunakan media pikovskaya. Cara membuat media pikovskaya adalah dengan mencampurkan 31,3 g pikovskaya bubuk, 2 g agar batang, dan 1000 mL akuades di dalam erlenmeyer. Mulut erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Sterilisasi media menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Media dituang ke dalam cawan petri (Gambar 2). Setelah media siap, bakteri diinokulasikan dengan cara menggoreskan 1 ose bakteri pada cawan yang telah berisi media. Pengamatan dilakukan selama 7 hari dengan menghitung rerata luas

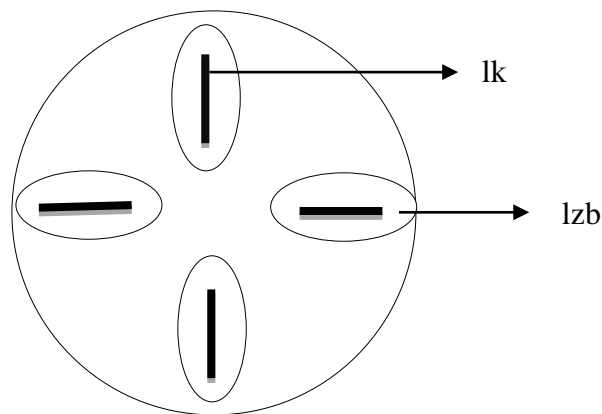
zona bening. Luasan zona bening dihitung dengan cara menggambar zona bening tersebut pada plastik transparan, kemudian dihitung luasannya menggunakan milimeter blok. Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat dapat diketahui dengan menghitung nilai indeks pelarut fosfat. Nilai indeks pelarut fosfat (*Solubilization index* = SI) dihitung dengan rumus (Karpagam and Nagalakshmi, 2014):

$$SI = \frac{lk + lzb}{lk}$$

lk = Luas koloni bakteri;

lzb = Luas zona bening

Nilai indeks pelarut fosfat (Matos *et al.*, 2017): >3 = Tinggi; >2-3 = Sedang; >1-2 = Rendah; >0-1 = Sangat Rendah.



Gambar 2. Skema uji pelarut fosfat isolat bakteri. Luas koloni (lk), luas zona bening (lzb).

### 3.3.7 Identifikasi molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan terhadap isolat bakteri terpilih yang memiliki kemampuan antagonis terbesar. Identifikasi molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis, visualisasi hasil PCR, sekuensing DNA, dan analisis hasil.

### 3.3.7.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan secara manual. Bakteri yang berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose dari media PPGA dan dipindahkan ke dalam tabung yang sudah berisi media *Yeast Peptone Broth* dan diinkubasi selama 24 jam di dalam *shaker* dengan kecepatan 180 rpm. Kemudian media *Yeast Peptone Broth* dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus kemudian sentrifus pada 14.000 rpm selama 1 menit dan diulang sampai media *Yeast Peptone Broth* habis. Setelah itu ditambah 567  $\mu\text{L}$  TE menggunakan mikropipet, selanjutnya ditambah 30  $\mu\text{L}$  SDS 10% + 3  $\mu\text{L}$  proteinase k dan dihomogenkan. Tube yang sudah berisi bakteri diinkubasi di dalam *waterbath* pada suhu 37 °C selama 1 jam dan ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  NaCl 5M, lalu dihomogenkan secara perlahan. Kemudian ditambah 80  $\mu\text{L}$  CTAB 2%. Diinkubasi kembali pada suhu 65 °C selama 10 menit di dalam *waterbath*, setelah diinkubasi, selanjutnya ditambahkan 720  $\mu\text{L}$  *Chloroform Isoamylalcohol* (CI) (24:1) dan dihomogenkan dengan kuat menggunakan tangan dan disentrifus 14.000 rpm selama 5 menit.

Sebanyak 600  $\mu\text{L}$  supernatant diambil dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL yang baru, kemudian ditambah *Phenol Chloroform Isoamylalcohol* (PCI) (25:24:1) dengan volume yang sama dengan supernatant, lalu dihomogenkan dengan kuat menggunakan tangan dan disentrifus 14.000 rpm selama 15 menit. Setelah sentrifus selesai, supernatant dibuang dan ditambahkan ethanol 70% dingin sebanyak 400  $\mu\text{L}$ , lalu disentrifus kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah itu ethanol dibuang dan pellet diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering tube berisi pellet ditambahkan 20  $\mu\text{L}$  TE. Untuk mengidentifikasi ada tidaknya DNA dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digidoc Imaging System*.

