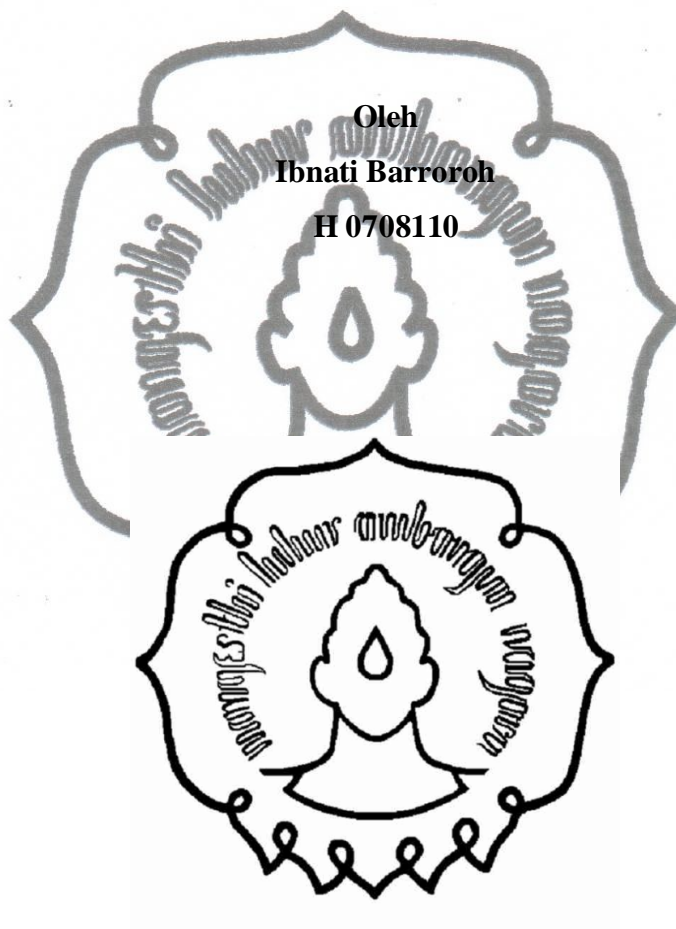


SKRIPSI

**PEMANFAATAN BAKTERIOFAGE SEBAGAI AGENS
PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA KUBIS**

Oleh
Ibnati Barroroh
H 0708110



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2012**

commit to user

**PEMANFAATAN BAKTERIOFAGE SEBAGAI AGENS
PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA KUBIS**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian
di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret**



**Oleh
Ibnati Barroroh
H 0708110**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2012**

commit to user

SKRIPSI

**PEMANFAATAN BAKTERIOFAGE SEBAGAI AGEN
PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA KUBIS**

Ibnati Barroroh
H 0708110

Pembimbing Utama



Dr. Ir. Supyani, MP.
NIP. 196610161993021001

Pembimbing Pendamping



Ir. Sri Widadi, MP
NIP. 195208231976112001

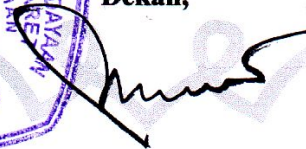
Surakarta, Oktober 2012

Mengetahui

Universitas Sebelas Maret

Fakultas Pertanian

Dekan,



Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, M.S
NIP. 19560225 198601 1 001

SKRIPSI

**PEMANFAATAN BAKTERIOFAGE SEBAGAI AGEN
PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA KUBIS**

**yang dipersiapkan dan disusun oleh
Ibnati Barroroh
H 0708110**

**telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal : 18 Oktober 2012
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian
Program Studi Agroteknologi**

Susunan Tim Penguji

Ketua



Dr. Ir. Supyani, MP.
NIP. 196610161993021001

Anggota I



Ir. Sri Widadi, MP.
NIP. 195208231976112001

Anggota II



Salim Widono, SP, MP.
NIP. 196707181994121001

KATA PENGANTAR

Alkhamdulihi rabbilalamin puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pemanfaatan Bakteriofage Sebagai Agen Pengendalian Hayati Busuk Hitam Pada Kubis”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar sarjana di Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, MS. selaku Dekan Fakultas Pertanian UNS.
2. Dr. Ir. Hadiwiyono, MSi selaku Ketua Jurusan Program Studi Agronomi.
3. Salim Widono, SP, MP selaku Pembimbing Akademik atas waktu dan bimbingan yang diberikan.
4. Dr. Ir. Supiyani, MP selaku Pembimbing Utama atas dorongan, semangat, waktu, ilmu, dan bimbingan yang diberikan.
5. Ir. Sri Widadi, MP. selaku Pembimbing Pendamping atas dorongan, semangat, waktu, ilmu, dan bimbingan yang diberikan.
6. Bapak dan Ibu yang senantiasa mendoakan dan memberi semangat
7. Calon suamiku yang senantiasa menemani dalam pelaksanaan penelitian ini
8. Teman-teman Agroteknologi 2008 “Solmated” yang telah membantu, memberikan semangat, dan dukungannya.
9. Temen-temen kost “Soka Merah” atas bantuan, doa dan dukungannya.
10. Teman-teman tim penelitian bakteriofage yang senantiasa mendukung dalam kelancaran penelitian ini
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, atas segala bantuan baik langsung maupun tidak langsung, kritik, saran, dan dorongan demi kelancaran penyusunan skripsi ini.

commit to user

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak. Segala kritik dan saran sangat penulis harapkan demi perbaikan skripsi ini.

Surakarta, Oktober 2012

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
RINGKASAN.....	xi
SUMMARY.....	xii
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Kubis.....	4
B. Pathogen <i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i>	5
C. Busuk Hitam Kubis.	6
D. Bakteriofage	7
E. Intensitas Penyakit.....	11
F. Hipotesis	12
III. METODE PENELITIAN.....	13
A. Tempat dan Waktu Penelitian	13
B. Bahan dan Alat.....	13
C. Cara Kerja Penelitian.....	14
D. Variabel Penelitian.....	17
E. Analisis Data	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
A. Kondisi Umum Penelitian	20
B. Jumlah Plak Yang Muncul.....	20
C. Saat Pertama Muncul Gejala	22

D. Intensitas Penyakit	23
1. Insiden Penyakit.....	23
2. Keparahan Penyakit.....	25
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
A. Kesimpulan	27
B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN.....	31



DAFTAR TABEL

Nomor	Judul dalam Teks	Halaman
1.	Jumlah plak yang muncul dalam uji plak	20
2.	Saat pertama munculnya gejala busuk hitam kubis.....	22

Judul dalam Lampiran

3.	Analisis ragam pengaruh pemberian bakteriofage terhadap insiden penyakit busuk hitam kubis.....	31
4.	Analisis ragam pengaruh pemberian bakteriofage terhadap keparahan penyakit busuk hitam kubis.....	31
5.	Hasil uji DMRT nilai keparahan penyakit.....	32
6.	Hasil uji DMRT nilai insiden penyakit.....	32

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul dalam Teks	Halaman
1.	Pengaruh pemberian bakteriofage pada tanaman kubis terhadap insiden penyakit busuk hitam kubis.....	23
2.	Pengaruh pemberian bakteriofage pada tanaman kubis terhadap keparahan penyakit busuk hitam kubis.....	25
	Judul dalam Lampiran	
3.	Isolat <i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i>	33
4.	Sample busuk hitam kubis.....	33
5.	Penggojogan media YPG cair pada suhu ruang.....	33
6.	Hasil uji plak pada media YPG padat.....	34
7.	Penanaman kubis pada lahan penelitian di Tawangmangu.....	34
8.	Aplikasi penyemprotan bakteriofage di lapang.....	34
9.	Gejala serangan penyakit busuk hitam kubis.....	35

RINGKASAN

PEMANFAATAN BAKTERIOFAGE SEBAGAI AGEN PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA KUBIS. Skripsi : Ibnati Barroroh (H0708110). Pembimbing: Supiyani, Sri Widadi, Salim Widono, Program Studi: Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta.

Kubis merupakan salah satu sayuran yang berprospek untuk dibudidayakan khususnya di daerah dataran tinggi Dieng. Dalam budidaya kubis salah satu penyakit yang cukup merugikan petani adalah penyakit busuk hitam kubis yang disebabkan oleh patogen *Xanthomonas campestris pv campestris*. *X. campestris pv campestris* menyebabkan busuk pada daun dan batang pada kubis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas bakteriofage asal Dieng dalam mengendalikan busuk hitam kubis.

