



**UJI EFEKTIVITAS *PSEUDOMONAS PNDAR-FLUOR* DALAM MENGENDALIKAN
PUSTUL BAKTERI (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) PADA TANAMAN
KEDELAI (*Glycine max* L.)**

SKRIPSI

Oleh:

Anindya Salsabila

151510501148

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**UJI EFEKTIVITAS *PSEUDOMONAS PENDAR-FLUOR* DALAM MENGENDALIKAN
PUSTUL BAKTERI (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) PADA TANAMAN
KEDELAI (*Glycine max* L.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

**Anindya Salsabila
151510501148**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan kasih sayang-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Dengan mengucapkan Bismillahirrahmaanirrahiim, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua saya tercinta Alm. Lucas Nugrah Tjahjono dan Almh. Siti Anjayani yang telah membesarkan dan memberikan kasih sayang walau pada akhirnya meninggalkan saya untuk selamanya. Terimakasih untuk semua jasa – jasa yang tak dapat terbayarkan oleh apapun.
2. Seluruh keluarga, guru, dosen dan teman-teman tercinta atas doa, dukungan dan motivasi selama ini.
3. Almamaterku Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember yang saya cintai dan banggakan.
4. Almamaterku tercinta Universitas Jember.

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”

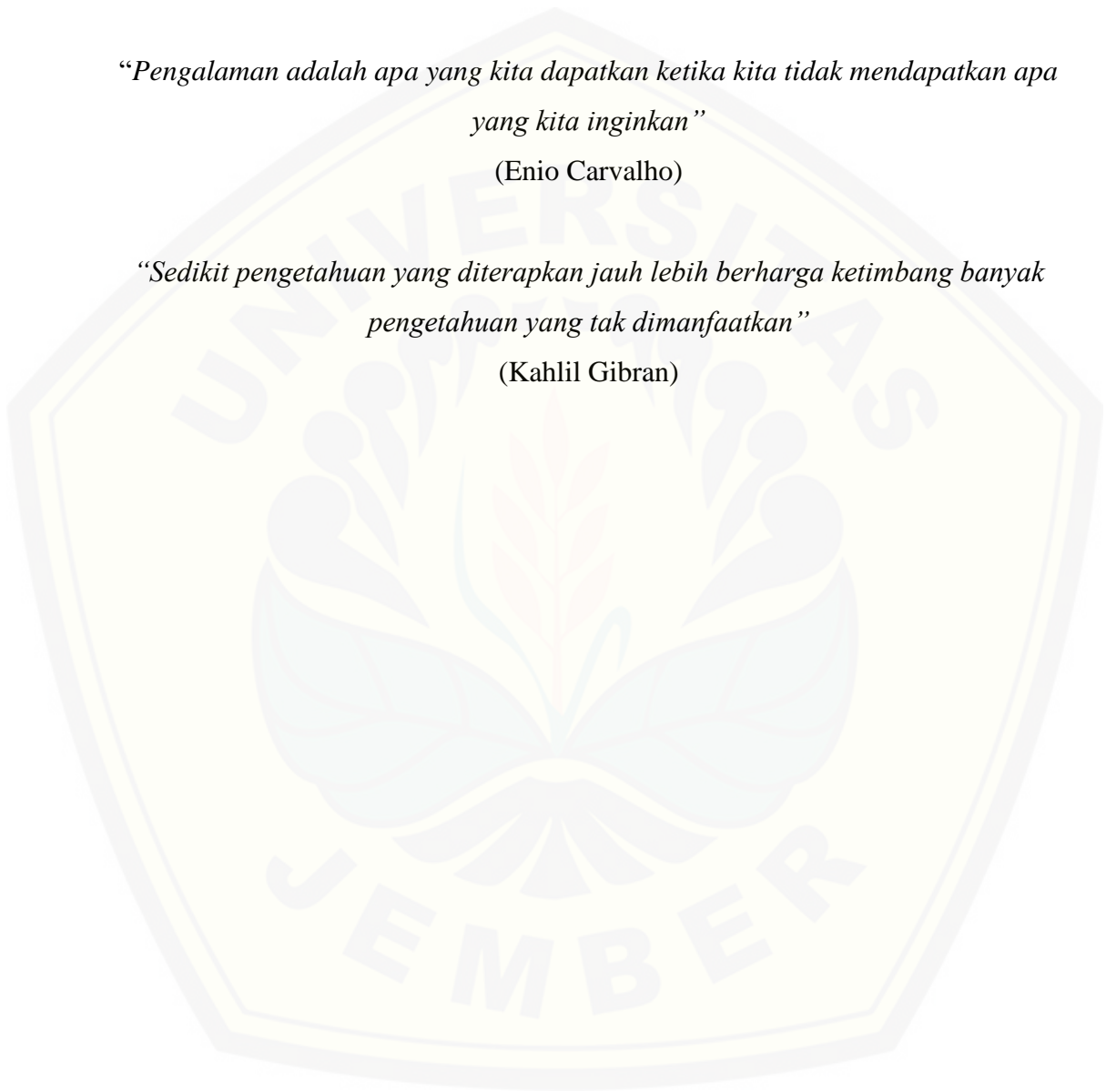
(Q.S Al-Insyirah : 5)

“Pengalaman adalah apa yang kita dapatkan ketika kita tidak mendapatkan apa yang kita inginkan”

(Enio Carvalho)

“Sedikit pengetahuan yang diterapkan jauh lebih berharga ketimbang banyak pengetahuan yang tak dimanfaatkan”

(Kahlil Gibran)



PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Anindya Salsabila

NIM : 151510501148

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “**Uji Efektivitas *Pseudomonas Pendar-Fluor* dalam Mengendalikan Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis pv. glycines*) pada Tanaman Kedelai (*Glycine max L.*)**” adalah benar-benar hasil karya sendiri kecuali jika pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isi sesuai dengan sikap ilmiah yang harus diujung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Juli 2020
yang menyatakan,

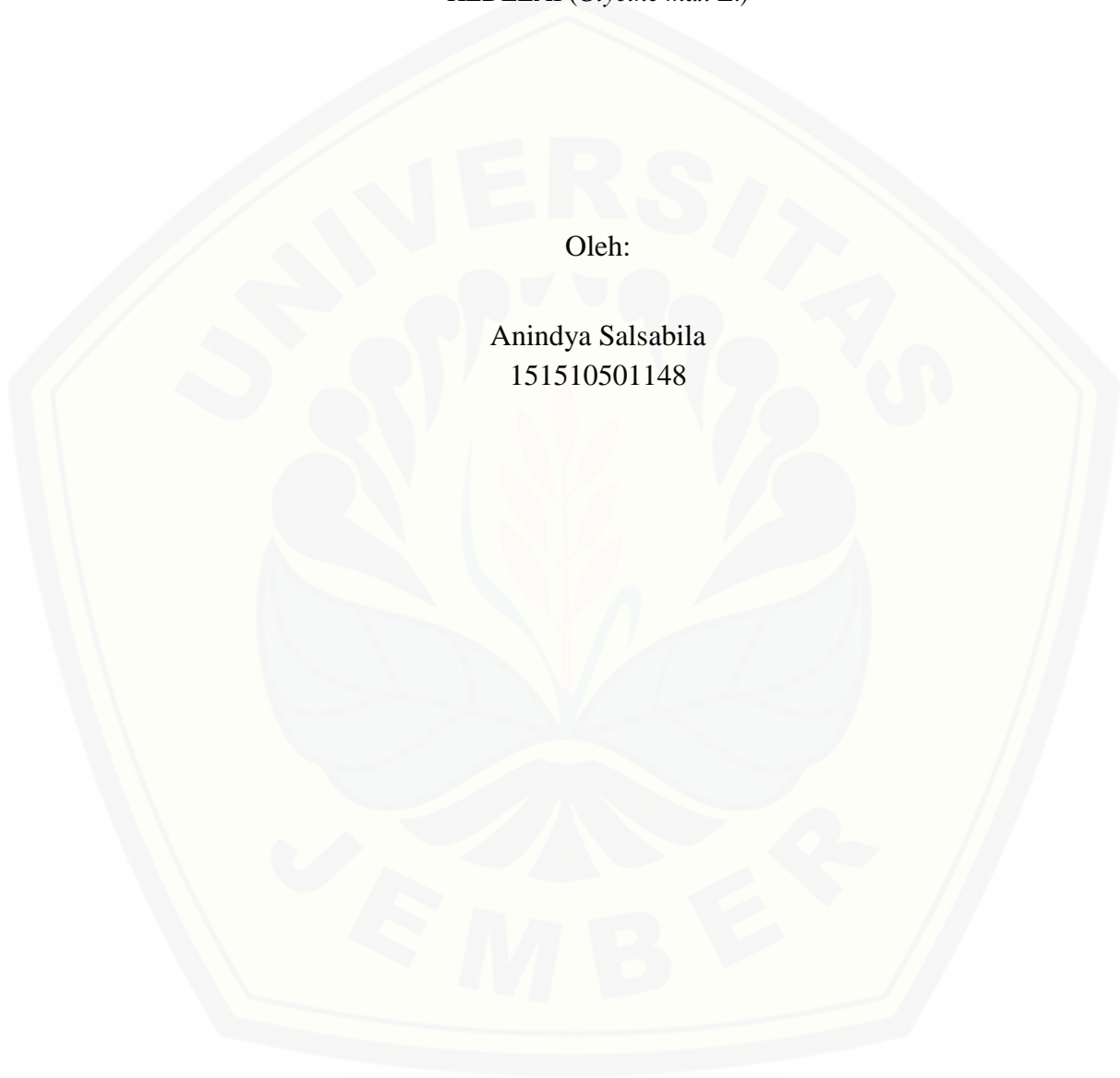
Anindya Salsabila
NIM. 151510501148

SKRIPSI

UJI EFEKTIVITAS *PSEUDOMONAS PENDAR-FLUOR* DALAM MENGENDALIKAN
PUSTUL BAKTERI (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) PADA TANAMAN
KEDELAI (*Glycine max* L.)

Oleh:

Anindya Salsabila
151510501148



Pembimbing:

Dosen Pembimbing Skripsi : Hardian Susilo Addy, S.P., M.P, Ph.D.
NIP. 198011092005011001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Uji Efektivitas *Pseudomonas Pendar-Fluor* dalam Mengendalikan Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.)” telah diuji dan disahkan pada :**

Hari : Rabu
Tanggal : 29 Juli 2020
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi,

Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D.
NIP. 198011092005011001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Ir. Saifuddin Hasjim, MP
NIP. 196208251989021001

Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, MP
NIP. 196004091988022001

**Mengesahkan,
Dekan,**

Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D.
NIP. 196005061987021001

RINGKASAN

Uji Efektivitas *Pseudomonas Pendar-Fluor* dalam Mengendalikan Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.); Anindya Salsabila, 151510501148; 2020 : 81 halaman; Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman pangan jenis polong – polongan. Peranan kedelai sangat penting selain digunakan sebagai bahan pangan, tanaman kedelai dapat digunakan sebagai pupuk hijau dan pakan ternak. Produktivitas (ton) kedelai di Indonesia khususnya di Jember, Jawa Timur dari 4 tahun terakhir yaitu tahun 2015 hingga 2017 mengalami penurunan. Faktor yang mempengaruhi adanya penurunan tersebut yaitu organisme pengganggu tanaman. Serangan OPT pada tanaman kedelai yaitu pustul bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. Pengendalian penyakit pustul bakteri dapat dilakukan dengan penggunaan agen hayati dengan memanfaatkan bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) (*Pseudomonas pendar-fluor*). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas dari beberapa konsentrasi agen hayati dalam mengendalikan penyakit pustul bakteri. Rancangan percobaan yang dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap non faktorial dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, untuk perlakuan yang digunakan yaitu pengaplikasian beberapa konsentrasi (10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, 10^8 cfu/ml dan 10^9 cfu/ml) dan kontrol (tanpa *Pseudomonas pendar-fluor*).