### 3.3.7.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan mesin PCR dengan cara memasukkan *Master Mix (Red Mix)* sebanyak 12,5  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung *ependorf* 100  $\mu\text{L}$ , lalu ditambahkan primer fD1 dan rP2 masing-masing sebanyak 1  $\mu\text{L}$ , larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1  $\mu\text{L}$  dan akuades steril 9,5  $\mu\text{L}$ . Larutan yang sudah dibuat

selanjutnya diamplifikasi menggunakan mesin PCR, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahapan inisiasi merupakan tahapan yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit dan hanya satu siklus, dilanjutkan dengan tiga puluh siklus tahap denaturasi pada 95 °C selama 1 menit, selanjutnya yaitu annealing pada suhu 55 °C selama 1 menit, dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit serta tahap terakhir yaitu elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit dalam 1 siklus (Suharjo *et al.*, 2014 dalam Prasojo, 2022).

### **3.3.7.3 Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR**

Elektroforesis dilakukan dengan pembuatan *gel agarose* 0,5% yang sudah ditambah 1 µL *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/mL), setelah itu dituangkan pada cetakan gel 20x16x1 cm<sup>3</sup> dengan sisir. *Gel agarose* dimasukkan ke dalam alat elektroforesis yang berisi larutan TBE. Pada sumur berikutnya diisi oleh 1 µL hasil PCR yang sudah dihomogenkan dengan 1 µL *loading dye*, selanjutnya dilakukan elektroforesis selama 45-70 menit dengan tegangan 50 volt. Hasil PCR ditunggu hingga DNA bergerak kebawah hingga di tengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis dapat dilihat dengan *digidoc imaging system* yang hasilnya disimpan dalam computer dan keberadaan profil DNA antar lokus gen dapat terlihat berupa pita terang (Oktaviana, 2018 dalam Prasojo, 2022).

### **3.3.7.4 Sekuensing dan analisis hasilnya**

Hasil PCR dikemas menggunakan kardus yang telah dilengkapi *bubble wrap*. Setelah itu, hasil PCR tersebut dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk dilakukan sekuensing. Hasil sekuensing yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat tiga isolat bakteri endofit yang berperan sebagai antagonis *P. aroidearum* yaitu BB22(1) (diisolasi dari batang), BA22(2) (diisolasi dari akar), dan SA22(3) (diisolasi dari akar).
2. Terdapat satu isolat bakteri endofit yang berperan sebagai antagonis *D. oryzae* yaitu SB12(2) (diisolasi dari batang).
3. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa identitas bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap *P. aroidearum* adalah *Pseudomonas aeruginosa* (isolat BB22(1)), sedangkan bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap *D. oryzae* adalah *Pseudomonas* sp. (isolat SB12(2)).

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kemampuan bakteri antagonis untuk pengendalian *P. aroidearum* dan *D. oryzae* secara *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., and Gupta, R.S. 2016. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66:5575-5599.
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., and Shahzad, S. 2019. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*. 221: 36-49.
- Agustiani, R. 2020. Karakterisasi dan Uji Potensi *Paenibacillus* sp. sebagai Agensia Hayati *Dickeya* sp. Penyebab Penyakit Busuk Batang Jagung. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 55 hlm.
- Andriani, D. dan Oktafianto, M. F. 2019. Potensi bakteri endofit pada tanaman paitan *Titonia deversifolia* sebagai biofertilizer dan biopestisida. *Jurnal Agronomi Tanaman Tropika*. 1(2): 84-90.
- Antonius, S., Nurlaili, Y., dan Nurkanto, D.A.A. 2009. Eksplorasi dan Penapisan Mikroba dari Malinau sebagai Agen Hayati Pendukung Pertanian yang Berkelanjutan. In *Proseding Lingkungan Hidup, Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV UIN*. hlm 347-357.
- Baroroh, H.F., Aini, L.Q., dan Abadi, A.L. 2014. Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap blood disease bacterium. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2(2): 87-97.
- Chandra, T. J. and Mani, S. 2011. A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. *Journal Medicine Allied Science*. 1(2): 84-85.
- Danaatmadja, Y., Siti, S., Joko, T., dan Sari, C.U. 2009. Isolasi dan Karakterisasi *Ralstonia syzygii*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(1):7-12.