Penelitian ini dilaksanakan mulai Maret 2012 sampai Agustus 2012 di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian dan di Kebun Benih Hortikultura Dinas Karanganyar di Tawangmangu. Design perlakuan di lapang disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap dengan 6 kali ulangan. Perlakuan di lapang terdiri dari penyemprotan bakteriofage pada permukaan daun yang diisolasi dari daun, akar, dan tanah sekitar tanaman kubis yang sakit.. Variabel pengamatan meliputi jumlah plak yang muncul dihitung dari jumlah zona bening yang muncul pada media, saat awal muncul gejala dihitung setelah aplikasi bakteriofage. Insiden penyakit dihitung dengan menghitung jumlah daun yang sakit kemudian dibagi jumlah sampel daun yang diamati dalam satu tanaman dikalikan 100%. Keparahan penyakit dihitung berdasarkan persentase luasnya jaringan tanaman yang terserang patogen dari total luasan yang diamati dengan menggunakan skor serangan. Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan uji Duncan taraf 5%.

Hasil penelitian di Laboratorium menunjukan bahwa bakteriofage dapat diisolasi dari daun, akar, dan tanah sekitar tanaman kubis yang sakit. Sedangkan pada penelitian di lapang menunjukan bahwa penyemprotan bakteriofage pada permukaan daun kubis dapat memperlambat awal munculnya gejala pertama busuk hitam kubis. Penyemprotan bakteriofage efektif dalam menurunkan insiden penyakit dan keparahan penyakit busuk hitam kubis.

SUMMARY

THE USING OF BACTERIOFAGE AS BIOLOGICAL CONTROL AGENT OF BLACK ROT CABBAGE. Skripsi : Ibnati Barroroh (H0708110). Supervisor: Supiyani, Sri Widadi, Salim Widono, program of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Sebelas Maret Surakarta.

Cabbage is one of vegetables which has good prospect to be developed especially in Dieng Plateau. Black rot cabbage is quite harm in cabbage cultivation, it is caused by pathogen *Xanthomonas campestris pv campestris* which breaks leaves and stem of cabbage. This research is aimed to analyze the affectivity of Dieng bacteriophage in controlling black rot cabbage .

This experiment was conducted from March 2012 to August 2012 in the Laboratory of Plant Pests and Diseases in the Faculty of Agriculture and Seed Gardens in Tawangmangu Hortikultuta Karanganyar Department. The Design of field research is arranged based on random sampling with six times of repetition. Treatment consists of spraying of bacteriophage from diseased, spraying of bacteriophage from diseased root, and spraying of bacteriophage the soil around the sick plants. Observation variable includes the number of plaque appearing is calculated from transparent zone which appears in medium. At the beginning of symptom, it is calculated after spraying of bacteriophage. The disease is known through counting the number of the diseased leaves, and then it is divided by the number of sample which is observed and it multiplies by 100%. The Severity of diseased was calculated based on the percentage of the extent of pathogen infected plant tissue of the total area observed by using a score attack. The obtained data were analyzed by Duncan test level 5%.

The result of laboratory research shows that bacteriophage can be found in leave, root and soil in the cabbage which is infected by black rot cabbage. Whereas, in the field research shows that after spraying of bacteriophage can decelerate the appearing of first symptom of black rot cabbage. Spraying of bacteriophage is effective in reducing incident and severity of disease of black rot cabbage.

PEMANFAATAN BAKTERIOFAGE SEBAGAI AGENS PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA KUBIS¹⁾

Ibnati Barroroh²⁾, Supyani³⁾, Sri Widadi³⁾

ABSTRAK

Dalam budidaya kubis salah satu penyakit yang cukup merugikan petani adalah penyakit busuk hitam kubis yang disebabkan oleh pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, yang menyebabkan busuk pada daun dan batang pada kubis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas bakteriofage asal Dieng dalam mengendalikan busuk hitam kubis. Design perlakuan di lapang disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap dengan 6 kali ulangan. Perlakuan di lapang terdiri dari penyemprotan bakteriofage pada permukaan daun yang diisolasi dari daun, akar, dan tanah sekitar tanaman kubis yang sakit. Variabel pengamatan meliputi jumlah plak yang muncul, saat awal muncul gejala, insiden penyakit, keparahan penyakit. Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan uji Duncan taraf 5%. Hasil penelitian di Laboratorium menunjukan bahwa bakteriofage dapat diisolasi dari daun, akar, dan tanah sekitar tanaman kubis yang sakit. Sedangkan pada penelitian di lapang menunjukan bahwa penyemprotan bakteriofage pada permukaan daun kubis dapat memperlambat awal munculnya gejala pertama busuk hitam kubis. Penyemprotan bakteriofage efektif dalam menurunkan insiden penyakit dan keparahan penyakit busuk hitam kubis.

Kata kunci : busuk hitam kubis, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, bakteriofage

1) Makalah disampaikan pada Seminar Hasil Penelitian tingkat Sarjana Fakultas Pertanian UNS Surakarta

2) Peneliti adalah mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian UNS Surakarta

3) Pembimbing Utama dan Pembimbing Pendamping dari peneliti

THE USING OF BACTERIOFAGE AS BIOLOGICAL CONTROL AGENTS OF BLACK ROT CABBAGE¹⁾

Ibnati Barroroh²⁾, Supyani³⁾, Sri Widadi³⁾

ABSTRACT

In cabbage cultivation of one of the diseases that are quite detrimental to farmers cabbage black rot disease caused by the pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, which causes rot on the leaves and stems of the cabbage. This study aims to analyze the effectiveness of bacteriophage origin Dieng in controlling black rot of cabbage. The Design of field research is arranged based on random sampling with six times of repetition. Treatment consists of spraying of bacteriophage from diseased, spraying of bacteriophage from diseased root, and spraying of bacteriophage the soil around the sick plants. Observation variable includes the number of plaque appearing, at the beginning of symptom disease, and severity of diseased. The obtained data were analyzed by Duncan test level 5%. The result of laboratory research shows that bacteriophage can be found in leave, root and soil in the cabbage which is infected by black rot cabbage. Whereas, in the field research shows that after spraying of bacteriophage can decelerate the appearing of first symptom of black rot cabbage. Spraying of bacteriophage is effective in reducing incident and severity of disease of black rot cabbage.

Key words : black rot disease, bacteriophage, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

-
- 1) Present at result seminar of research S1 grading Faculty of Agriculture University of Sebelas Maret (UNS) Surakarta
 - 2) Student of Study Program Agrotechnology Faculty of Agriculture University of Sebelas Maret (UNS) Surakarta
 - 3) Student of Advisor major and minor



I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kubis adalah salah satu jenis sayuran yang mudah dijumpai di Indonesia. Kubis memiliki nama ilmiah *Brassica oleracea L.* Di Indonesia, kubis sering juga disebut sebagai kol. Di Indonesia kubis yang banyak dibudidayakan adalah kubis yang jenis bulat dan gepeng berwarna putih, memiliki kandungan vitamin dan mineral yang cukup banyak seperti vitamin A, B, C, E, kalium, kalsium, fosfor dan zat besi serta dapat menangkal radikal bebas sehingga sangat penting untuk dikonsumsi (Rukmana, 1994).

Kebutuhan masyarakat terhadap kubis akan terus meningkat seiring dengan pertambahan jumlah penduduk dan daya belinya. Kubis tidak dapat dilepaskan dari berbagai hidangan kuliner yang ada di Indonesia. Hampir semuanya menggunakan kubis sebagai bahan bakunya, seperti salad, mie jawa, gado-gado dan lainnya. Dengan semakin berkembangnya industri makanan, maka akan terkait pula peningkatan kebutuhan terhadap kubis yang berperan sebagai salah satu bahan pembantunya. Agar kebutuhannya terhadap kubis selalu terpenuhi maka harus diimbangi dengan jumlah produksinya (Wiki, 2010).

Produktivitas kubis pada provinsi Jawa Tengah dari tahun 2006 sampai 2012 sebanyak 305.253 ton/tahun, 306.394 ton/tahun, 370.246 ton/tahun, 348.616 ton/tahun, dan 383.686 ton/tahun (Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura, 2011). Berdasarkan data di atas dapat dilihat adanya penurunan produksi kubis pada tahun 2009 dan 2010. Penurunan produksi kubis salah satunya dapat disebabkan oleh serangan patogen penyebab penyakit.

Busuk hitam dianggap penyakit yang penting pada kubis dan sayur-sayuran lainnya, karena infeksi *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* menyebar dengan cepat dan dapat mendatangkan kerugian lebih dari 50 % pada iklim yang basah dan hangat (Wiki, 2010).

Kubis dapat terserang busuk hitam pada setiap tahap pertumbuhan. Pada pembibitan, infeksi yang pertama kali muncul yaitu kotiledon menjadi hitam. Bibit yang terserang patogen akan berwarna kuning sampai coklat, layu, dan mati.