Hasil isolasi dari daun tanaman kedelai yang dilakukan merupakan bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* yang menghasilkan reaksi positif pada uji gram, bersifat patogenik dan memiliki virulensi tinggi yang dapat menyebabkan daun berubah menjadi nekrotik. Bakteri PGPR yang diperoleh isolasi dari akar rumput gajah merupakan bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* karena memiliki pigmen pendar yang dapat dilihat di bawah sinar UV. Bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* termasuk bakteri gram negatif dan sifatnya bukan tergolong patogen. Pengujian secara in vitro bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* dengan menggunakan 3 media YDA, King's B dan NA mampu menghambat perkembangan bakteri *X.*

axonopodis pv. *glycines* dengan menghasilkan diameter zona hambat berupa zona bening yang berbeda-beda dengan rentang diameter 0,81 hingga 1,15 mm dan pada uji in vitro ini mampu menekan perkembangan patogen dengan menghasilkan siderofor dan antibiotik serta bersifat bakteristatik.

Hasil pengujian secara in vivo menunjukkan bahwa interaksi bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* terhadap bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* berpengaruh nyata terhadap keparahan penyakit. Presentase keparahan penyakit tertinggi pada 28 hsi (hari setelah inokulasi) yaitu pada kontrol 40,37%, sedangkan keparahan penyakit paling rendah pada konsentrasi 10^9 cfu/ml sebesar 22,59% dengan nilai efektivitasnya yaitu 39,81%. Pada nilai insidensi penyakit dan laju infeksi tidak berbeda nyata antar perlakuan dengan nilai terendah pada insidensi penyakit konsentrasi 10^9 cfu/ml yaitu 40,12% dan pada nilai laju infeksi konsentrasi 10^7 cfu/ml dan 10^9 cfu/ml yaitu 0,770 unit/hari, sehingga untuk konsentrasi minimal 10^7 cfu/ml sudah mampu mengendalikan penyakit pustul bakteri.

SUMMARY

Effectiveness Test of *Pseudomonas pendar-fluor* in Controlling The Pustule of Bacteria (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) at The Soybean Plants (*Glycines max.* L); Anindya Salsabila, 151510501148; 2020 : 81 pages; Agrotechnology Study Program, Faculty of Agriculture, University of Jember.

Soybean (*Glycine max* L.) is a food crop of legumes. The role of soy is very important besides being used as food, soybean plants can be used as green fertilizer and animal feed. Soybean productivity (tons) in Indonesia, especially in Jember, East Java, has declined from the past 4 years, 2015 to 2017. Factors that influence the decline are plant-disturbing organisms. OPT attack on soybean plants is bacterial pustules caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. Control of bacterial pustules can be done with the use of biological agents by utilizing the bacterium *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) (*Pseudomonas pendar-fluor*). This study was conducted to determine the effectiveness of several concentrations of biological agents in controlling bacterial pustules. The experimental design was carried out using a non-factorial completely randomized design with 5 treatments and 4 replications, for the treatment used the application of several concentrations (10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, 10^8 cfu/ml and 10^9 cfu/ml) and control (without *Pseudomonas pendar-fluor*).

The results of isolation from the leaves of soybean plants were *X. axonopodis* pv. *glycines*, which produce positive reactions in gram tests, are pathogenic and have high virulence which can cause leaves to turn necrotic. The PGPR bacteria obtained by isolation from the roots of elephant grass are *Pseudomonas pendar-fluor* bacteria because they have fluorescent pigments that can be seen under UV light. *Pseudomonas pendar-fluor* bacteria are gram negative bacteria and are not classified as pathogens. In vitro testing of *Pseudomonas pendar-fluor* bacteria using YDA, King's B and NA media was able to inhibit the development of *X. axonopodis* pv. *glycines* by producing inhibition zone diameters in the form of clear zones that vary with a diameter range of 0.81 to 1.15 mm and in this in vitro test is able to suppress the development of

pathogens by producing siderophores and antibiotics as well as being bacteriostatic.

The results of in vivo testing showed that the interaction of *Pseudomonas pendar-fluor* bacteria against *X. axonopodis* pv. *glycines* significantly affect the severity of the disease. The highest percentage of disease severity at 28 hsi (days after inoculation) was 40.37% in control, while the lowest disease severity was at 10^9 cfu/ml with 22.59% with an effectiveness value of 39.81%. The disease incidence and infection rates were not significantly different between treatments with the lowest value at the incidence of the disease concentration of 10^9 cfu / ml which is 40.12% and the infection rate of 10^7 cfu/ml and 10^9 cfu/ml that is 0.770 units/days, so that a minimum concentration of 10^7 cfu/ml is able to control bacterial pustules.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Uji Efektivitas *Pseudomonas Pendar-Fluor* dalam Mengendalikan Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.)**”. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyamakan terimakasih kepada:

1. Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D, DIC. selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama, atas waktu, bimbingan serta kesabaran selama penyusunan skripsi ini.
4. Ir. Saifuddin Hasjim, M.P. dan Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, M.P. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu dan perhatiannya untuk memberikan ilmu serta bimbingannya.
5. Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, M.P. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan.
6. Kedua orang tua saya tercinta Alm. Lucas Nugrah Tjahjono dan Almh. Siti Anjayani yang telah membesarkan dan memberikan kasih sayang walau pada akhirnya meninggalkan saya untuk selamanya. Terimakasih untuk semua jasa – jasa yang tak dapat terbayarkan oleh apapun.
7. Wali saya sebagai pengganti orang tua Bapak Subagio H. Moeljanto, telah mendidik penulis dengan penuh kesabaran, kasih sayang, do’a, dorongan serta semangat yang tiada hentinya diberikan kepada penulis.
8. Kakak saya Arfianto Cahyadi (Arfi) serta seluruh keluarga terutama keluarga di Jember yang selalu memberikan semangat dan bantuan moral maupun materil selama ini.
9. Sahabat – Sahabat penulis Sonya Prasiswa dan Riski Ajiroiba yang selalu memberi semangat, motivasi, serta bantuan kepada penulis untuk segera

menyelesaikan penulisan skripsi ini. Terimakasih kalian selalu menghibur dalam suka maupun duka.

10. Teman – teman agroteknologi angkatan 2015 terutama Hiksa Maulana Saputra, Fimas Ariyanto, Diva Nispi Yolandari dan Mohammad Eno yang selalu membantu, menghibur dan memberikan dukungan kepada penulis.
11. Keluarga Tim Research *Phage Team*, Peneliti CDAST, UKM *Chorus Rusticarum*, IMAGRO, IMHPT serta keluarga besar Agroteknologi 2015 yang telah memberikan dukungan serta pengalaman yang sangat berharga selama perkuliahan.
12. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian karya tulis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya ilmiah tertulis ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyusunan karya ilmiah tertulis ini.

Jember, 29 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR TABEL	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Kedelai.....	4
2.2 Penyakit Pustul Bakteri	4
2.3 Pengendalian Penyakit Pustul Bakteri	6
2.4 Hipotesis	10
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
3.2 Persiapan Penelitian	11
3.2.1 Persiapan Alat dan Bahan.....	11
3.2.2 Persiapan Benih Kedelai.....	11

3.2.3	Persiapan Media Tanam	11
3.2.4	Pengadaan Bakteri Patogen dan Bakteri Antagonis	12
3.2.5	Persiapan Pembuatan Suspensi Bakteri <i>P. pendar-fluor</i>	
	14
3.3	Pelaksanaan Pelitian.....	14
3.3.1	Rancangan Percobaan Uji In Vivo	14
3.3.2	Prosedur Penelitian	15
3.3.3	Variabel Pengamatan	17
3.4	Analisis Data	19
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1	Hasil Penelitian	20
4.1.1	Pengadaan Bakteri Patogen dan Bakteri Antagonis	20
4.1.2	Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri	21
4.1.3	Uji Antagonisme dan Penghambatan <i>Xanthomonas axonopodis</i> <i>pv. glycines</i> Terhadap <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> Secara In Vitro	24
4.1.4	Uji Mekanisme Penghambatan Secara In Vitro	25
4.1.5	Uji Pengendalian dengan Aplikasi <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> Secara In Vivo.....	26
4.2	Pembahasan	33
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1	Kesimpulan.....	40
5.2	Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