- Essarts, Y.R. D., Cigna, J., Laurent, A. Q., Caron, A., Munier, E., Cirou, B. A., Helias, V., and Faure, D. 2016. Biocontrol of the Potato and Soft Rot Disease Caused by *Dickeya dianthicola*. *Applied and Environmental Microbiology*. 82(1): 268-278.
- Esselman, M. T. and Liu, P. V. 1961. Lecithinase production by gram negative bacteria. *Journal of Bacteriology*. 81(6): 939-945.
- Ester, S.R., Mukarlina, dan Rahmawati. 2022. Bakteri asam asetat yang diisolasi dari cuka daging buah pisang mas. *Jurnal Biologica Samudra*. 4(2): 76-87.
- Fajarfika, R., Hilmany, T., Nafi'ah, H.H., Sativa, N., dan Supriatna, J. 2022. The isolation of *Pseudomonas* sp. for biological control of bacterial wilt. *Jurnal of Agrotecnology and Science*. 6(2): 106-114.
- Fatoni, A., Zufahair, dan Lestari, P. 2008. Isolasi dan karakterisasi protease ekstraseluler dari bakteri dalam limbah cair tahu. *Jurnal Natur Indonesia*. 10(2): 83-88.
- Fauziyah, Q., Ramdan, E.P., dan Yukti, A.M. 2022. Deteksi bakteri patogen terbawa benih kedelai dengan metode liquid assay. *Jurnal Agronida*. 8(1): 9-15.
- Fitra, S. 2018. *Ruwetnya Data Jagung Kementan yang Memantik Efek Berantai*. [katadata.co.id/amalhadian/indepth/5e9a55983f397/ruwetnya-data-jagung-kementan-yang-memantik-efek-berantai](http://katadata.co.id/amalhadian/indepth/5e9a55983f397/ruwetnya-data-jagung-kementan-yang-memantik-efek-berantai). Diakses pada 06/11/2022.
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., Hannukkala, A., Wolf, J.F., Nissinen, R., and Pirhonen, M. 2019. Biological control of potato soft rot caused by *Dickeya solani* and the survival of bacterial antagonists under cold storage conditions. *Plant Pathology*. 68: 297-311.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffe, W.F., and Kloepper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crop. *Canadian Journal of Microbiology*. 43: 895-914.
- Hallmann, J. 2001. *Plant Interaction with Endophytic Bacteria*. Institut for Plant Disease. University of Bonn Nuballe 9, 53115 Bonn. Germany. 119 hlm.
- Handoko, Y.A., Kristiawan, Y.A., dan Agus, Y.H. 2020. Isolasi dan karakterisasi Biokimia bakteri pembusuk buah cabai rawit. *Jurnal Teknologi Pangan*. 11(1):34-41.
- Hofte, M., Seong, K.Y., Jurkevilch, E., and Verstraete, W. 1991. Pyoverdinin production by the plant growth promoting *Pseudomonas* strain 7NSK2: ecological significance in soil. *Kluwer Academic Publishers: Plant and Soil*. 130: 249-258.