Pada tanaman yang memasuki pertumbuhan vegetatif lanjut akan menunjukkan gejala kerdil, layu, dan daun yang terinfeksi berbentuk seperti huruf V. Wilayah V ini kemudian membesar dan menuju dasar daun, berwarna kuning sampai coklat, dan kering. Gejala ini dapat muncul pada daun, batang, akar, dan berubah menjadi hitam akibat patogen yang berkembang biak. Daun muda yang terinfeksi mengalami pertumbuhan yang terhambat, warna kuning sampai coklat, layu, dan mati sebelum waktunya (Soeroto, 1994).

Berbagai upaya untuk mengendalikan busuk hitam kubis telah banyak dilakukan, tetapi penyakit ini masih menjadi kendala produksi kubis. Upaya yang telah dilakukan diantaranya dengan penggunaan bakterisida, akan tetapi penggunaan bakterisida tersebut menimbulkan dampak negatif berupa kerusakan agroekosistem, meningkatnya resistensi Organisme Pengganggu Tanaman (OPT), keracunan pada konsumen, dan kerusakan ekosistem yang lebih besar lagi.

Ada berbagai jenis musuh alami yang dapat digunakan dalam mengendalikan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) seperti kelompok serangga, cendawan, bakteri dan virus. Untuk saat ini virus masih sedikit digunakan dalam pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) di Indonesia. Bakteriofage adalah virus yang sel inangnya berupa bakteri. Sel bakteri digunakan sebagai tempat perbanyakan partikel virus tersebut, sehingga sel bakteri akan lisis seiring dengan perkembangan partikel bakteriofage di dalam sel bakteri. Sistem kerja dari bakteriofage dalam menginfeksi inangnya adalah dengan menginjeksi seluruh isi DNA yang berada di kepala ke dalam sel bakteri. Jenis infeksi bakteriofage terdiri dari dua macam yaitu litik dan lisogenik. Infeksi yang bersifat litik mengakibatkan matinya sel inang. Adapun infeksi yang sifatnya lisogenik dicirikan dengan sel inang tidak sampai lisis atau mati. Seluruh unit yang bersifat infeksius ini disebut dengan virion. (Agrios, 1988)

Berdasarkan masalah tersebut maka perlu dilakukan penelitian aplikasi bakteriofage pada tanaman kubis guna menghambat perkembangan penyakit busuk hitam kubis yang disebabkan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

B. Perumusan Masalah

Busuk hitam merupakan salah satu penyakit penting pada kubis yang perlu untuk dikendalikan. Penyakit ini disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Pengendalian dengan bakterisida telah banyak digunakan, namun belum mampu menurunkan serangan patogen justru menimbulkan masalah baru seperti terjadinya resistensi patogen *X. campestris* pv. *Campestris* dan mencemari lingkungan.

Penerapan metode pengendalian hayati patogen tumbuhan mempunyai keuntungan dibanding dengan metode lain. Keuntungan tersebut antara lain dapat mengurangi timbulnya resistensi patogen terhadap pestisida tertentu, tidak mencemari lingkungan, dapat mempertahankan keseimbangan biologi dan dalam satu kali aplikasi mempunyai efek yang lebih lama (Cook dan Baker, 1983).

Berdasarkan permasalahan yang ada maka perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan bakteriofage sebagai agen pengendalian hayati busuk hitam pada kubis.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengevaluasi aplikasi bakteriofage dalam menghambat infeksi *X. campestris* pv. *campestris* pada kubis
2. Mempelajari efektivitas bakteriofage yang diisolasi dari masing-masing bagian tanaman kubis yang terinfeksi busuk hitam kubis dalam mengendalikan busuk hitam kubis.

D. Manfaat Penelitian

1. Sebagai salah satu alternatif pengendalian hayati pada busuk hitam kubis di Indonesia pada khususnya.
2. Sebagai referensi untuk penelitian bakteriofage selanjutnya di Indonesia.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kubis (*Brassica oleracea*)

Berdasarkan klasifikasinya, kol/kubis termasuk dalam :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Klas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Cruciales
Famili	: Cruciferae
Genus	: Brassica
Spesies	: <i>Brassica oleracea</i> (Cahyono 1995).

Kubis merupakan tanaman sayuran yang di Indonesia banyak ditanam di daerah pegunungan, dengan ketinggian ± 800 m di atas permukaan laut (dpl) dan mempunyai penyebaran hujan yang cukup setiap tahunnya. Sebagian kubis tumbuh baik pada ketinggian 100-200 m dpl, tetapi jumlah varietasnya tidak banyak dan tidak dapat menghasilkan biji. Pada daerah yang ketinggiannya di bawah 100 m, tanaman kubis tumbuh kurang baik (Permadi dan Sastrosiswojo, 1993).

Balai Penelitian Tanaman Sayuran (2004) menyatakan kubis yang dibudidayakan di Indonesia ada dua jenis yaitu

1. Jenis semusim (tipe annual) merupakan tipe kubis yang dapat tumbuh, berkrop, berbunga dan berbiji di daerah tropis pada umumnya dan Indonesia pada khususnya, tanpa memerlukan periode pendinginan terlebih dahulu
2. Jenis dua musim (tipe biennial) dapat tumbuh di daerah tropis namun tidak dapat berbunga secara alami karena tidak adanya musim dingin panjang untuk merangsang pembungaannya.

Jenis dwi musim inilah yang banyak diminta konsumen karena kropnya keras/padat, tidak rapuh dan tidak renyah seperti kubis semusim. Pengembangan dari sisi pemuliaan dan produksi benihnya terkendala oleh ketidak-mampuan jenis kubis ini untuk berbunga secara alami. Dengan demikian, budidaya kubis di

commit to user

Indonesia memiliki ketergantungan yang sangat tinggi untuk memenuhi kebutuhan benih dari pasar impor.

Secara umum, semua jenis kubis dapat tumbuh dan berkembang pada berbagai jenis tanah. Namun demikian, kubis akan tumbuh optimum bila ditanam pada tanah yang kaya akan bahan organik. Kubis memerlukan air yang cukup, tetapi tidak boleh berlebihan. Tanaman kubis yang akan tumbuh baik pada kelembaban yang cukup tinggi (60-69%) dan suhu cukup rendah (Pracaya, 2001).

Pada umumnya kubis ditanam dengan pola tanam secara monokultur atau tumpangsari. Waktu tanam kubis yang paling baik adalah pada awal musim hujan atau awal musim kemarau. Meskipun demikian, kubis dapat ditanam sepanjang musim atau tahun asalkan kebutuhan airnya terpenuhi. Cara budidaya tanaman kubis dilakukan dengan pengolahan tanah, pembersihan gulma, penyulaman, pemupukan, pemanenan, dan pergiliran tanaman (Rukmana 1994).

B. Patogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Morfologi *Xanthomonas* adalah berbentuk batang pendek dengan kedua ujungnya membulat, tanpa endospora, menghasilkan pigmen yang tidak larut dalam air, motil dengan flagela monotrikus dan pada media biakan koloninya membulat, cembung, serta berwarna kekuningan (Ou, 1972).

Menurut Lelliot (1972) ciri khas genus *Xanthomonas* adalah koloninya berlendir, menghasilkan pigmen kuning dan pada media agar, koloninya berdiameter 1-3 mm (biakan berumur tiga hari, suhu 27 derajat celsius). Pigmen kuning tersebut dapat digunakan sebagai pembeda dari genus *Pseudomonas*.

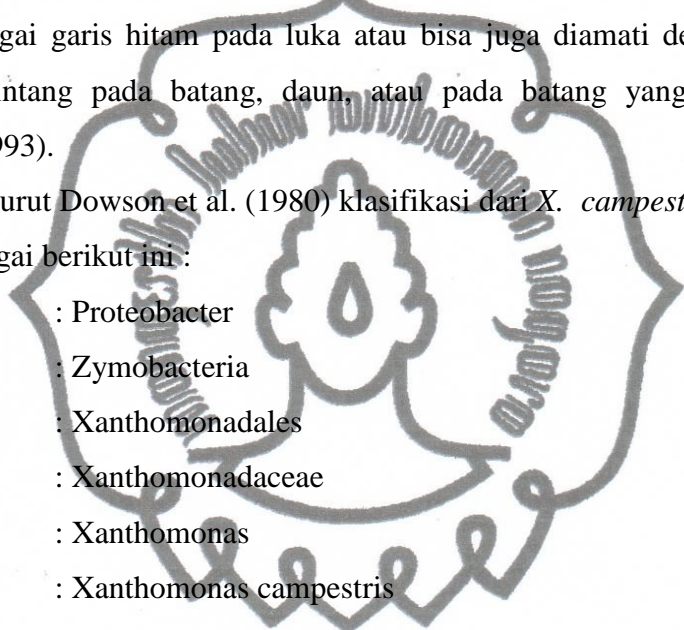
Xanthomonas campestris pv. *campestris* tergolong bakteri yang bersel tunggal, berbentuk batang, tidak membentuk spora, dan bersifat gram negatif. Bakteri berukuran (0,3 - 0,5) x (7 - 2,0) mikron, bergerak aktif dengan menggunakan flagelum tunggal polar (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2010).

Bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* memasuki tanaman melalui hidatoda, stomata, dan luka pada daun. Dalam waktu singkat, bakteri menyebar dalam sistem vaskular dari daun dan batang. Bakteri menyebar dan menyebabkan kerusakan yang paling dalam, basah, pada cuaca hangat. X.

campestris pv. *campestris* tidak biasanya menyebar dalam cuaca kering dan tidak aktif pada suhu di bawah 50°F . *X. campestris* pv. *campestris* dapat bertahan dalam tanah selama satu tahun dan dapat menyebar di permukaan air atau melalui irigasi (Charles, 2000).

X. campestris pv. *campestris* menyerang jaringan pengangkutan tanaman dan dapat berpindah secara sistematis dalam jaringan pengangkutan tanaman tersebut. Jaringan angkut yang terserang warnanya menjadi kehitaman yang dapat dilihat sebagai garis hitam pada luka atau bisa juga diamati dengan memotong secara melintang pada batang, daun, atau pada batang yang terkena infeksi (Permadi, 1993).

Menurut Dowson et al. (1980) klasifikasi dari *X. campestris* pv *campestris* adalah sebagai berikut ini :



Kingdom	: Proteobacter
Kelas	: Zymobacteria
Ordo	: Xanthomonadales
Famili	: Xanthomonadaceae
Genus	: Xanthomonas
Spesies	: Xanthomonas campestris
Nama triominal	: <i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i>

C. Busuk Hitam Kubis

Busuk hitam adalah salah satu penyakit yang paling merusak kubis dan silangan kubis lain. Kembang kol, dan kubis, adalah salah satu silangan paling rentan terhadap busuk hitam. Brokoli, kubis cina, dan lobak juga rentan. Beberapa gulma silangan juga dapat menjadi inang patogen. Penyakit ini biasanya paling lazim di daerah yang rendah dan dimana tanaman tetap basah untuk waktu yang lama (Pracaya, 2001).

Busuk hitam disebabkan *X. campestris* pv. *campestris* termasuk salah satu penyakit penting pada tanaman kubis - kubisan. Gejala awal yang timbul pada tepi daun dan berlanjut hingga klorosis membentuk huruf V. Dengan berjalannya waktu, gejala yang timbul tadi kemudian mengering dan seperti terbakar

(nekrotis). Serangan umumnya terjadi pada pori daun, tetapi tidak menutup kemungkinan dapat menyerang di bagian daun mana saja yang telah terserang serangga ataupun luka secara mekanis sehingga memudahkan bakteri masuk (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2010).

Gejala mula-mula di tepi-tepi daun terdapat daerah yang berwarna kuning atau pucat, yang kemudian meluas ke bagian tengah. Di daerah ini tulang-tulang daun berwarna coklat tua atau hitam. Pada tingkat yang lebih lanjut, penyakit meluas melalui tulang-tulang daun dan masuk ke dalam batang. Jaringan helaian daun yang sakit mengering, menjadi seperti selaput, dengan tulang-tulang daun berwarna hitam (Semangun, 1996).

Menurut Michael (2009) *X. campestris* pv. *campestris* masuk dan keluar melalui sekresi air pada kelenjar hidatoda yang terletak di tepi dan ujung daun. Hidatoda sering menghasilkan setetes air selama periode kelembaban tinggi di pagi hari. Patogen menyebar sangat cepat ketika tetesan hujan yang terkontaminasi dengan percikan bakteri, mengenai daun yang sehat dan masuklah ke dalam hidatoda. Bakteri pindah ke daun melalui jaringan pembuluh hidatoda dan mulai berkembang biak, membusuk dan merusak jaringan pembuluh. Tetesan air yang terkontaminasi yang memancar keluar dari hidatoda pada daun yang terinfeksi dapat menular pada daun tanaman yang masih sehat dengan adanya percikan air hujan atau percikan air dari penyiraman.

Kondisi hangat dan basah mendukung infeksi oleh *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman. Kelembaban optimum diperlukan untuk invasi bakteri ke tanaman inang melalui hidatoda secara alami. Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri dan perkembangan gejala pada tanaman inang adalah antara 25 ° sampai 30 ° C. Pada tingkat yang lebih lambat pertumbuhan dapat diamati pada suhu serendah 5 ° C dan hingga 35 ° C. Namun, inang yang terinfeksi tanpa gejala terdapat pada suhu di bawah 18 ° C. *X. campestris* pv. *campestris* bisa bertahan di sisa-sisa tanaman, di dalam tanah sampai dua tahun (Wiki, 2010).

Menurut Rukmana (1994) pengendalian dapat dilakukan dengan pergiliran tanaman yang bukan jenis kubis-kubisan, sehingga akan memberikan waktu yang cukup bagi serasah dari tanaman kubis-kubisan untuk melapuk. Penggunaan benih

bebas hama dan penyakit yang dihasilkan di iklim yang kering. Tidak bekerja di lahan saat daun tanaman basah. Menanam varietas kubis yang tahan terhadap busuk hitam. Penyemprotan bakterisida Kocide 77 WP sangat dianjurkan, terutama untuk budidaya di musim penghujan. Namun pengendalian dengan bakterisida sebisa mungkin dihindari dan lebih mengutamakan pengendalian kultur teknis .

D. Bakteriofage Sebagai Agen Pengendalian Hayati

Bakteriofage (fag) adalah virus yang menginfeksi bakteri dan dapat menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri yang diinfeksi. Sejak penemuan bakteriofage di awal abad kedua puluh, fag telah dievaluasi secara ekstensif untuk mengendalikan semua jenis bakteri, menghambat penyakit, termasuk penyakit tanaman. Awal abad dua puluhan fag telah dievaluasi untuk mengendalikan hawar api pada apel, layu pada pir, bakteri penyebab kanker pada jeruk, bakteri hawar pada geranium, dan busuk hitam pada kubis. Bakteriofage memiliki potensi besar karena banyak hadir di alam, tidak beracun pada ekosistem, dan inangnya khusus untuk spesies bakteri tertentu atau strain, tanpa merusak lainnya (Jones et al. 2006).

Bakteriofage adalah parasit obligat intraseluler yang berkembang biak di dalam bakteri dengan memanfaatkan beberapa atau semua mesin biosintetik inang (misalnya, virus yang menginfeksi bakteri). Mereka masuk ke dalam sel bakteri dengan menempel di dinding sel dan menyuntikkan DNA mereka ke dalam sel bakteri. Setelah masuk, DNA fag bertindak sebagai template untuk produksi protein fag. Protein ini mereplikasi fag dan mengendalikan aktivitas sel, akhirnya menyebabkan lisis dan kematian sel inang (Watson et al. 1987).

Berdasarkan hasil penelitian Mallman dan Hemstreet (1924) bahwa cairan yang dikumpulkan dari kubis yang membusuk karena busuk hitam dapat menghambat pertumbuhan patogen secara in vitro pada tanaman kubis yang terinfeksi *X. campestris* pv. *campestris*. Pada tahun berikutnya, Kotila et al. (1925) juga mengisolasi bakteriofage dari sampel tanah terhadap agen penyebab penyakit busuk umbi pada kentang. Mereka menunjukkan bahwa inokulasi dari

Erwinia carotovora subsp. atroseptica dengan fag berhasil menghambat pertumbuhan *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* dan mencegah busuk umbi. Menurut Thomas (1935) melaporkan bahwa benih jagung yang terinfeksi oleh *Pantoea stewartii* yang telah diberi fag dari isolasi bahan tanaman jagung yang sakit, dapat menunjukkan pengurangan kejadian penyakit dari 18 % menjadi 1,4 %.