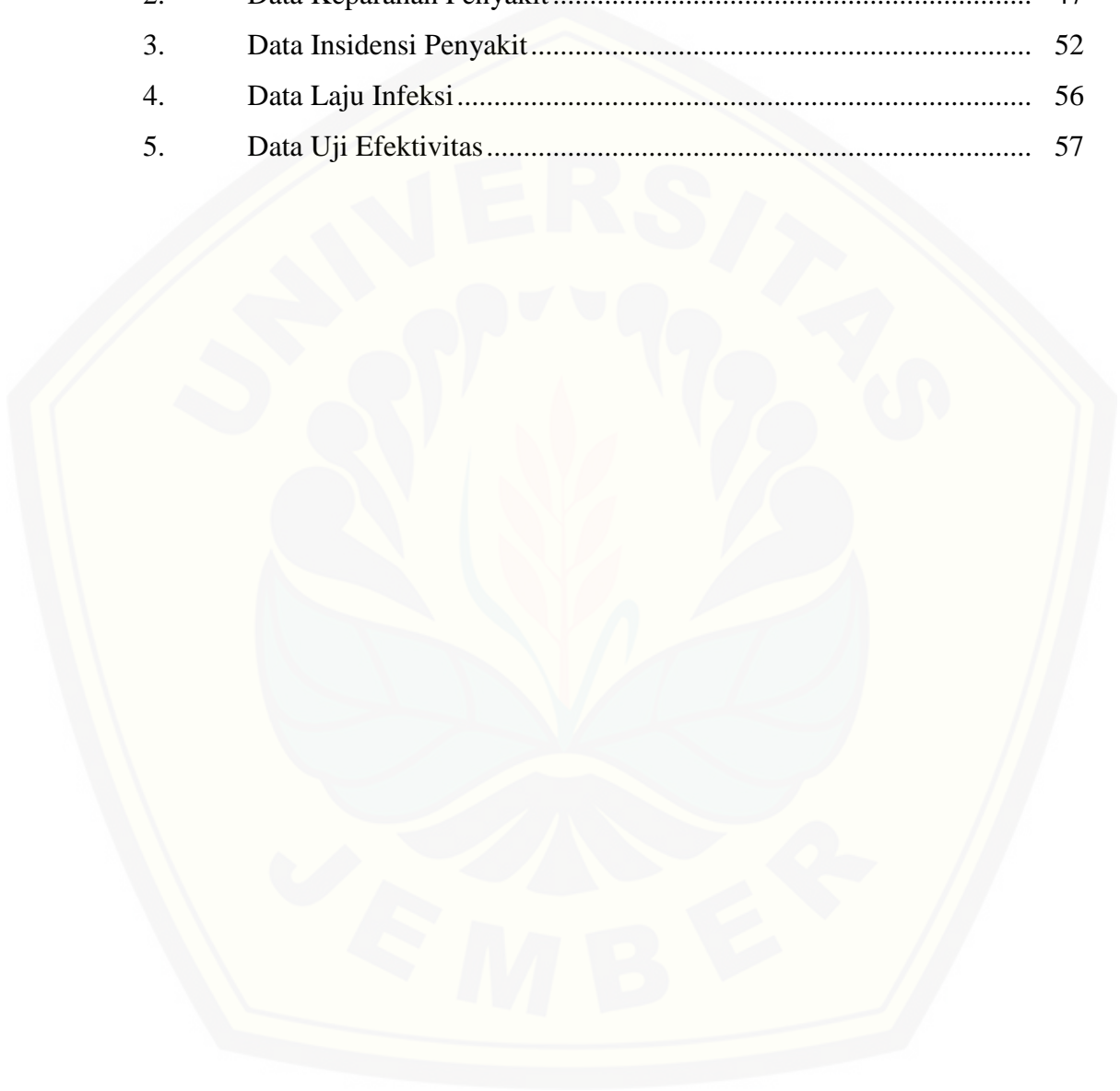
Gambar	Keterangan	Halaman
2.1	Koloni Bakteri <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	5
2.2	Gejala Penyakit Pustul Bakteri Pada Permukaan Daun	6
2.3	Bakteri <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> pada media King's B.....	8
3.1	Denah Rancangan Percobaan.	15
4.1	Karakteristik Bakteri Pustul Kedelai	20
4.2	Koloni Bakteri <i>Pseudomonas pendar-fluor</i>	21
4.3	Pengujian Gram Pada Bakteri Uji	21
4.4.	Uji Respon Hipersensitif Pada Daun Tanaman Tembakau Dengan Bakteri Uji.....	22
4.5	Uji Hidrolisis Pati Pada Bakteri <i>X. axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	22
4.6	Uji Patogenesitas Pada Tanaman Kedelai	23
4.7	Uji Fluoresensi Bakteri <i>P. pendar-fluor</i> Di Bawah Sinar UV	23
4.8	Zona Bening Yang Dihasilkan Oleh Reaksi Penghambatan	24
4.9	Diameter Zona Hambat <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> Terhadap <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> Pada Penggunaan Media Uji Yang Berbeda.....	25
4.10	Pengujian Kekeruhan Pada Air Pepton 0,5%	26
4.11	Hubungan Keparahan Penyakit Pustul Bakteri Terhadap Waktu Pengamatan Dengan Aplikasi Konsentrasi <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> Yang Berbeda	26
4.12	Hubungan Insidensi Penyakit Pustul Bakteri Terhadap Waktu Pengamatan Dengan Aplikasi Konsentrasi <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> Yang Berbeda	28
4.13	Hubungan Laju Infeksi Pustul Bakteri Terhadap Waktu Pengamatan Dengan Aplikasi Konsentrasi <i>Pseudomonas pendar-fluor</i> Yang Berbeda	29

4.14 Hubungan Efektivitas Penyakit Pustul Bakteri Terhadap Waktu
Pengamatan Dengan Aplikasi Konsentrasi *Pseudomonas pendar-fluor*
Yang Berbeda..... 30



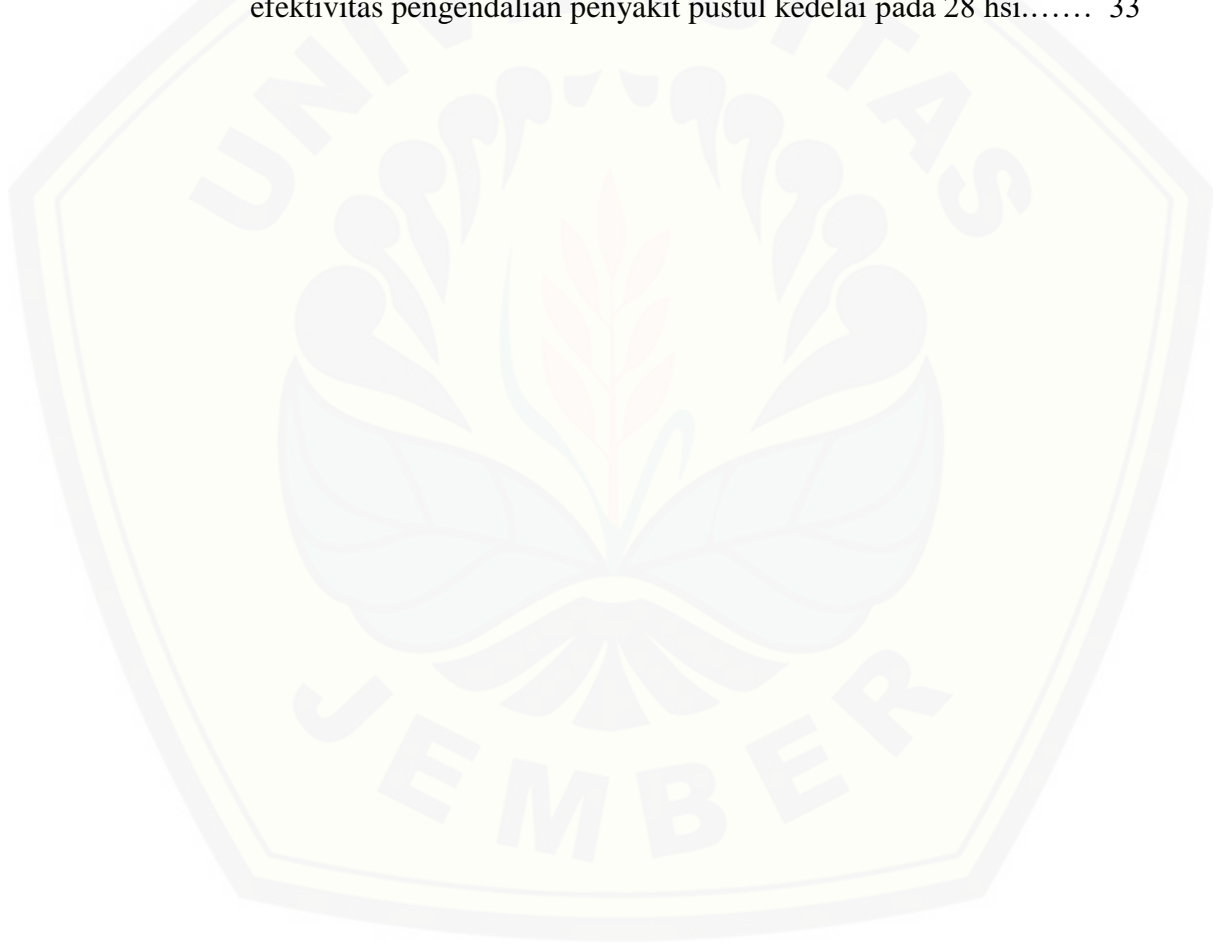
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Keterangan	Halaman
1.	Data Uji In Vitro	46
2.	Data Keparahan Penyakit.....	47
3.	Data Insidensi Penyakit.....	52
4.	Data Laju Infeksi.....	56
5.	Data Uji Efektivitas.....	57



DAFTAR TABEL

Tabel	Keterangan	Halaman
1.	Keparahan penyakit, laju infeksi, insidensi penyakit dan efektivitas pengendalian penyakit pustul kedelai pada 7 hsi.....	31
2.	Keparahan penyakit, laju infeksi, insidensi penyakit dan efektivitas pengendalian penyakit pustul kedelai pada 14 hsi.....	32
3.	Keparahan penyakit, laju infeksi, insidensi penyakit dan efektivitas pengendalian penyakit pustul kedelai pada 21 hsi.....	32
4.	Keparahan penyakit, laju infeksi, insidensi penyakit dan efektivitas pengendalian penyakit pustul kedelai pada 28 hsi.....	33



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman pangan jenis polong – polongan. Bagian tanaman kedelai yang banyak dimanfaatkan yaitu bagian bijinya. Biji kedelai banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan kecap, tahu, tempe dan susu kedelai. Peranan kedelai sangat penting selain digunakan sebagai bahan pangan, tanaman kedelai dapat digunakan sebagai pupuk hijau dan pakan ternak. Menurut Badan Pusat Statistik (2018), produktivitas (ton) kedelai di Indonesia khususnya di Jember, Jawa Timur dari 4 tahun terakhir pada tahun 2015 hingga 2017 mengalami penurunan. Produktivitas (ton) kedelai pada tahun 2015 sebanyak 25.178, tahun 2016 sebanyak 22.027 dan untuk tahun 2017 sebanyak 12.712. Penurunan produktivitas kedelai tersebut dapat disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya organisme pengganggu tanaman. Menurut Balitkabi (2019), Serangan organisme pengganggu tanaman yang dapat mempengaruhi produktivitas tanaman kedelai yaitu pustul bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*.

Penyakit pustul bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* merupakan patogen penting pada tanaman kedelai. Menurut Khaeruni *et al.* (2018), Penyakit pustul bakteri telah menyebar di pusat-pusat tanaman kedelai di Indonesia seperti Jawa Barat, Jawa Tengah, Yogyakarta, Lampung, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, dan Sumatera Barat. Penyakit pustul bakteri menyebar melalui biji, angin dan air serta dalam kondisi yang lembab dapat menurunkan hasil sekitar 21 – 40 %. Gejala dari penyakit pustul bakteri yaitu berupa bercak kecil berwarna hijau pucat, tampak pada kedua permukaan daun, menonjol pada bagian tengah lalu menjadi bisul warna coklat muda atau putih pada permukaan bawah daun dan pada intensitas serangan yang berat dapat menyebabkan daun gugur (Pratama dkk., 2013).

Adanya serangan penyakit pustul bakteri pada tanaman kedelai tersebut perlu dilakukan adanya kegiatan pengendalian. Pengendalian penyakit pustul bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara dengan menanam benih bebas

patogen, membenamkan sisa tanaman terinfeksi dan hindari rotasi dengan buncis dan kacang tunggak (Pratama dkk., 2013). Menurut Rukayadi *et al.* (2000), penggunaan varietas tahan dalam mengendalikan penyakit pustul bakteri kurang efektif dikarenakan strain dari *X. axonopodis* pv. *glycines* sangat beragam sehingga dapat mempersulit dalam memilih tanaman kedelai yang tahan terhadap patogen tersebut. Selain itu penggunaan bakterisida juga dapat menyebabkan masalah kesehatan dan lingkungan sehingga menyebabkan adanya residu (Manyi-Loh *et al.*, 2018). Oleh karena itu alternatif pengendalian yang tepat untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri kedelai yakni dengan penggunaan agen hayati.

Pengendalian dengan penggunaan agen hayati dengan memanfaatkan bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dan menekan penyakit tanaman (Santosa *et al.*, 2018). Bakteri ini hidup dan berkembang dengan memanfaatkan eksudat akar yang dikeluarkan oleh perakaran tanaman. Manfaat yang dihasilkan oleh PGPR yaitu menghasilkan fitohormon, sebagai pupuk hayati dan sebagai bioprotektan (Meidiantie dkk., 2010). PGPR memiliki jumlah strain paling banyak dari genus *Pseudomonas* dan beberapa dari genus *Serratia*. Selain kedua genus tersebut dilaporkan antara lain genus *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Falvobacterium*, dan *Bacillus* (Shofiah dan Setyono, 2018).