- Hong, C.E. and Park, J.M. 2016. Endophytic bacteria as biocontrol agents against plant pathogens: current state-of-the-art. *Plant Biotechnology Reports*. 10(6): 353- 357.
- Hu, X., Fang, Q., Li, S., Wu, J., and Chen, J. 2009. Isolation and characterization of endophytic and rhizosphere bacterial antagonists of soft rot pathogen from *Pinellia ternata*. *FEMS Microbiology Letters*. 295(1): 10-16.
- Karpagam, T. and Nagalakshmi, P.K. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(3): 601-614.
- Khan A.A, Jilani G, Akhtar M.S, Naqvi S.M.S, and Rasheed M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 1(1): 48-58.
- Kosim, N. 2017. *Jagung Berjuta Manfaat*. Universitas Riau. Pekanbaru. 86 hlm.
- Kumar, A., Hunjan, M.S. , Kaur, H., and Singh, P.P. 2015. Characterization of *Dickeya zea* isolates causing stalk rot of maize based on biochemical assays and antibiotic sensitivity. *Indian Phytopathology*. 68(4): 375-379.
- Kumar, A. M. S., Hunjan, H., Kaur, P. P., Singh and Kaur, R. 2016. Evaluation of management of bacterial stalk rot of maize (*Dickeya zea*) using bioagents and chemical agents. *Journal of Applied and Natrual Science*. 8(3): 1146-1151.
- Kumar, A., Hunjan, M. S., Kaur, H., Rawal, R., Kumar, A., and Singh, P.P. 2017a. A review on bacterial stalk rot disease of maize caused by *Dickeya zea*. *Journal of Applied and Natural Science*. 9(2): 1214-1225.
- Kumar, A., Hunjan, M.S., Kaur, H., Dhillon, H.K., and Singh, P.P. 2017b. Biochemical responses associated with resistance to bacterial stalk rot caused by *Dickeya zea* in maize. *Journal of Phytopathology*. 165(11-12): 822-832.
- Lestari, P.B. 2016. Biodegradasi limbah cair tahu dari mikroorganismen indigen sebagai bahan ajar mikrobiologi lingkungan di perguruan tinggi. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*. 2(1): 84-94.
- Matos, A. D. M., Gomes, I. C. P., Nietzsche, S., Xavier, A. A., Gomes, W. S., Neto, J. A. D. S., and Pereira, M.C.T. 2017. Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees. *Journal Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 89(4): 2945-2954.
- McManus, P.S., Stockwell, V.O., Sundin, G.W., and Jones, A.L. 2002. Antibiotic use in plant agriculture. *Annual Review of Phytopathology*. 40: 443-465.



- Nabhan, S., de Boer, S. H., Maiss, E., and Wydra, K. 2013. *Pectobacterium aroidearum* sp. nov., a soft rot pathogen with preference for monocotyledonous plants. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*. 63: 2520–2525.
- Nelly, N. 2002. *Hama Utama pada Tanaman Jagung dan Eksplorasi Teknik Pengendalian*. Nas Media Pustaka. Jakarta. 108 hlm.
- Oerke, E.C. 2006. Centenary review: crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*. 144: 31-43.
- Pattat, N.H.C. and Gijsegem, F. V. 2021. Diversity within the *Dickeya zea* complex, identification of *Dickeya zea* and *Dickeya oryzae* members, proposal of the novel species *Dickeya parazeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Microbiology Society*. 71(11): 1-25.
- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the Ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining gram reaction of foodborne and waterborne bacteria and yeast. *Applied Environment Microbiology*. 61(10): 3756-3758.
- Prasojo, U.B. 2022. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Tanaman Cocor Bebek (*Kalanchoe* spp.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 48 hlm.
- Ranum, P., Pena-Rosas J.P., and Garcia-Casal, M.N. 2014. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of The New York Academy of Science*. 1312: 105-112.
- Rao, N.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. UI Press. Jakarta. 353 hlm.
- Rochani, S. 2007. *Bercocok Tanam Jagung*. Azka Press. Jakarta. 60 hlm.
- Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Saux, M.F., Achouak, W., and Gardan, L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zea* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 1415-1427.
- Saraswati, L. 2021. Karakterisasi dan Potensi Bakteri yang Berasosiasi dengan Artropoda pada Pertanaman Jagung sebagai Pengendali Hayati *Dickeya zea*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 61 hlm.