Ada dua cara untuk menumbuhkan fag virulen berdasarkan pada kemampuan fag mematikan sel bakteri inangnya. Cara yang pertama adalah dengan mencampurkan fag ke dalam biakan bakteri dalam media cair. Setelah masa inkubasi, fag menyebabkan lisis bakteri dalam biakan tersebut sehingga kekeruhan media menjadi jernih. Cara ini digunakan untuk menumbuhkan atau memperbanyak fag. Cara yang kedua disebut uji plak, yaitu dengan menumbuhkan fag dan bakteri inang ke dalam media agar cair kemudian menuangkan agar cair tersebut ke permukaan media agar biasa. Setelah masa inkubasi, maka akan terlihat plak berupa noktah bening, setiap plak dihasilkan oleh satu partikel fag. Cara kedua ini digunakan untuk isolasi dan menghitung jumlah partikel fag (Adam, 1959).

Uji plak awalnya alat tes virologi yang dikembangkan untuk menghitung dan mengukur infektivitas bakteriofage. Uji plak diterapkan untuk menghitung virus mamalia juga. Uji plak tetap menjadi teknik yang paling banyak digunakan untuk isolasi virus dan pemurnian, dan untuk menentukan titer virus. Dasar teknik ini adalah untuk mengukur kemampuan virus menginfeksi untuk membentuk "plak" pada monolayer konfluen sel. Sebuah plak terbentuk sebagai akibat dari infeksi dari satu sel dengan partikel virus tunggal diikuti oleh replikasi virus tersebut, dan akhirnya, terjadi kematian sel. Partikel virus yang baru direplikasi kemudian akan menginfeksi dan membunuh sel-sel di sekitarnya (Adam, 1959).

Setiap plak merupakan lisis dari bakteri yang terinfeksi bakteriofage dan dapat ditunjuk sebagai unit pembentuk plak (PFU) dan digunakan untuk perhitungan jumlah partikel fag. Pewarnaan pada sel-sel hidup sering digunakan untuk meningkatkan kontras antara sel-sel hidup dan plak. Oleh karena itu, sel-sel mati dalam plak akan muncul dengan bentuk noktah bening. Hanya virus yang menyebabkan kerusakan sel-sel terlihat dalam diuji dengan cara ini (Adam, 1959).

Ada beberapa keuntungan dalam menggunakan fag dalam pengendalian penyakit:

1. Bakteriofag merupakan komponen alami dari biosfer, dapat dengan mudah diisolasi pada tempat yang terdapat bakteri, termasuk tanah, air, tanaman, hewan (Adams, 1959).
2. Fag dapat mereplikasi diri, karena fag dapat menginfeksi selama bakteri inang hadir di lingkungan, tetapi fag cepat rusak ketika inang tidak hadir (Kutter 1997).
3. Bakteriofag tidak beracun (Goyal, 1987).
4. Fag hanya menginfeksi inang yang spesifik tanpa merusak bakteri lain dari lingkungan. Hal ini berarti bahwa aplikasi fag dapat digabungkan dengan agen kontrol biologis lain seperti bakteri pesaing atau antagonis dari bakteri patogen. Beberapa hasil positif telah diperoleh dengan aplikasi fag yang digabungkan dengan bakteri antagonis lain (Litvinova et al. 1978). Bakteriofag ditargetkan untuk merusak reseptor bakteri yang merupakan faktor virulensi pada bakteri patogen tersebut, sehingga kemampuan virulensi bakteri akan berkurang (Cao et al. 2000).
5. Sediaan fag dapat disimpan pada suhu 4 ° C selama bertahun-tahun tanpa adanya penurunan yang signifikan dalam titer (Jackson, 1996).

Menurut Schnabel et al. (1999) hasil percobaan menunjukkan bahwa inokulasi bakteriofage yang dilakukan pada waktu yang sama dengan inokulasi *E. amylovora* pada apel dapat menurunkan perkembangan penyakit hawar bunga api pada apel secara signifikan. Sebaliknya, pengurangan penyakit tidak signifikan ketika fag diterapkan sehari sebelum inokulasi *E. amylovora*. Dan menurut Filho (1981) bahwa pengaruh waktu pada keefektifan pemberian fag pada percobaan rumah kaca pada busuk hitam kubis, yang disebabkan oleh *X. campestris* pv. *campestris*, terjadi pengurangan busuk kubis secara signifikan pada inokulasi fag yang diterapkan 3 hari sebelum sampai 1 hari setelah inokulasi *X. campestris* pv. *campestris*.

Efek konsentrasi fag pada penurunan perkembangan penyakit juga telah diteliti. Penyemprotan fag dengan konsentrasi 10^6 atau 10^8 unit pembentuk plak

(PFU) / ml pada tanaman tomat yang terinfeksi *X. campestris* pv. *vesicatoria* berkurang secara signifikan keparahan penyakitnya, tetapi konsentrasi fag 10^4 PFU / ml tidak berpengaruh nyata (Balogh, 2002).

F. Hipotesis

Perlakuan inokulasi bakteriofage dapat menghambat perkembangan penyakit busuk hitam kubis yang disebabkan oleh pertumbuhan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.



III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan serta Kebun Benih dan Tanaman Pangan Hortikultura Surakarta. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Agustus 2012.

B. Bahan dan Alat

Adapun bahan yang digunakan adalah sample tanaman kubis yang sakit yang diambil di daerah Dieng Kabupaten Wonosobo, media YDC (Yeast Dextrose Carbonate, aquadest, air steril, alkohol 70%, Chloroform, media YPGA (Yeast Peptone Glucose Agar), media YPG cair, agar air 0,6%, bibit kubis varietas Pujon, polybag, media tanam, suspensi bakteriofage (10^4 Plak Forming Unit (PFU)/ml) 10 ml/tanaman, suspensi bakteri (10^8 Colony Forming Unit (CFU)/ml) 10 ml/tanaman.

Adapun alat yang digunakan adalah pisau, gunting, sekop, alat tulis, label, kantong plastik (wadah sampel), kantong plastik (sungkup), termos pendingin, kulkas, petridish (9 mm), tabung reaksi, erlemeyer, gelas ukur, gelas piala, 1 set hand pipet dan tip, timbangan, alat penggerus steril, sentrifus (tabung mikro dan falkon), tabung mikrosentrifus, shaker, tabung, falkon (50 ml), tabung falkon (15 ml), vortex, saringan bakteri 0,22 μ m, botol 1L (untuk penyiapan fage dan bakteri untuk perlakuan), semprotan, kamera digital, dan alat-alat pendukung lainnya.

C. Cara Kerja Penelitian

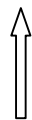
1. Rancangan Percobaan

Unit Percobaan disusun dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 kali ulangan pada keadaan lingkungan yang seragam dengan total 4 macam perlakuan yaitu:

- 1) Bakteriofage yang diisolasi dari daun kubis yang sakit : DS
- 2) Bakteriofage yang diisolasi dari akar kubis yang sakit : AS
- 3) Bakteriofage yang diisolasi dari tanah disekitar kubis yang sakit : TS
- 4) Kontrol menggunakan aquadest : KO

Denah Penelitian

Utara



DS4	AS4	TS2	KO1	AS3	KO6
AS1	DS2	AS6	AS5	TS5	DS5
TS3	KO5	DS3	TS1	DS1	TS2
KO2	AS4	KO3	DS6	TS4	KO4

a) Unit Perlakuan

Sebagai satu unit perlakuan adalah tanaman kubis berumur 5 minggu yang terdiri dari 5 buah daun tiap tanaman kubis. Tanaman kubis ditanam pada sebuah polibag berdiameter 10 cm. Terdapat 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 6 kali, sehingga total terdapat 24 unit perlakuan berupa 24 polybag tanaman kubis. Penyemprotan bakteriofage dilakukan pada setiap tanaman kubis pada bagian daun. Setiap tanaman kubis hanya diambil 5 daun yang disemprot suspensi bakteriofage

b) Unit Pengamatan

Sebagai unit pengamatan berupa 3 daun dari setiap tanaman kubis, sehingga total sampel yang diamati sebanyak 72 daun. Hasil pengamatan pada ketiga sampel tersebut kemudian dirata-rata untuk mendapatkan satu nilai pengamatan.