Pemanfaatan *Pseudomonas pendar-fluor* banyak digunakan para peneliti sebagai agen pengendalian terhadap penyakit tanaman khususnya pada penyakit tanaman filosfer. Pemanfaatan *Pseudomonas pendar-fluor* tersebut digunakan pada konsentrasi 10^8 cfu/ml mampu menekan penyakit patik tanaman tembakau yang disebabkan oleh *Cercospora nicotianae* sebesar 50% (Addy, 2007) dan konsentrasi 10^9 cfu/ml mampu menekan penyakit bulai pada tanaman jagung yang disebabkan oleh *Perenosclerospora maydis* sebesar 33% hingga 50% (Jatnika dkk., 2013). Hal tersebut mengindikasikan bahwa kemampuan *Pseudomonas pendar-fluor* dalam mengendalikan sangat tergantung pada konsentrasi bakteri antagonis dan jenis patogen targetnya.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana efektivitas beberapa konsentrasi *Pseudomonas pendar-fluor* dalam mengendalikan penyakit pustul bakteri pada tanaman kedelai ?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mendapatkan konsentrasi *Pseudomonas pendar-fluor* yang efektif dalam mengendalikan pustul bakteri pada tanaman kedelai.

1.4 Manfaat Penelitian

Data yang didapat diharapkan mampu memberikan informasi baru bagi masyarakat luas dan khususnya bagi petani kedelai sehingga petani dapat mencegah adanya penyebaran dan penularan penyakit pustul bakteri serta dapat dijadikan acuan untuk penelitian berikutnya.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kedelai

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman jenis polong-polongan. Kedelai dikenal dengan beberapa nama lokal yaitu kedele, kacang jepung, kacang bulu, gadela, dan demokam. Di Jepang dikenal adanya kedelai rebus (Edamame) atau kedelai manis dan kedelai hitam (Koramame), sedangkan nama umum di dunia disebut *Soybean* (Pitojo, 2003). Kedelai mempunyai banyak kegunaan dalam kehidupan manusia. Kedelai yang banyak dimanfaatkan oleh manusia yaitu bijinya. Biji kedelai dapat diolah menjadi berbagai jenis makanan seperti tahu, tempe, tauco, kecap dan susu sari kedelai. Penggunaan kedelai dalam industri pengolahan hasil pertanian digunakan sebagai bahan pakan dan minyak nabati.

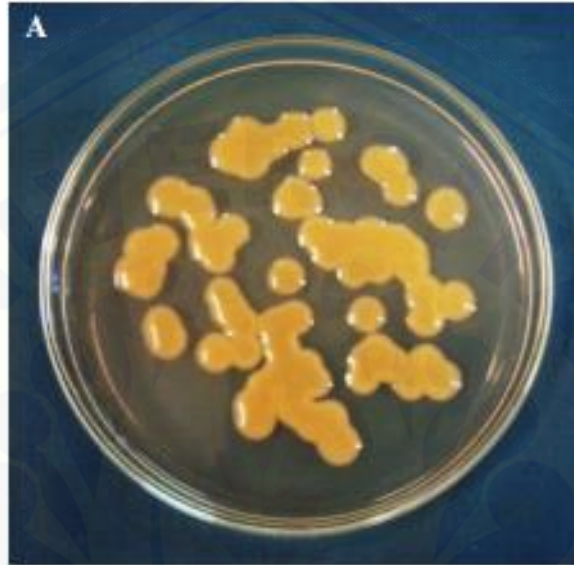
Menurut Fachruddin (2000), Tanaman kedelai cocok ditanam pada lahan terbuka, yang terdapat di daerah yang panas. Di Indonesia tanaman kedelai dapat tumbuh dengan baik di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian 1200 mdpl. Suhu optimal bagi pertumbuhan tanaman kedelai yaitu antara 25°-30°C. Curah hujan berkisar antara 150-200 mm/bulan dengan lama penyinaran matahari 12 jam/hari dan kelembapan rata-rata 65%. Tanaman kedelai dapat ditanam pada berbagai jenis tanah dengan drainase dan aerasi yang baik. Nilai PH bagi pertumbuhan tanaman kedelai dan bakteri *Rhizobium* adalah 6,0-6,8, dan apabila pH di atas 7,0 maka tanaman kedelai akan mengalami *klorosis* sehingga tanaman menjadi kerdil dan daunnya menguning.

2.2 Penyakit Pustul Bakteri

2.2.1 Penyebab Penyakit

Penyakit pustul bakteri merupakan penyakit penting pada tanaman kedelai yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. Patogen ini menyerang tanaman kedelai. Bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* yang dahulu disebut *X. campestris* pv. *glycines*. Bakteri berbentuk batang dengan flagellum polar, membentuk kapsula, tidak membentuk spora, biakan berwarna putih kekuningan (Gambar 2.1), bundar, permukaan dan tepinya halus serta berlendir.

Bakteri mempertahankan diri pada sisa-sisa tanaman sakit dan dalam biji (Semangun, 2011). *X. axonopodis* pv. *glycines* disamping menyerang daun kedelai juga merupakan patogen terbawa benih (Khaeruni dkk., 2007). Penyakit berkembang pada cuaca basah dan suhu yang relatif tinggi dengan suhu optimum 30-35°C.



Gambar 2.1 Koloni Bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (Violatti dan Tebaldi, 2016)

Penyakit dipengaruhi oleh umur tanaman. Gejala penyakit biasanya mulai tampak pada tanaman kedelai setengah umur kurang lebih 40 hari setelah tanam dan semakin parah dengan bertambahnya umur tanaman. Bakteri penyebab penyakit ini bertahan pada beberapa jenis gulma, *Dolichos biflorus*, buncis subspecies tertentu, dan kacang tunggak (Semangun, 1991). Tanaman inang selain kedelai antara lain kacang kratok (*Phaseolus lunatus*), kacang buncis (*P. vulgaris*), dan kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Patogen bertahan hidup pada sisa-sisa tanaman sakit. Penyebaran patogen terutama melalui angin dan tetesan air. Patogen menginfeksi tanaman melalui lubang alami (stomata) dan luka (Inayati dan Eriyanto, 2011).

2.2.2 Gejala penyakit pustul bakteri

Gejala penyakit pustul bakteri pada kedelai mula-mulanya pada daun terjadi bercak kecil hijau kekuningan dengan bagian tengahnya agak menonjol (Gambar 2.2). Bercak berkembang menjadi lebih besar dan bagian tengahnya terutama pada bagian bawah daun terdapat tonjolan berwarna coklat muda. Bercak mempunyai ukuran yang bervariasi dari satu bercak kecil hingga bercak besar yang tidak teratur yang terjadi karena bersatunya banyak bercak. Bercak mengering dan sering menjadi sobek-sobek. Pada polong varietas yang rentan penyakit ini menyebabkan terjadinya bercak kecil berwarna coklat kemerahan (Semangun, 1991). Menurut Inayati dan Eriyanto (2011), Gejala terlihat pada permukaan atas dan bawah daun dan ditandai dengan bercak kecil berwarna hijau pucat pada bagian tengah membentuk bisul berwarna coklat. Kumpulan bercak yang menjadi satu menyebabkan daun nekrotik dan mudah robek terutama pada saat tertiuap angin dan pada infeksi berat menyebabkan daun gugur.



Gambar 2.2 Gejala penyakit pustul bakteri pada permukaan daun (Inayati dan Eriyanto, 2011).

2.3 Pengendalian Penyakit Pustul Bakteri

2.3.1 *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)

Teknik pengendalian yang dilakukan untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri pada tanaman kedelai yaitu dengan penggunaan agen hayati berupa PGPR yaitu dengan memanfaatkan bakteri *Pseudomonas pendar-fluor*. PGPR adalah suatu bakteri yang mengkoloni perakaran tanaman dan bermanfaat bagi

pertumbuhan tanaman. Bakteri ini hidup dengan memanfaatkan eksudat akar yang dikeluarkan oleh perakaran tanaman. Manfaat dari PGPR bagi tanaman yaitu (Meidiantie dkk., 2010):

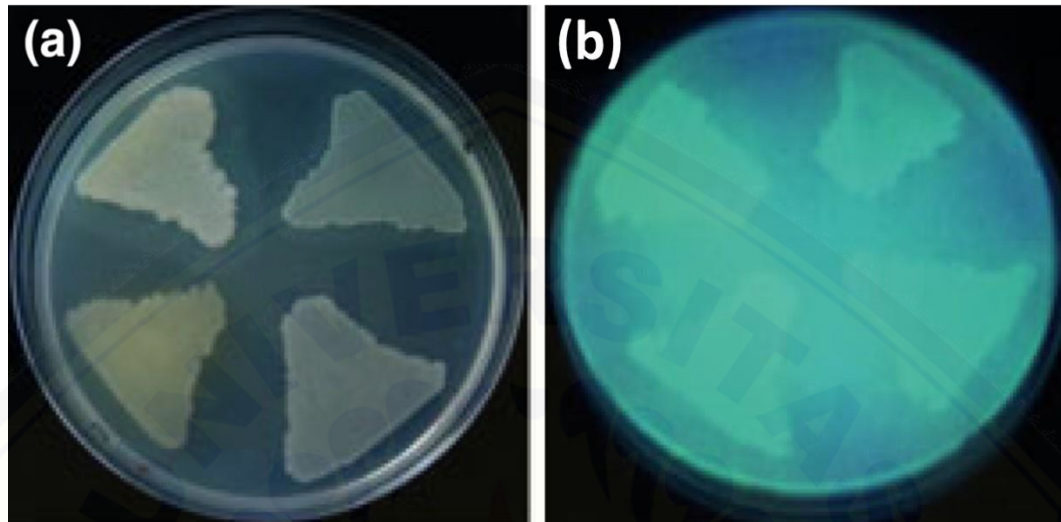
1. Menghasilkan fitohormon yaitu IAA (*Indole Acetic Acid*), sitokinin, giberelin dan senyawa penghambat produksi etilen
2. Sebagai pupuk hayati (biofertilizer), karena PGPR dapat membuat unsur hara (fiksasi nitrogen bebas yang ditransfer ke dalam tanaman dan melarutkan mineral seperti fosfor) yang ada di dalam tanah sehingga mudah diserap oleh tanaman melalui proses mineralisasi dan transformasi
3. Sebagai bioprotektan yaitu kemampuan untuk mengendalikan hama dan penyakit dengan cara menghasilkan antibiotik dan menginduksi tanaman untuk memproduksi senyawa ketahanan

Mekanisme dari mikroba PGPR yaitu dapat menekan perkembangan penyakit dan hama (*bioprotectant*), memproduksi fitohormon (biostimulant) seperti IAA, sitokinin dan giberelin, menghambat produksi etilen dan meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman (*biofertilizer*) (Meidiantie dkk., 2010). Penerapan PGPR yang disebut dengan rhizobakteri mampu menyelubungi sepanjang permukaan akar karena keaktifan pengolonian akar tersebut, akar menyerap produk mikroba yang secara langsung memengaruhi pertumbuhan dan fisiologis akar (Soesanto, 2008). Produk mikroba yang dihasilkan berupa siderofor yang mengkhelat Fe, antibiotik, kompetitor pesaing patogen, dan merangsang pembentukan hormone pertumbuhan tanaman, sehingga dapat mendukung proses fisiologis tanaman (Cahyani dkk., 2017).