- Saraswati, R. dan Sumarno. 2008. Pemanfaatan mikroba penyubur tanah sebagai komponen teknologi pertanian. *Iptek Tanaman Pangan*. 3(1): 41-58.
- Schaad, N.W.J.B, Jonesand, W., and Chun. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Third Edition. APS Press. Amerika. 373 hlm.
- Sembiring, L.J. 2022. *RI Impor Jagung 995 Ribu Ton dari Thailand Sampai Argentina*. <https://www.cnbcindonesia.com/news/20220307134657-4-320616/ri-impor-jagung-995-ribu-ton-dari-thailand-sampai-argentina>. Diakses pada 29/11/2022.
- Serdani, A. D., Aini, L.Q., dan Abadi, A.L. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari tanaman padi (*Oryza sativa*) sebagai pengendalian penyakit hawar daun bakteri akibat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Journal Viabel Pertanian*. 12(1):18-26.
- Silitonga, D. M., Priyani, N., dan Nurwahyuni, I. 2013. Isolasi dan uji potensi isolat bakteri pelarut fosfat dan bakteri penghasil hormon IAA (*indole acetic acid*) terhadap pertumbuhan kedelai (*Glycine max* L.) pada tanah kuning. *Saintia Biologi*. 1(2):35-41.
- Soegiharto, S. 2011. *Jagung Bahan Pangan Alternatif*. Direktorat Jenderal Pendidikan Anak Usia Dini dan Pendidikan Masyarakat. Jakarta. 26 hlm.
- Soerjandono, N.B. 2008. Teknik produksi jagung anjuran di lokasi prima tani kabupaten sumenep. *Buletin Teknik Pertanian*. 13(1): 27-29.
- Sturz, A.V., Christie, B.R., Matheson, B.G., Arsenault, W.J., and Buchanan, N.A. 1999. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. *Plant Pathology*. 48: 360–369.
- Subekti, N.A. and Salazar, A.M. 2007. Diallel analysis of resistance to bacterial stalk rot (*Pectobacterium chrysanthemi* pv. *zear* Burk., McFad. and Dim.) in corn (*Zea mays* L.). *Indonesian Journal of Agricultural Science*. 8(2): 48-52.
- Sudjono, M.S. 1988. *Penyakit Jagung dan Pengendaliannya*. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Bogor. 28 hlm.
- Suharjo, R., Fitriana, Y., dan Lestari, P. 2022. *Prosedur Isolasi dan Karakterisasi Biokimia Spesies Dickeya*. Pusaka Media. Bandar Lampung. 75 hlm.
- Supriyanto. 2009. Penapisan PGPF untuk pengendalian penyakit busuk lunak lidah buaya (*Aloe vera*) di tanah gambut. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15 (2): 71-82.

- Supriyanto, A., Priyatmojo, dan Arwiyanto, T. 2011. Uji penggabungan PGPF dan *Pseudomonas putida* strain PF-20 dalam pengendalian hayati penyakit busuk lunak lidah buaya di tanah gambut. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 11(1): 11-21.
- Suriani, S., Soemarno, dan Suharjo. 2013. Pengaruh suhu dan pH terhadap laju pertumbuhan lima isolat bakteri anggota genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari ekosistem sungai tercemar deterjen di sekitar kampus Universitas Brawijaya. *Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari*. 3(2):58-62.
- Surtikanti. 2011. *Hama dan Penyakit Tanaman Jagung dan Pengendaliannya*. Seminar Nasional Serelia. Balai Penelitian. Bogor.
- Temaja, I.G.R.M., Wirya, G.N.A.S., Puspawati, N.M. , dan Syahdu, K.N. 2017. Penyakit layu bakteri stewart pada jagung di Bali. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13(5): 184-190.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2020. Plants Database. <https://plants.usda.gov/>. Diakses pada 06/11/2022.
- Usman, S. W. 2015. Bakteri Asosiasi Karang yang Terinfeksi Penyakit Brown Band (Brb) di Perairan Pulau Barranglompo Kota Makassar. *Skripsi*. Universitas Hassanudin. Makassar. 70 hlm.
- Yulianti, T. 2009. Pengelolaan patogen tular tanah untuk mengembalikan kejayaan tembakau temanggung di Kabupaten Temanggung. *Jurnal Perspektif*. 8(1):1-16.
- Yuniartha, L. dan Laoli, N. 2020. *Ada impor jagung hampir 1 juta ton, begini penjelasan Kementan*. <https://industri.kontan.co.id/news/ada-impor-jagung-hampir-1-juta-ton-begini-penjelasan-kementan>. Diakses pada 29/11/2022.