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Isolasi *X. campestris* pv. *campestris*

X. campestris pv. *campestris* diisolasi dari wilayah endemi penyakit busuk hitam kubis (Dieng). Bagian tanaman (daun) yang menunjukkan gejala penyakit tersebut dipotong, kemudian disterilkan dengan alkohol 70 % selama 1 menit, dicuci dengan air steril. Daun dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi air steril, di vortek sampai suspensi menjadi homogen, dan suspensi digoreskan pada petridis berisi media Yeast Dextrose Carbonat Agar (YDCA). Biakan bakteri diinkubasikan pada suhu ruang selama 72 jam.

b. Identifikasi *X. campestris* pv. *campestris*

Identifikasi *X. campestris* pv. *campestris* dilakukan dengan mengamati morfologi bakteri dengan melihat warna, bentuk. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian gram dengan menggunakan uji KOH 3 %, isolat bakteri yang berumur 72 jam digoreskan pada kaca preparat yang telah ditetesi air steril, kemudian ditetesi dengan KOH 3 %, ditarik dengan jarum ose, bila terbentuk benang maka bakteri tersebut termasuk bakteri gram negatif (Fahy et al., 1983).

c. Perhitungan Koloni *X. campestris* pv. *campestris*

Perhitungan koloni *X. campestris* pv. *campestris* dihitung dengan menggunakan teknik perhitungan koloni dengan pengenceran suspensi bakteri bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-8} . Isolat *X. campestris* pv. *campestris* dibuat suspensi, kemudian 1 ml suspensi dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril. Suspensi bakteri dari pengenceran pertama (10^{-1}) diambil 1 ml kemudian dipindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis hingga tabung 10^{-8} . Suspensi bakteri dihomogenkan dengan vortek selama 1 menit. Pemindahan suspensi bakteri ke dalam media dilakukan dengan cara mengambil suspensi pada masing-masing pengenceran sebanyak 0,1 ml, kemudian teteskan diatas permukaan media YDC yang telah memadat pada cawan petri. Kemudian disebarakan dengan menggosokannya pada permukaan agar supaya tetesan suspensi merata, penyebaran akan lebih efektif bila cawan ikut diputar dengan menggunakan batang L. Cawan petri diinkubasikan 2 x 24 jam pada suhu ruang. Dari jumlah

koloni bakteri yang tumbuh maka jumlah bakteri per ml medium dapat dihitung (Kiraly et al, 1974).

d. Isolasi Bakteriofage dari Lapangann

Bakteriofage diisolasi dari tiga bagian tanaman kubis yang sakit yaitu: daun tanaman kubis yang sakit, akar tanaman kubis yang sakit, dan tanah sekitar tanaman kubis yang sakit.

e. Uji Plak

Plat dasar dibuat/disiapkan menggunakan media YPGA. Kemudian dibiarkan mengental selama semalam. Dibuat delapan macam pengenceran bakteriofage yaitu: 10^{-1} , sampai 10^{-8} . Sel bakteri disiapkan pada kerapatan $\sim 10^8$ cells/ml. Top agar dibuat/disiapkan menggunakan agar air 0,6%. *X. campestris* pv. *campestris* ditumbuhkan dalam media YPG cair secara aerob selama 24 jam pada suhu ruang dengan cara digojok dengan shaker 130 rpm. Setelah 24 jam masing-masing sampel dari tanaman kubis yang sakit dimasukan pada medium YPG cair yang berisi *X. campestris* pv. *campestris*. Medium YPG diinkubasikan kembali pada suhu ruang selama 24 jam dengan digojok. Setelah masa inkubasi, media YPG didiamkan sejenak sampai endapan terbentuk. Supernatan diambil dan disentrifuge pada kecepatan 1200 rpm selama 10 menit. Supernatan disaring dengan saringan bakteri 0,22 μ m, supernatan dibagi menjadi dua bagian, yang salah satunya di beri klorofom 10%. Supernatan diambil 1 ml dan dimasukan pada pengenceran air steril dari konsentrasi 10^{-1} sampai 10^{-8} .

Suspensi fag pada masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml dan dimasukan dalam agar air yang telah dihangatkan pada suhu 50 derajat celcius. Agar air digojok perlahan dan ditambahkan 0,1 ml suspensi *X. campestris* pv. *campestris* dengan kerapatan $\sim 10^8$ cells/ml. Agar air dituangkan dalam petridis yang telah berisi media YPGA. Ratakan dengan cara memutar petridis, dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 24 jam.

f. Perbanyakan Bakteriofage

Zona bening yang terbentuk pada uji plak kemudian dipisahkan dari media agar dan diinokulasikan pada media cair YPG yang berisi suspensi murni, *X. campestris* pv. *campestris*, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Suspensi dituang pada agar air, direisolasikan pada media YPG padat. Diinkubasi selama 24 jam. Dihitung kembali jumlah plak yang terbentuk.

g. Preparasi Fag untuk Perlakuan

Sel bakteri disiapkan sampai mencapai sekitar 10^8 cfu/ml. Sel dikumpulkan dengan cara sentrifugasi pada 4500 rpm, 22°C , 20 menit, kemudian ditambah 1L media YPG cair. Fag disentrifugasi 10000 rpm, pada 17°C , 20 menit. Supernatan ditransfer ke dalam tabung baru dan diberi label.

h. Pengujian Pada Tanaman Kubis

Pada pengujian bakteriofage pada penelitian ini menggunakan bibit kubis siap tanam yang berumur 5 minggu. Bibit diperoleh dari kebun bibit milik warga di daerah Tawangmangu. Bibit ditanam dalam polibag yang telah berisi media tanam kubis. Perlakuan dimulai dengan penyemrotan suspensi bakteriofage (dengan kerapatan 10^4 PFU/ml) menggunakan *mini hand sprayer* sebanyak 10 ml tiap tanaman. Dua jam kemudian, tanaman disemprot dengan suspensi bakteri (dengan kerapatan 10^8 CFU/ml) menggunakan *mini hand sprayer* sebanyak 10 ml tiap tanaman. Setelah itu, tiap-tiap tanaman disungkup dengan kantong plastik untuk menjaga kelembaban. Setelah 48 jam sungkup dibuka dan tanaman dibiarkan tumbuh. Pengamatan dilakukan 8 hari setelah inokulasi terhadap intensitas serangan.

D. Pengamatan Peubah

Variabel penelitian yang diamati meliputi :

1. Pengamatan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Pertanian UNS

a. Banyaknya Plak yang Terbentuk

Pada saat partikel bakteriofage memulai infeksi pada lapisan sel *X. campestris* pv *campestris* yang tumbuh menyebar di permukaan media, zona lisis atau zona hambat akan muncul sehingga akan terlihat wilayah yang terang pada lapisan sel inang. Wilayah terang ini dinamakan sebagai plak yang diasumsikan bahwa setiap plak berasal dari satu partikel bakteriofage.

2. Pengamatan di Kebun Benih Hortikultura Karanganyar di Tawangmangu

a. Saat Awal Munculnya Gejala

Pengamatan saat awal munculnya gejala dilakukan pada masing-masing perlakuan. Pengamatan dilakukan setelah aplikasi penyemprotan bakteriofage pada tanaman kubis. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap sampel daun kubis pada semua perlakuan, yaitu dengan melihat gejala busuk hitam yang muncul pertama kali pada daun kubis.

b. Insiden Penyakit

Insiden penyakit diamati dengan cara melihat gejala serangan pada tiap-tiap daun kubis yang dijadikan sebagai unit pengamatan. Dimana jumlah daun kubis yang bergejala dibagi dengan jumlah daun yang diamati dikalikan 100%.

Nilai insiden penyakit dihitung dengan rumus :

$$IP = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

IP : Insidens Penyakit
A : jumlah tanaman sakit
B : jumlah tanaman yang diamati

d. Keparahen Penyakit

Pengamatan keparahan penyakit dilakukan pada tiap-tiap tanaman, yang menunjukkan gejala infeksi busuk hitam kubis. Dihitung dari tiga daun yang berbeda pada akhir pengamatan yaitu 19 hari setelah aplikasi penyemprotan

bakteriofage. Keparahan penyakit menurut Zadoks et al. (1979) dihitung berdasarkan nilai scoring dengan rumus:

$$KP = \frac{\sum (nxv)}{N \times V} \times 100\%$$

Dimana:

KP = intensitas penyakit (%)

n = sampel yang diamati

v = skor penyakit

N = jumlah sampel yang diamati

V = skor penyakit tertinggi

Skala untuk setiap kategori kerusakan :

0 : Tidak terdapat kerusakan pada daun

1 : Bagian daun yang bergejala busuk lebih dari 0% - 20%

3 : Bagian daun yang bergejala busuk lebih dari 20% - 40%

5 : Bagian daun yang bergejala busuk lebih dari 40% - 60%

7 : Bagian daun yang bergejala busuk lebih dari 60% - 80%

9 : Bagian daun yang bergejala busuk lebih dari 80%

E. Analisis Data

Dalam penelitian ini data dianalisis dengan uji F dengan taraf 5% dan apabila terdapat beda nyata, dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kondisi Umum Penelitian

Penelitian dilakukan dalam dua tempat yaitu di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta dan di Kebun Benih Hortikultura Karanganyar. Pelaksanaan isolasi bakteri *X. campestris* pv. *campestris* dan Uji Plak dilakukan dalam ruang isolasi yang telah dilengkapi dengan *Laminar Air Flow* (LAF).