2.3.2 Bakteri Antagonis *Pseudomonas pendar-fluor*

Bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* merupakan golongan bakteri yang berpotensi sebagai antagonis karena memproduksi antibiotik dan berpengaruh terhadap patogen tanaman. Kelompok bakteri *P. pendar-fluor* yaitu *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, dan *P. syringae* memiliki karakteristik yang hampir sama dengan sesama kelompoknya. Menurut Nepali *et al* (2018), Spesies pada *Pseudomonas* memiliki ciri bentuk batang umum, Gram

negatif, satu atau lebih flagela polar, bersifat aerobik, non-spora, positif uji katalase, uji oksidase positif, saprofit non patogenik yang menjajah tanah, air dan lingkungan permukaan tanaman.



Gambar 2.3 Bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* pada media King's B yang diamati di bawah cahaya lampu TL (a) dan di bawah sinar UV (b) (Lamichhane and Varvaro, 2013).

Bakteri *P. fluorescens* memperbanyak diri pada permukaan akar dan dapat mencapai 800 juta sel per sistem perakaran tanaman. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *P. fluorescens* mempunyai peranan penting dalam pengendalian hayati penyakit tanaman salah satu perannya adalah sebagai siderofor yang memperlihatkan pengaruh fungistatis dan bakterioistatis di laboratorium. Siderofor tersebut nantinya mengkhelat Fe sehingga menjadikannya tidak tersedia bagi patogen (Cahyani dkk., 2017). Pada spesies *P. putida* menghasilkan antibiotik seperti *pyrolnitrin*, *pyocyanin*, asam pseudomonat, floroglusinol dan fenazin. Sedangkan siderofor diproduksi secara luarsel yang mempunyai daya ikat sangat kuat terhadap besi dan berperan sebagai penghambat pertumbuhan patogen, faktor pertumbuhan tanaman dan sebagai antibiotika (Soesanto, 2008).

2.3.3 Potensi Bakteri *Pseudomonas pendar-fluor*

Pengendalian penyakit pustul bakteri dapat dilakukan dengan memanfaatkan bakteri *Pseudomonas pendar-fluor*. Bakteri golongan *Pseudomonas pendar-fluor* mempunyai sifat PGPR nyata yang memacu pertumbuhan tanaman pada kondisi lahan yang baik. Bakteri mempunyai tipe interaksi dengan patogen berupa persaingan hara, penghasil anti biotika, siderofor dan asam sianida (Soesanto, 2008). Menurut Addy (2008), Bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* diketahui dapat hidup di rhizosfer, filoplen dan filosfer tanaman. Kemampuan bakteri antagonis bertahan hidup di rhizosfer dan filosfer merupakan salah satu faktor penting dalam mengendalikan patogen yang menginfeksi pada daun. Sehingga adanya hal tersebut bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* memiliki banyak potensi.

Potensi kelompok bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* terhadap pengendalian penyakit tanaman banyak diterapkan yaitu *P. fluorescens* terhadap penyakit embun upas, bakteri pengimbas roset, atau *Erwinia amylovora* pada tanaman buah dan sayur serta pengaplikasian dengan cara disemprot. Pengendalian penyakit hawar kalang (*halo blight*) pada tanaman kacang buncis yang disebabkan oleh *P. syringae* pv. *phaseolicola* dengan perlakuan benih dengan konsentrasi 10^8 cfu/ml mampu menekan keparahan penyakit 38-50% (Alstrom, 1991). Pengendalian penyakit *Fusarium oxysporum* sp. *lycopersici* pada tanaman tomat dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml yang mampu menekan keparahan penyakit 9,53% dengan penurunan intensitas keparahannya 66-77,83 % (Soesanto dkk., 2010). Pengendalian penyakit patik (*Cercospora nicotianae*) pada tanaman tembakau dengan konsentrasi 10^8 cfu/ml yang mampu menekan perkembangan penyakit hingga 50% (Addy, 2008) dan pengendalian penyakit busuk lunak pada tanaman anggrek yang disebabkan oleh *Pseudomonas viridiflava* dengan penggunaan konsentrasi 10^9 cfu/ml yang mampu menekan penyakit sebesar 41,55% (Nuryani dkk., 2012). Pengendalian penyakit pustul bakteri kedelai yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* dengan penggunaan konsentrasi 10^8 cfu/ml yang memiliki efektivitas 44-54% (Dirmawati, 2005). Pengendalian penyakit layu bakteri pada tanaman kacang tanah dengan penggunaan konsentrasi 10^7 cfu/ml memiliki efektifitas 69,3-92,3% (Suryadi, 2009). Namun pada

konsentrasi yang sama (10^7 cfu/ml), bakteri ini tidak efektif menekan patogen *Penicillium digitatum* (Wang *et al.*, 2018).

2.4 Hipotesis

Aplikasi *Pseudomonas pendar-fluor* pada konsentrasi minimal 10^7 cfu/ml efektif menekan serangan penyakit pustul bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) pada tanaman kedelai (*Glycine max* L.).



BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mengenai Uji Efektivitas *Pseudomonas pendar-fluor* Dalam Mengendalikan Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) dilakukan di Green House dan Laboratorium Divisi Bioteknologi dan Biomolekular CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) yang dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 sampai Februari 2020.

3.2 Persiapan Penelitian

3.2.1 Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laminar air flow, autoclave, jarum ose, bunsen, cawan petri, beaker glass, erlenmeyer, polibag, kertas saring, plastik bening, wrap, botol semprot. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu media YDA, ddH₂O, alkohol 70%, aquades, media King's B, air steril, buffer, KOH 3%, media NB cair, media NA, media pati, air pepton 0,5%.

3.2.2 Persiapan Benih Kedelai

Benih yang digunakan yaitu varietas benih Anjasmoro. Kegiatan persiapan benih yang dilakukan yaitu dengan sterilisasi benih kedelai dengan menggunakan clorox dengan dimasukan pada beaker glass dan disemprot klorox 10% sebanyak 3 kali kemudian dicuci menggunakan aquades sebanyak 3 kali. Proses berikutnya yaitu merendam benih kedelai selama satu malam dengan ddH₂O.

3.2.3 Persiapan Media Tanam

Kegiatan persiapan media tanam yang dilakukan yaitu dengan menyiapkan media polibag ukuran minimal 30 cm, media tanam tanah dan kompos dengan komposisi 3:2, sedangkan untuk penggunaan pupuk dasar yang digunakan yaitu pupuk Urea, TSP dan KCl. Rekomendasi pupuk yang digunakan sebanyak Urea 50 kg/ha, TSP 200 kg/ha dan KCl 100 kg/ha sehingga didapatkan hasil

penggunaan pupuk yang di aplikasikan pada tiap tanaman masing-masing sebanyak Urea 0,3125 gr/tanaman, TSP 1,25 gr/tanaman dan KCl 0,625 gr/tanaman. Pupuk dimasukkan ke dalam lubang di sisi kanan dan sisi kiri lubang tanam sedalam 5 cm (Fachruddin, 2000).

3.2.4 Pengadaan bakteri patogen dan bakteri antagonis

3.2.4.1 Isolasi bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* dan *Pseudomonas pendar-fluor*

Isolasi *X. axonopodis* pv. *glycines* diawali dengan pengambilan sampel dilakukan dilahan pertanaman kedelai yang terinfeksi penyakit pustul bakteri. Sampel yang digunakan yaitu sampel daun tanaman yang sakit setelah itu memotong bagian tanaman yang sakit kemudian disterilkan dengan menggunakan clorox dan aquades setelah itu di biakkan pada media YDA (*Yeast Dekstrose Agar*) dan diinkubasi selama 48 jam kemudian dilakukan reisolasi kembali pada media YDA untuk mendapatkan biakan murni.

Isolasi bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* diperoleh dari sampel akar rumput gajah. Sebanyak 10 gram tanah rizosfer beserta akar disuspensikan dalam erlenmeyer 50 ml dan digojok selama 24 jam. Selanjutnya ditumbuhkan pada media King's B dengan jarum oce dengan metode streak plate kemudian diinkubasi 24 hingga 48 jam. Setelah itu koloni diambil dan dimurnikan pada 4 ml media NB kemudian di gojok selama 24 jam. Sebanyak 100 μ l ditumbuhkan pada media King's B dengan menggunakan L glass dan diinkubasi 24 jam. Koloni bakteri tunggal yang berpendar digoreskan dengan jarum oce pada media king's B dan disimpan sebagai biakan murni.

3.2.4.2 Identifikasi dan karakterisasi Bakteri

a. Uji Gram

Pengujian dilakukan untuk membedakan bakteri ke dalam dua kelompok besar berdasarkan struktur dinding sel bakteri yaitu bakteri gram positif dan bakteri Gram negatif (Departemen Pertanian Badan Karantina Pertanian, 2008). Kegiatan uji Gram dilakukan dengan mengambil suspensi bakteri dengan menggunakan jarum ose kemudian di letakkan pada objek glass kemudian di

tambah dengan larutan KOH 3% dan diamati apabila jarum ose tersebut di angkat kemudian berlendir maka bakteri tersebut bersifat Gram negatif reaksi positif dan apabila jarum ose di angkat kemudian tidak berlendir bakteri tersebut bersifat Gram positif reaksi negatif (Kurnia dkk., 2016).

b. Uji Respon Hipersensitif

Kegiatan uji hipersensitif merupakan teknik diagnosis yang baik untuk memisahkan bakteri patogenik dan non patogenik (Departemen Pertanian Badan Karantina Pertanian, 2008). Kegiatan ini dilakukan dengan menggunakan daun tembakau. Kegiatan yang dilakukan dengan menyuntikkan jaringan daun tembakau dengan suspensi bakteri patogen kemudian di inkubasi selama 24 jam, di amati apabila bakteri tersebut bersifat patogen maka permukaan daun tembakau yang di lukai dengan suspensi bakteri berubah warna (nekrotik) maka bakteri tersebut bersifat patogen (Wulandari dkk., 2012).

c. Uji Hidrolisis Pati

Kegiatan uji hidrolisis pati dilakukan dengan menyiapkan suspensi bakteri 50 μ L. Suspensi bakteri uji diinokulasi pada media pati kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu di tetesi dengan larutan lugol. Uji positif ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar daerah inokulasi (Wahyuni dkk., 2014).

d. Uji Patogenesitas

Kegiatan uji patogenesitas dilakukan dengan meginfeksi daun tanaman kedelai dengan cara menyuntikkan pada bagian bawah daun tanaman kedelai dengan menggunakan suspensi bakteri patogen. Hasil positif ditandai dengan adanya bercak pustule pada daun tanaman kedelai tersebut setelah dilakukan inkubasi selama 7 hari.

e. Uji Fluoresensi (pendar fluor)

Kegiatan uji fluoresensi ini dilakukan dengan menyiapkan isolat bakteri yang diduga dari golongan bakteri berpendar, mengambil koloni tunggal yang ada

dengan jarum ose, menggoreskan koloni bakteri ke media King's B. Kemudian menginkubasi bakteri dan melakukan pengamatan selama 24, 48, dan 72 jam. Di amati dengan menggunakan sinar UV untuk melihat bakteri tersebut berpendar atau tidak. Bentuk dan warna koloni diamati secara visual dengan mata telanjang dengan sinar ultra violet dengan panjang gelombang 365 nm (Arwiyanto dkk., 2007).

3.2.5 Persiapan Pembuatan Suspensi Bakteri *Pseudomonas pendar-fluor*

Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* dilakukan dengan mensuspensikan 1 cawan petri biakan *Pseudomonas pendar-fluor* dan kemudian dilakukan pengenceran hingga mendapatkan konsentrasi yang sesuai dengan perlakuan yaitu 10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, 10^8 cfu/ml dan 10^9 cfu/ml, setelah itu diberi aquades sebanyak 100 ml. Suspensi tersebut digunakan untuk uji antagonisme terhadap *X. axonopodis* pv. *glycines* secara in vivo sebelum tanaman uji di inokulasi bakteri patogen.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan Uji In Vivo

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga didapatkan total perlakuan sebanyak 20 satuan percobaan, rancangan dilakukan untuk parameter keparahan penyakit, laju infeksi, kejadian penyakit dan uji efektivitas. Perlakuan yang digunakan yaitu

P0 = Kontrol (Tanpa perlakuan *Pseudomonas pendar-fluor*)

P1 = *Pseudomonas pendar-fluor* konsentrasi 10^6 cfu/ml

P2 = *Pseudomonas pendar-fluor* konsentrasi 10^7 cfu/ml

P3 = *Pseudomonas pendar-fluor* konsentrasi 10^8 cfu/ml

P4 = *Pseudomonas pendar-fluor* konsentrasi 10^9 cfu/ml

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal sehingga denah percobaan penelitian (Gambar 3.1) adalah sebagai berikut:

P0	P3	P4	P1
P3	P1	P0	P3
P2	P0	P2	P1
P1	P2	P4	P3
P2	P4	P0	P4

Gambar 3.1 Denah Rancangan Percobaan

3.3.2 Prosedur Penelitian

3.3.2.1 Penanaman Benih Kedelai

Penanaman benih kedelai dilakukan dengan menggunakan tugal kecil sedalam 3-4 cm. Benih kedelai di tanam sebanyak 2-3 benih dalam tiap polibag. Benih yang telah ditanam kemudian ditutup dengan menggunakan tanah tipis (Fachruddin, 2000).

3.3.2.2 Uji Antagonisme dan Penghambatan *Pseudomonas pendar-fluor* dengan *X. axonopodis* pv. *glycines* Secara In Vitro

Uji antagonisme dilakukan untuk mengetahui pengaruh terhadap daya antagonistik *Pseudomonas pendar-fluor* dalam mengendalikan patogen pustul bakteri kedelai (*X. axonopodis* pv. *glycines*). Bakteri antagonis ditumbuhkan pada medium uji King's B dalam petridish, masing-masing petridish 4 titik biakan, kemudian menginkubasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Setelah inkubasi petridish dibalik dan pada tutupnya ditetesi dengan 1 ml kloroform dan dibiarkan selama 2 jam hingga semua kloroform menguap kemudian petridish dibalik seperti keadaan semula. Sebanyak 0,2 ml suspensi *X. axonopodis* pv. *glycines* yang berumur 24 jam dicampur dengan 4 ml agar air 0,5 % suhu 50°C, dan dituang di atas biakan bakteri antagonis. Hasilnya kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 24 jam. Pengamatan didasarkan pada luas zona penghambatan yang terbentuk (Addy, 2007).

3.3.2.3 Uji Mekanisme Penghambatan Secara In Vitro

Kegiatan uji mekanisme penghambatan dilakukan setelah zona diukur kemudian agar yang bening di zona hambatan diambil dan dimasukkan ke dalam medium air pepton 0,5% dan diinkubasikan secara aerob selama 24 jam pada suhu kamar. Air pepton yang tetap jernih menunjukkan bahwa zat penghambat yang dihasilkan dapat mematikan bakteri yg lain (bakterisida) sedangkan jika menjadi keruh maka zat penghambat tersebut hanya menekan pertumbuhan vegetatif saja (bakteriostatik) (Arwiyanto dkk., 2007).

3.3.2.4 Uji Pengendalian Secara In Vivo

a. Inokulasi *Pseudomonas pendar-fluor* Pada Tanaman Kedelai

Kegiatan inokulasi suspensi *Pseudomonas pendar-fluor* dilakukan dengan menyiram pada akar tanaman sebanyak 50 ml dan disemprotkan pada bagian bawah daun tanaman kedelai sebanyak 50 ml pada saat berumur 20 hst (hari setelah tanam) dengan masing-masing perlakuan pengenceran diberi aquades hingga mencapai 100 ml/tanaman yang di aplikasikan secara di semprot dan disiram (Megasari dkk., 2017).

b. Inokulasi Patogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Pada Tanaman Kedelai

Kegiatan inokulasi bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* dengan konsentrasi 10^8 cfu/ml dilakukan pada tanaman kedelai umur 23 hst (hari setelah tanam) dengan cara ditusuk dengan menggunakan jarum. Jumlah suspensi yang digunakan adalah 10 ml/tanaman dengan menggunakan alat semprot plastik (Megasari dkk., 2017).

3.3.2.5 Perawatan dan pemeliharaan tanaman

Perawatan tanaman kedelai yang dilakukan adalah dengan menyiram tanaman kedelai sesuai dengan kebutuhan akan tetapi tanah tidak disarankan sampai menggenang karena dapat menyebabkan tanaman menjadi busuk,

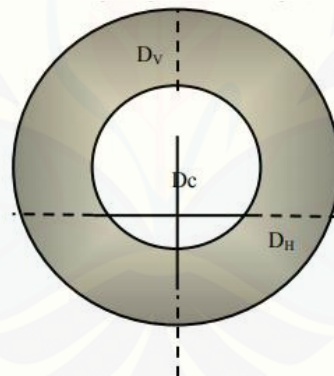
sedangkan untuk kegiatan pemeliharaan dilakukan dengan pengendalian gulmanya dengan cara dicabut dengan menggunakan tangan.

3.3.3 Variabel Pengamatan

3.3.3.1 Pengamatan In Vitro

- a. Kemampuan Penghambat *Pseudomonas pendar-fluor* terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*

Kegiatan pengamatan dalam kemampuan penghambat dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat setelah dilakukan uji daya hambat. Pengamatan dilakukan selama 24 jam masa inkubasi. Zona bening sekitar cakram merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan luas zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong.



Rumus yang digunakan untuk menghitung diameter zona hambat yaitu (Toy dkk., 2015)

$$\frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

Keterangan :



- : Zona hambat
- D_v : Diameter vertikal
- D_h : Diameter horisontal
- D_c : Diameter cakram

3.3.3.2 Pengamatan In Vivo

a. Keparahan Penyakit

Pengamatan gejala dilakukan dengan pengamatan morfologi gejala pustul bakteri. Setelah dilakukan inokulasi maka dilihat keparahan penyakit. Pengamatan dilakukan 1 minggu sekali selama 5 kali pengamatan (Khaeruni dkk., 2008).. Keparahan penyakit dihitung dan diamati pada setiap individu tanaman dengan menggunakan rumus (Khaeruni dkk., 2008) :

$$KP = \frac{\sum(n.v)}{N.Z} \times 100\%$$

dimana KP = Keparahan penyakit, n = Jumlah daun yang sakit, v = Nilai numerik masing-masing kategori serangan, N = Jumlah daun yang diamati, dan Z = Nilai numerik kategori serangan tertinggi (nilai 5).

Adapun skor gejala serangan adalah 0 = tidak ada serangan, 1 = bercak pustul antara 0 > hingga > 5% dari total seluruh daun per tanaman, 2 = bercak pustul antara 5 < hingga < 15% dari total seluruh daun per tanaman, 3 = bercak pustul antara 15 < hingga < 30% dari total seluruh daun per tanaman, 4 = bercak pustul antara 30 < hingga < 50% dari total seluruh daun per tanaman, atau 5 = bercak pustul > 50% dari total seluruh daun per tanaman.

b. Insidensi Penyakit

Menurut Hamdayanty dan Damayanti (2014), Insidensi penyakit atau kejadian penyakit dapat diketahui melalui penggunaan rumus sebagai berikut :

$$IP = \frac{\text{jumlah tanaman yang terinfeksi}}{\text{jumlah tanaman yang diinokulasi}} \times 100 \%$$

c. Laju Infeksi (unit/hari)

Laju Infeksi (r) di hitung berdasarkan rumus Van Der Plank (1963) dalam (Khaeruni dkk., 2008) :

$$r = [2,3/(t_j-t_i)] [\log (x_j/1-x_j) - \log (x_i/1-x_i)]$$

dimana r = laju infeksi, t_i = waktu pengamatan awal pada hari ke- i , t_j = waktu pengamatan berikut pada hari ke- j , x_i = keparahan penyakit pada hari ke- i , dan x_j = keparahan penyakit pada hari ke- j .

d. Nilai Efektivitas Pengendalian Penyakit

Menurut Abbot dalam Febrianasari (2014), nilai efektifitas pada suatu pengendalian penyakit dapat diketahui dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$E = (Ca - Ta / Ca) \times 100\%$$

Dimana E = nilai efektifitas, Ca = keparahan penyakit pada perlakuan kontrol, dan Ta = keparahan penyakit pada perlakuan setelah aplikasi agen hayati

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan pada uji kemampuan daya hambat, keparahan penyakit, insidensi penyakit, laju infeksi dan uji efektifitas di analisis secara statistika menggunakan ANOVA. Apabila hasil anova menunjukkan F-Hitung yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf kepercayaan 5%.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa aplikasi *Pseudomonas pendar-fluor* dengan konsentrasi minimal 10^7 cfu/ml sudah mampu menghambat perkembangan penyakit pustul bakteri secara in vivo melalui mekanisme siderofor dan antibiotik yang dihasilkan serta bersifat bakteristatik meskipun nilai efektivitas yang terbaik ditunjukkan *Pseudomonas pendar-fluor* pada konsentrasi 10^9 cfu/ml dengan nilai 39,81%.