Wilayah Kebun Benih Hortikultura, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah terletak di lereng gunung lawu dengan ketinggian tempat ± 1100 mdpl, suhu rata-rata 20°C. Kebun Benih Hortikultura menjadi sentra produksi benih sayuran antara lain sawi, tomat, kentang, cabai, ketela rambat, dan lain-lain. Dalam Wilayah Kebun Benih Hortikultura terdiri dari rumah kaca dan lahan yang terbuka. Penelitian ini dilakukan pada lahan yang terbuka yang tidak ternaungi oleh tanaman. Pengairan dilakukan dengan sistem tadah hujan pada lahan yang terbuka dan dengan menggunakan keran yang diputar pada rumah kaca. Pada penelitian ini penyiraman dilakukan secara manual dengan menggunakan gembor.

B. Jumlah Plak Yang Muncul

Jumlah bakteriofage yang muncul dihitung setelah masa inkubasi 24 jam. Bakteriofage yang muncul ditandai dengan adanya zona bening yang menandakan lisisnya bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Bakteriofage menyerap ke sel inang bakteri, menginfeksi dan melisiskan sel-sel, dan kemudian memulai proses baru dengan sel bakteri lain di sekitarnya. Setelah 6 - 24 jam, zona bening plak, dapat diamati dalam pertumbuhan bakteri di petridis. Karakteristik plak yang terkait dengan jenis bakteriofage serta karakteristik fisik dan kimia lainnya dari sistem di mana bakteriofage adalah tumbuh (Jones dan Krueger, 1951).

Tabel 1. Jumlah plak yang muncul dalam uji plak bakteriofage

Asal Bakteriofage	Jumlah plak
Daun	60×10^3 PFU
Akar	58×10^3 PFU
Tanah	49×10^3 PFU

PFU : Plak Forming Unit

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa bakteriofage dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman kubis yang terinfeksi busuk hitam kubis (lihat tabel 1). Hal ini diduga karena keberadaan bakteri inang (*X. campestris* pv. *campestris*) telah menyebar ke seluruh bagian tanaman kubis sehingga keberadaan bakteriofagenya juga menyebar ke seluruh bagian tanaman kubis yang sakit. Bakteriofage merupakan komponen alami dari biosfer, dapat diisolasi dari berbagai sumber dimana bakteri target hidup seperti di tanah, air, tanaman, hewan dan tubuh manusia. (Adams, 1959).

Jumlah plak yang muncul pada uji plak relatif sama pada masing-masing perlakuan. Hal tersebut mungkin disebabkan karena jumlah bakteriofage yang mampu melisis sel bakteri *X. campestris* pv. *campestris* relatif sama.

C. Saat Pertama Muncul Gejala Busuk Hitam

Pengamatan gejala busuk hitam dilakukan setelah inokulasi bakteri *X. campestris* pv. *campestris* dan bakteriofage pada tanaman kubis. Rata-rata kemunculan gejala busuk hitam kubis terjadi 7-14 hari setelah masa inkubasi bakteri. Gejala busuk hitam mula-mula di tepi-tepi daun, terdapat daerah yang berwarna kuning, atau pucat, yang kemudian meluas ke bagian tengah. Di daerah ini tulang-tulang daun berwarna coklat tua atau hitam. Pada tingkat yang lebih lanjut, penyakit meluas melalui tulang-tulang daun dan masuk ke dalam batang. Jaringan helaian daun yang sakit mengering, menjadi seperti selaput, dengan tulang-tulang daun berwarna hitam (Semangun, 1996).

Tabel 2. Saat pertama munculnya gejala busuk hitam kubis

Perlakuan	Waktu Muncul Gejala
Kontrol	7 HSA
DS	Tidak muncul
AS	13 HSA
TS	13 HSA

HSA : Hari setelah aplikasi bakteriofage, DS : bakteriofage asal daun kubis sakit, AS: bakteriofage asal akar sakit, TS : bakteriofage asal tanah sekitar tanaman kubis sakit

Hasil pengamatan menunjukkan saat pertama muncul gejala busuk hitam yang paling awal terjadi pada kontrol tanpa diinokulasikan bakteriofage, yaitu 7 hari setelah inokulasi (lihat tabel 2). Hal tersebut disebabkan karena aktivitas *X. campestris* pv. *campestris* tidak dihambat oleh bakteriofage, sehingga infeksi *X. campestris* pv. *campestris* semakin optimal pada tanaman kubis. Kondisi lingkungan pada lahan penelitian juga mendukung terjadinya infeksi *X. campestris* pv. *campestris* pada tanaman kubis. Suhu rata-rata di lahan penelitian sama dengan suhu optimal bagi pertumbuhan dan perkembangan *X. campestris* pv. *campestris* yaitu 20 °C. Menurut Wiki (2010) kondisi hangat dan basah mendukung infeksi tanaman oleh *X. campestris* pv. *campestris*. Kelembaban optimum diperlukan untuk invasi ke tanaman inang melalui hidatoda secara alami. Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri dan perkembangan gejala pada tanaman inang adalah antara 20 ° sampai 30 ° C. Pada tingkat pertumbuhan yang lebih lambat dapat diamati pada suhu serendah 5 ° C. Namun, inang yang terinfeksi tanpa gejala terdapat pada suhu di bawah 18 ° C.

Pada perlakuan yang diinokulasikan dengan bakteriofage relatif lebih lama saat awal munculnya gejala busuk hitam (lihat tabel 2). Aktivitas bakteriofage pada daun kubis mampu menghambat perkembangan penyakit busuk hitam kubis. Hal tersebut disebabkan oleh infeksi bakteriofage pada sel *X. campestris* pv. *campestris* yang mengakibatkan sel *X. campestris* pv. *campestris* menjadi lisis atau mati. Menurut Watson et al. (1987) bakteriofage masuk ke dalam sel bakteri dengan menempel di dinding sel dan menyuntikkan DNA

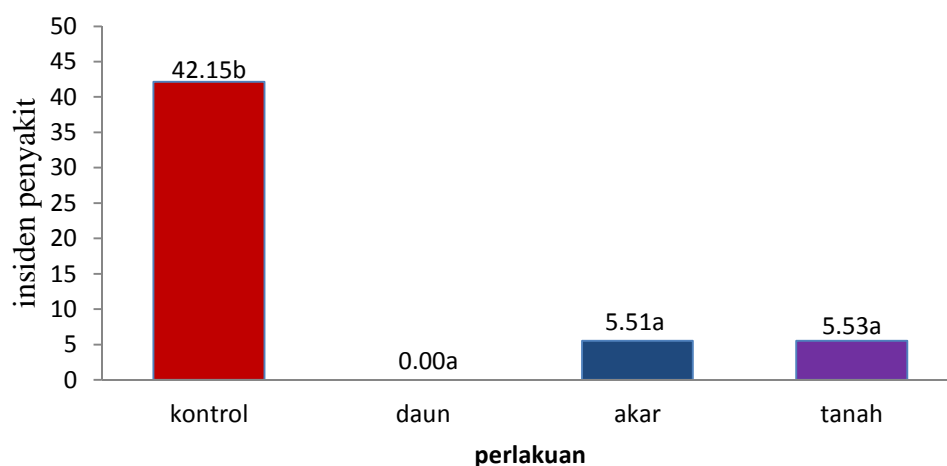
mereka ke dalam sel bakteri. Setelah masuk, DNA fag bertindak sebagai template untuk produksi protein fag. Protein ini mereplikasi fag dan mengendalikan aktivitas sel bakteri inang, akhirnya menyebabkan lisis dan kematian sel inang.

Menurut Mallman dan Hemstre (1924) bahwa cairan yang dikumpulkan dari kubis yang membusuk karena busuk hitam kubis dapat menghambat pertumbuhan patogen secara in vitro pada tanaman kubis yang terinfeksi *X. campestris* pv. *campestris*.

D. Intensitas Penyakit

1. Insiden Penyakit

Insiden penyakit pada busuk hitam pada kubis dilakukan dengan pengamatan pada pagi hari (06.30-07.30 WIB) dikarenakan gejala busuk hitam tampak lebih jelas dibandingkan ketika siang hari. Saat pagi hari daun masih terlihat lebih segar sehingga lebih jelas gejala yang diamati. Gejala yang ditimbulkan menurut Sally et al. (2008) antara lain munculnya warna kuning, berbentuk V lesi sepanjang tepi daun. Titik lesi berbentuk V menyebar menuju vena, ketika lesi memperbesar, memperluas jaringan layu ke dasar daun. Akhirnya daerah sakit menjadi nekrotik dan pembuluh darah berubah menjadi hitam atau coklat.