5.2 Saran

Harapan kedepannya, isolat bakteri *Pseudomonas pendar-fluor* yang diketahui memiliki potensi dalam menekan penyakit pustul bakteri terus dikembangkan sehingga bisa menjadi pengendalian yang lebih efektif lagi dalam menekan serangan penyakit pustul bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

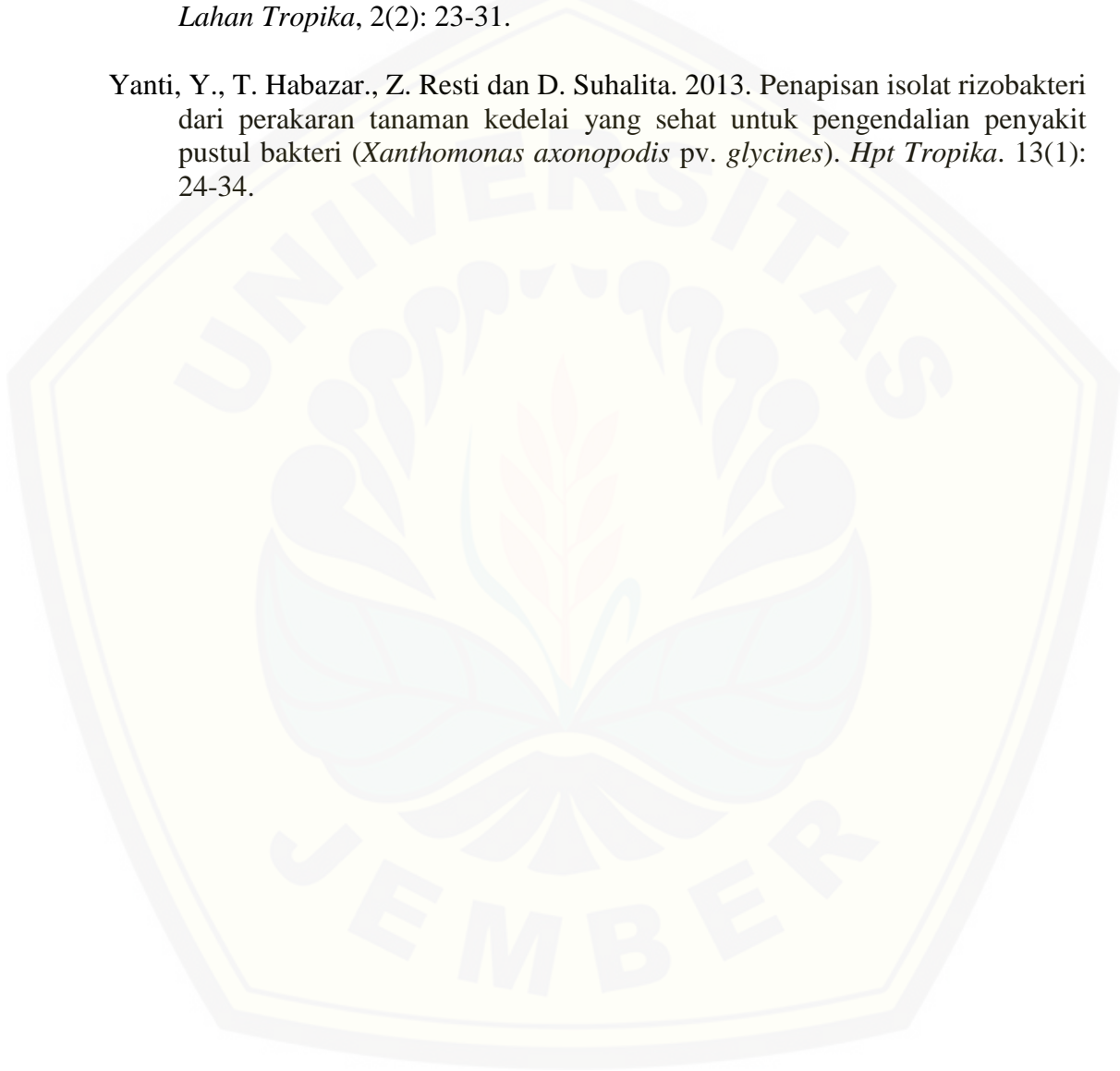
- Abidin, Z., L. Q. Aini dan A. L. Abadi. 2015. Pengaruh bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap pertumbuhan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. penyebab penyakit rebah semai pada tanaman kedelai. *Jurnal HPT*. 3(1): 1-10.
- Addy, H. S. 2007. Pengaruh sumber mineral terhadap penekanan *Erwinia carotovora* oleh pseudomonas pendar-fluor secara in vitro. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 7(2): 117-124.
- Addy, H. S. 2008. Aktivitas *Pseudomonas pendar fluor* dalam mengendalikan penyebab penyakit patik (*Cercospora nicotianae*) pada tembakau. *Jurnal Pengendalian Hayati*. 1(2): 98-103.
- Alstrom, S. 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere *Pseudomonads*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37: 495-501.
- Anggraini, R., D. Aliza dan S. Mellisa. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji mikrobiologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1(2): 270-286.
- Arwiyanto, T., Y. Maryudani dan N. N. Azizah. 2007. Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresens*, agensia pengendalian hayati penyakit lincat pada tembakau temanggung. *Biodiversitas*, 8(2): 147-151.
- Badan Pusat Statistik. *Produksi Kedelai Menurut Kabupaten/Kota Jawa Timur*. 24 Maret 2019.
- Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. *Buletin Palawija Prosiding Monograf Booklet Leaflet*. 29 Februari 2019.
- Cahyani, A. T., M. I. Putrayani., Hasrullah., M. Ersyan., T. S. Aulia dan A. M. Jaya. 2017. Teknologi Formulasi Rhizobakteria Berbasis Bahan Lokal dalam Menunjang Bioindustri Pertanian Berkelanjutan. *Hasanuddin Student*, 1(1): 16-21.
- Diarta, M.I., C. Javandira dan I. K. Widnyana. 2016. Antagonistik bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. terhadap jamur *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu tanaman tomat. *Bakti Saraswati*, 5(1): 75-76.

- Dirmawati, S. R. 2005. Penurunan Intensitas Penyakit Pustul Bakteri Kedelai Melalui Strategi Cara Tanam Tumpangsari dan Penggunaan Agenia Hayati. *Agrijati.*, 1(1): 1-11.
- Djarmiko, H. A., T. Arwiyanto., B. Hadisutrisno dan B. H. Sunarminto. 2007. Potensi tiga genus bakteri dari tiga rizosfer tanaman sebagai agenia pengendali hayati penyakit lincat. *Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*, 9(1): 40-47.
- Fachrudin, L. 2000. *Budidaya Kacang-Kacangan*. Kanisius: Yogyakarta.
- Gadhe, S. K., S. H. Antre., B. B. Gorpapde., R. H. Autadhe dan R. R. Mandlik. 2016. Studies on molecular variability among *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* isolates collected from different locations. *Pure App. Biosci.* 4 (3): 160-166.
- Inayati, A dan E. Yusnawan. 2011. Identifikasi penyakit utama kedelai dan cara pengendaliannya. *Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*. 95-111.
- Istiqomah dan D. E. Kusumawati. 2018. Pemanfaatan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* dalam pengendalian hayati *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tomat. *Agro*. 5(1): 1-12.
- Jatnika, W., A. L. Abadi dan L. Q. Aini. 2013. Pengaruh aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap perkembangan penyakit bulai yang disebabkan oleh jamur patogen *Peronosclerospora maydis* pada tanaman jagung. *Jurnal HPT*. 1(4): 19-29.
- Khaeruni, A., A. Suwanto., B. Tjahjono dan M. S. Sinaga. 2007. Deteksi cepat penyakit pustul bakteri pada kedelai menggunakan teknik pcr dengan primer spesifik. *Biosciences*. 14(2): 76-80.
- Khaeruni, A., E. A. Johan., T. Wijayanto., M. Taufik., A. A. R. Syafar dan G. A. K. Sutariati. 2018. Induction of soybean resistance to bacterial pustule disease (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) by rhizobacteria and organic material treatment. *Earth and Environmental Science*. 1-6.
- Khaeruni, A. R., B. Tjahjono., A. Suwanto dan M. S. Sinaga. 2008. Virulensi sejumlah isolat *Xanthomonas axonopodis* pv *glycines* asal edamame pada tiga varietas kedelai. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 8(1): 39-46.
- Kurnia, K., N. H. Sadi dan S. Jumiyanto. 2016. Isolasi bakteri heterotrof di cibuntu jawa barat dan karakterisasi resistensi asam dan logam. *Biologi*. 9(2): 74-79.

- Lamichhane, J. R dan L. Varvaro. 2013. A new medium the detection of fluorescent pigment production by *Pseudomonads*. *Plant Pathology*. 62: 624-63.
- Litaay, M., K. Sari., R. B. Gobel dan N. Haedar. 2017. Potensi abalon tropis *Haliotis asinina* l. sebagai sumber inokulum jamur simbion penghasil antimikroba. *Spermonde*, 3(1): 42-46.
- Manengkey, G. S. J dan E. Senewe. 2011. Intensitas dan laju infeksi penyakit karat daun *Uromyces phaseoli* pada tanaman kacang merah. *Eugenia*. 17(3): 218-224.
- Manyi-Loh, C., S. Mamphweli., E. Meyer dan A. Okoh. 2018. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in enviromental sources: potential public health implications. *Molecules*: 23: 2-48.
- Megasari, A., A. L. Abadi dan L. Q. Aini. 2017. Potensi *Corynebacterium* sp. dan *Bacillus* sp. untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri pada tanaman kedelai. *Hpt*. 5(1): 23-29.
- Meidiantie, S., Muanis, N. A dan A. Raharjo. 2010. *Petunjuk Praktis Membuat Pestisida Organik*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Nurchayanti, S. D., T. Arwiyanto., D. Indradewa dan J. Widada. 2013. Isolasi dan seleksi *Pseudomonad fluorescens* pada risosfer penyambungan tomat. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 1(1): 15-18.
- Nurhayati. 2011. *Epidemiologi penyakit tumbuhan*. Palembang: Universitas Sriwijaya.
- Nuryanni. W., S. Yusuf., E. H. I. Djatnika dan B. Marwoto, 2012. Kemangkusan biobakterisida terhadap penyakit busuk lunak (*Pseudomonas viridiflava*) pada *Phalaenopsis*. *Hort*. 22(4): 392-399.
- Pitojo, S. 2003. *Benih Kedelai*. Kanisius: Yogyakarta.
- Pratama, W. R., Jusak dan P. Sudarmaningtyas. 2013. Rancang bangun aplikasi sistem pakar untuk menentukan penyakit pada tanaman kedelai. *Sistem Informasi*. 2(2): 36-44.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Pro-life*, 4(3): 418-429.
- Pujiastuti, N., Hadiwiyono dan Subagiya. 2016. Peningkatan Infeksi Patogen Busuk Pangkal Pada Bawang Putih oleh *Meloidogyne* dengan Variasi Kerapatan Inokulum. *Agrosains*, 16(1): 1-6.

- Puspita, F., M. Ali dan R. Pratama. 2017. Isolasi dan karakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri *Bacillus* sp. endofitik dari tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis jacq.*). *Agrotek Trop.* 6(2): 44-49.
- Rahayu, M. 2009. Keefektivan agens hayati *Pseudomonas fluorescens* dan ekstrak daun sirih terhadap penyakit pustul *Xanthomonas axonopodis* pada kedelai. laporan teknis hasil penelitian tanaman kacang-kacangan dan umbi-umbian. *Balitkabi Malang.* 360-370.
- Rukayadi, Y., A. Suwanto., B. Tjahjono dan R. Harling. 2000. Survival and epiphytic fitness of a nonpathogenic mutant of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. *Applied And Environmental Microbiology.* 66(3): 1183-1189.
- Semangun, H. 1991. *Penyakit-penyakit tanaman pangan di indonesia.* Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Shofiah, D. K. R dan S. Y. Tyasmoro. 2018. Aplikasi pgpr (plant growth promoting rhizobacteria) dan pupuk kotoran kambing pada pertumbuhan dan hasil bawang merah (*Allium ascalonicum* l.) varietas manjung. *Produksi Tanaman.* 6(1): 76-82.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar pengendalian hayati penyakit tanaman.* Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Soesanto, L., E. Mugiastuti dan R. F. Rahayuniati. 2010. Kajian mekanisme antagonis *Pseudomonas fluorescens* P60 terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* pada tanaman tomat in vivo. *HPT Tropika.* 10(2):108-115.
- Suryadi, Y. 2009. Efektivitas *Pseudomonas fluorescens* terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tanaman kacang tanah. *HPT Tropika.* 9(2): 174-180.
- Toy, T. S. S., B. S. Lampus dan B. S. P. Hutagalung. 2015. Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *e-GiGi (eG).* 3(1): 153-159.
- Violatti, M. R dan N. D. Tebaldi. 2016. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja. *Summa Phytopathol,* 42(3): 268-270.
- Wahyuni, S., Lianto dan A. Khaeruni, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Manolitikasal Bonggol Pohon Sagu. *Agroteknos,* 4(3): 174-179.
- Wang, Z., M. Jiang., K. Chen., K. Wang., M. Du., Z. Zalan., F. Hegyi dan J. Kan. 2018. Biocontrol of *Penicillium digitatum* on Postharvest Citrus Fruits by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Food Quality.* 1-10.