Antarangka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%
 Gambar 1. Pengaruh pemberian bakteriofage pada tanaman kubis terhadap insiden penyakit busuk hitam kubis.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan pemberian bakteriofage asal daun, tanah dan akar dapat menurunkan insiden penyakit busuk hitam kubis (lihat gambar 1). Berdasarkan uji DMRT taraf 5 % dapat diketahui bahwa pada kontrol berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pemberian bakteriofage pada tanaman kubis efektif dalam menurunkan insiden penyakit busuk hitam kubis. Kotila et al. (1925) mengemukakan bahwa bakteriofage yang diisolasi dari tanaman yang terserang *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* pada kentang dalam percobaan di lapang dapat menghambat perkembangan penyakit busuk umbi kentang yang disebabkan oleh *Erwinia carotovora subsp. atroseptica*. Menurut Thomas (1935) mengemukakan bahwa benih jagung yang terinfeksi oleh *Pantoea stewartii* yang telah diberi fag dari isolasi bahan tanaman jagung yang sakit, dapat menunjukkan pengurangan kejadian penyakit dari 18 % menjadi 1,4 %.

Keefektifan bakteriofage dalam menghambat perkembangan penyakit pada tanaman dengan inang yang spesifik, dipengaruhi oleh kerentanan bakteri target, lingkungan yang mendukung dalam proses difusi dan adsorpsi fage ke dalam sel bakteri. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Abedon (1990) fag jelas dipengaruhi oleh lingkungan sekitarnya, seperti bakteri target dari fage, dan keberhasilan tidak hanya tergantung pada kerentanan bakteri sasaran tetapi juga pada faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi kelangsungan hidup bakteriofage itu sendiri.

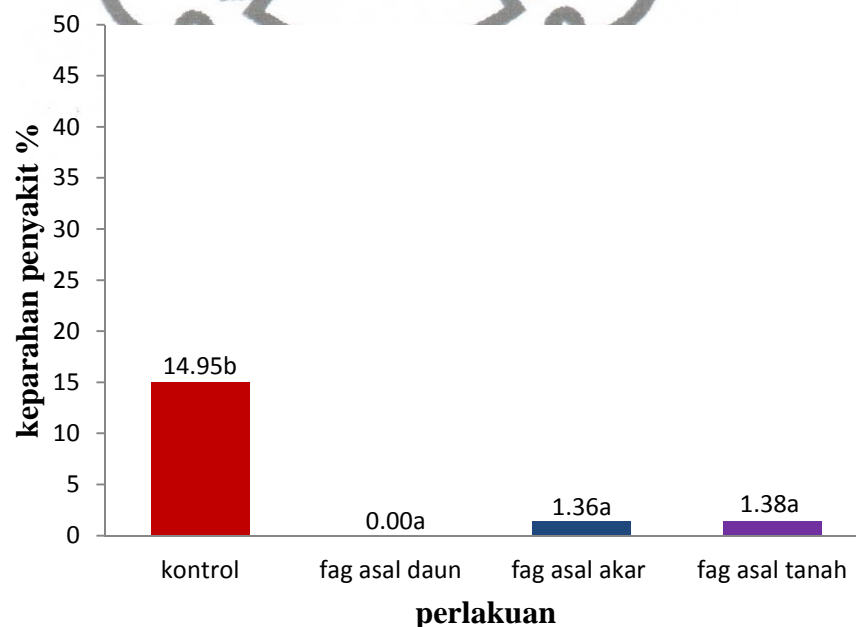
Lingkungan di lahan penelitian memiliki suhu rata-rata 20°C dengan kelembaban relatif basah yang memungkinkan bakteriofage mampu beradaptasi dan melakukan aktivitasnya dalam menginfeksi *X. campestris* pv. *campestris*. Menurut Cirevolo (1969) mengemukakan bahwa aplikasi bakteriofage dapat menghambat perkembangan penyakit yang disebabkan oleh *Xanthomonas phaseoli* pada suhu 20°C.

Berdasarkan uji DMRT taraf 5 % dapat diketahui bahwa antar perlakuan yang diaplikasikan dengan bakteriofage tidak berbeda nyata dalam menurunkan insiden penyakit busuk hitam kubis (lihat gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diaplikasikan dengan bakteriofage cukup efektif dalam

menurunkan insiden penyakit busuk hitam kubis. Hal tersebut mungkin disebabkan karena jumlah konsentrasi bakteriofage yang diaplikasikan antar perlakuan adalah sama banyaknya.

2. Kearahan Penyakit

Keparahan Penyakit didefinisikan sebagai persentase luasnya jaringan tanaman yang terserang patogen dari total luasan yang diamati. Kearahan penyakit dapat dipakai sebagai indikator tingkat perkembangan penyakit pada suatu tanaman yang terinfeksi. Kearahan penyakit pada penelitian ini dapat diukur dengan penyekoran berdasarkan persentase nekrotik jaringan pada daun. Tingkat keparahan penyakit diamati berdasarkan skoring yang telah ditetapkan bahwa skor 0 (tidak ada serangan), skor 1 (kerusakan 1-20%), skor 3 (kerusakan 21-40%), skor 5 (kerusakan 41-60 %), skor 7 (kerusakan 61-80%), dan skor 9 (kerusakan lebih dari 80%). Skor dihitung berdasarkan luasnya gejala penyakit yang berbentuk lesi v berwarna kuning sampai coklat dan mengering.



Antarangka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%

Gambar 2. Pengaruh pemberian bakteriofage pada tanaman kubis terhadap keparahan penyakit busuk hitam kubis.

commit to user

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bakteriofage pada ketiga perlakuan yaitu bakteriofage asal daun, akar, dan tanah dapat menurunkan keparahan penyakit (lihat gambar 2). Berdasarkan uji DMRT taraf 5% dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian bakteriofage berpengaruh terhadap penurunan perkembangan penyakit pada busuk hitam kubis.

Tingkat keparahan penyakit pada kontrol lebih banyak yaitu 14,95% dibandingkan dengan perlakuan pemberian bakteriofage. Hal ini disebabkan karena pada kontrol tidak dilakukan penyemprotan bakteriofage sehingga perkembangan penyakit semakin meluas. Sedangkan pada perlakuan penyemrotan bakteriofage cenderung dapat menghambat perkembangan penyakit busuk hitam, hal tersebut disebabkan adanya aktivitas bakteriofage yang menghambat proses pembelahan sel bakteri *X. campestris* pv. *campestris*. Aktivitas dari penyuntikan DNA fag ke dalam sel bakteri mengakibatkan sel bakteri menjadi lisis dan mati, sehingga jumlah bakteri menjadi semakin sedikit. Bakteriofage adalah virus yang menginfeksi bakteri dan dapat menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri yang diinfeksi (Jones et al. 2006).

Menurut Civerolo et al. (1969) pengurangan bercak pada buah persik yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* sebesar 58% pada kontrol, menjadi 22 % pada perlakuan percobaan dengan penambahan bakteriofage. Tanaka et al. (1990) berhasil mengendalikan layu bakteri pada tembakau yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*. Penerapan bakteriofage pada plot percobaan dapat menurunkan keparahan penyakit dari 95,8 % pada kontrol menjadi 39,5 % dan 17,6 % pada perlakuan bakteriofage virulen.

Pada perlakuan aplikasi bakteriofage berdasarkan uji DMRT taraf 5 % menunjukan bahwa ketiga perlakuan aplikasi bakteriofage tidak berbeda nyata dalam menurunkan keparahan penyakit busuk hitam kubis (lihat gambar 2). Hal ini disebabkan karena jumlah bakteriofage yang diaplikasikan pada ketiga perlakuan sama.

Keefektifan bakteriofage dalam mengendalikan perkembangbiakan *X. campestris* pv. *campestris* dipengaruhi oleh beberapa faktor. Salah satu faktor yang

berpengaruh suhu udara. Kelangsungan hidup bakteriofage di lapang dipengaruhi oleh suhu lingkungan di lapang. Bakteriofage tetap hidup selama 42 bulan pada suhu 20°C dan pada suhu 12°-25°C dapat bertahan hidup selama 78 bulan di lapangan terbuka (Prouty, 1953).



V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Sumber bakteriofage dapat ditemukan pada daun tanaman kubis yang sakit, akar tanaman kubis yang sakit, dan tanah sekitar tanaman kubis yang sakit.
2. Pemberian bakteriofage pada tanaman percobaan dapat menurunkan insiden penyakit busuk hitam kubis
3. Pemberian bakteriofage pada tanaman percobaan dapat menurunkan keparahan penyakit

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai waktu aplikasi bakteriofage yang paling efektif dalam mengendalikan busuk hitam kubis.