- Wiguna, G., R. Sutarya dan Y. Muliani. 2015. Respon Beberapa Galur Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Terhadap Penyakit Busuk Daun (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). *Mediagro*. 11(2): 1-10.
- Wulandari, H., Zaqiyatulyaqin dan Supriyanto. 2012. Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar daun beludru (*Septobasidium* sp.). *Perkebunan dan Lahan Tropika*, 2(2): 23-31.
- Yanti, Y., T. Habazar., Z. Resti dan D. Suhailita. 2013. Penapisan isolat rizobakteri dari perakaran tanaman kedelai yang sehat untuk pengendalian penyakit pustul bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*). *Hpt Tropika*. 13(1): 24-34.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Uji In Vitro (Uji Daya Hambat *Pseudomonas pendar-fluor* Terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*)

Data uji in vitro (mm) sebelum di transformasi ke $\sqrt{x + 0,5}$

Perlakuan	Ulangan (mm)							Total	Rata-rata
	UI 1	UI 2	UI 3	UI 4	UI 5	UI 6	UI 7		
NA	1,47	0,91	1,46	1,5	1,44	0,56	0,71	8,05	1,15
King's B	1,74	1,09	1,26	0,8	0,6	0,5	0,68	6,67	0,95
YDA	1,54	1,31	0,82	0,58	0,51	0,3	0,6	5,66	0,81
Total	4,75	3,31	3,54	2,88	2,55	1,36	1,99	20,38	
Rata-Rata	1,58	1,10	1,18	0,96	0,85	0,45	0,66		0,97

Data uji in vitro (mm) yang telah di transformasi ke $\sqrt{x + 0,5}$

Perlakuan	Ulangan (mm)							Total	Rata-rata
	UI 1	UI 2	UI 3	UI 4	UI 5	UI 6	UI 7		
NA	1,40	1,19	1,40	1,41	1,39	1,03	1,10	8,93	1,28
King's B	1,50	1,26	1,33	1,14	1,05	1,00	1,09	8,36	1,19
YDA	1,43	1,35	1,15	1,04	1,00	0,89	1,05	7,91	1,13
Total	4,33	3,79	3,88	3,59	3,45	2,92	3,24	25,20	
Rata-Rata	1,44	1,26	1,29	1,20	1,15	0,97	1,08		1,20

Anova data in vitro

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	
Perlakuan	3	0,07	0,02	0,78	3,16	5,09	ns
Error (Galat)	18	0,57	0,03				
Total	21	0,65					
FK	30,23						
CV	13,12						

Lampiran 2. Data Keparahan Tenyakit (%)

Perlakuan	HSI	Ulangan (%)				Rata-rata
		1	2	3	4	
P0	7	37,78	41,48	28,15	39,26	36,67
	14	38,52	37,78	36,3	40	38,15
	21	38,52	43,7	40,74	35,56	39,63
	28	42,96	40,74	37,04	40,74	40,37
P1	7	27,41	28,89	34,81	28,15	29,82
	14	34,81	30,37	32,59	26,67	31,11
	21	31,11	31,85	30,37	32,59	31,48
	28	32,59	34,07	33,33	34,07	33,52
P2	7	32,59	28,89	11,11	22,96	23,89
	14	28,15	23,7	21,48	22,96	24,07
	21	26,67	24,44	20,74	24,44	24,07
	28	25,93	23,7	21,48	25,19	24,08
P3	7	33,33	23,7	35,56	13,33	26,48
	14	34,07	25,19	30,37	18,52	27,04
	21	29,63	25,19	28,89	24,44	27,04
	28	29,63	26,67	27,41	25,19	27,23
P4	7	25,93	9,63	6,67	25,93	17,04
	14	25,93	8,89	10,37	25,93	17,78
	21	20,74	11,85	14,07	26,67	18,33
	28	22,96	15,56	20,74	31,11	22,59

Data pengamatan keparahan penyakit pada 7 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	37,91	40,08	32,03	38,78	148,80	37,20
P1	31,56	32,50	36,14	32,03	132,23	33,06
P2	34,80	32,50	19,46	28,62	115,38	28,84
P3	35,25	29,12	36,59	21,41	122,37	30,59
P4	30,60	18,07	14,96	30,60	94,23	23,56
Total	170,11	152,27	139,19	151,44	613,01	
Rata-rata	34,02	30,45	27,84	30,29		30,65

Anova keparahan penyakit pada 7 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	409,09	102,27	2,87	3,06	4,89	ns
Error	15	535,44	35,70				
Total	19	944,53					

FK 18789,10

CV 19,49

Data pengamatan keparahan penyakit pada 14 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	38,35	37,91	37,03	39,22	152,51	38,13
P1	36,14	33,43	34,80	31,08	135,45	33,86
P2	32,03	29,12	27,60	28,62	117,37	29,34
P3	35,70	30,11	33,43	25,48	124,72	31,18
P4	30,60	17,34	18,78	30,60	97,32	24,33
Total	172,82	147,91	151,64	154,99	627,36	
Rata-rata	34,56	29,58	30,33	31,00		31,37

Anova keparahan penyakit pada 14 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	422,37	105,59	6,47	3,06	4,89	**
Error	15	244,69	16,31				
Total	19	667,06					

FK 19679,19

CV 12,88

Uji Beda Lanjut
BNJ 5%

SE	2,02
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	8,82

Perlakuan	Rata-Rata
P0	38,13
P1	33,86
P3	31,18
P2	29,34
P4	24,33

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	38,13	a
P1	33,86	a
P2	29,34	ab
P3	31,18	ab
P4	24,33	b

		P0	P1	P3	P2	P4		Notasi
		38,13	33,86	31,18	29,34	24,33		
P0	38,13	0,00						a
P1	33,86	4,27	0,00					a
P3	31,18	6,95	2,68	0,00				ab
P2	29,34	8,78	4,52	1,84	0,00			ab
P4	24,33	13,80	9,53	6,85	5,01	0,00		b

Data pengamatan keparahan penyakit pada 21 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	38,52	43,70	40,74	35,56	158,52	39,63
P1	31,11	31,85	30,37	32,59	125,92	31,48
P2	26,67	24,44	20,74	24,44	96,29	24,07
P3	29,63	25,19	28,89	24,44	108,15	27,04
P4	20,74	11,85	14,07	26,67	73,33	18,33
Total	146,67	137,03	134,81	143,70	562,21	
Rata-rata	29,33	27,41	26,96	28,74		28,11

Anova keparahan penyakit pada 21 hsi

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	1028,47	257,12	18,17	3,06	4,89	**
Error	15	212,27	14,15				
Total	19	1240,74					

FK 15804,00

CV 13,38

Uji Beda Lanjut
BNJ 5%

SE	1,88
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	8,22

Perlakuan	Rata-Rata
P0	39,63
P1	31,48
P3	27,04
P2	24,07
P4	18,33

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	39,63	a
P1	31,48	ab
P2	24,07	bc
P3	27,04	b
P4	18,33	c

			P0	P1	P3	P2	P4	Notasi	
			39,63	31,48	27,04	24,07	18,33		
P0	39,63		0,00						a
P1	31,48		8,15	0,00					ab
P3	27,04		12,59	4,44	0,00				b
P2	24,07		15,56	7,41	2,97	0,00			bc
P4	18,33		21,30	13,15	8,71	5,74	0,00		c

Data pengamatan keparahan penyakit pada 28 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	42,96	40,74	37,04	40,74	161,48	40,37
P1	32,59	34,07	33,33	34,07	134,06	33,52
P2	25,93	23,70	21,48	25,19	96,30	24,08
P3	29,63	26,67	27,41	25,19	108,90	27,23
P4	22,96	15,56	20,74	31,11	90,37	22,59
Total	154,07	140,74	140,00	156,30	591,11	
Rata-rata	30,81	28,15	28,00	31,26		29,56

Anova keparahan penyakit pada 28 hsi

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	866,33	216,58	19,46	3,06	4,89	**
Error	15	166,97	11,13				
Total	19	1033,30					

FK 17470,55

CV 11,29

Uji Beda Lanjut
BNJ 5%

SE	1,67
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	7,29

Perlakuan	Rata-Rata
P0	40,37
P1	33,52
P3	27,23
P2	24,08
P4	22,59

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	40,37	a
P1	33,52	ab
P2	24,08	c
P3	27,23	bc
P4	22,59	c

			P0	P1	P3	P2	P4		Notasi
			40,37	33,52	27,23	24,08	22,59		
P0	40,37		0,00						a
P1	33,52		6,86	0,00					ab
P3	27,23		13,15	6,29	0,00				bc
P2	24,08		16,30	9,44	3,15	0,00			c.
P4	22,59		17,78	10,92	4,63	1,48	0,00		c

Lampiran 3. Data Insidensi Penyakit (%)

Perlakuan	hsi	Ulangan (%)				Rata-Rata
		1	2	3	4	
P0	7	0	0	33	33	16,67
	14	33	33	33	33	33,08
	21	67	67	67	33	58,50
	28	100	67	100	67	83,42
P1	7	33	0	0	0	8,33
	14	33	33	0	0	16,58
	21	33	33	33	0	24,75
	28	67	67	67	33	58,50
P2	7	33	0	0	0	8,25
	14	33	33	0	0	16,50
	21	67	33	33	0	33,25
	28	100	67	33	33	58,33
P3	7	0	0	0	0	0,00
	14	33	0	0	0	8,25
	21	33	33	33	0	24,75
	28	67	67	33	33	50,00
P4	7	0	0	0	0	0,00
	14	0	33	0	0	8,25
	21	33	33	0	0	16,50
	28	67	33	33	33	41,50

Data insidensi penyakit (%) yang telah di transformasi ke arcsin

Perlakuan	Hsi	Ulangan (%)				Rata-Rata
		1	2	3	4	
P0	7	1,65	1,65	35,25	35,25	18,45
	14	35,25	35,25	35,25	35,25	35,25
	21	54,71	54,71	54,71	35,25	49,85
	28	99,92	54,71	99,92	54,71	77,32
P1	7	35,25	1,65	1,65	1,65	10,05
	14	35,25	35,25	1,65	1,65	18,45
	21	35,25	35,25	35,25	1,65	26,85
	28	54,71	54,71	54,71	35,25	49,85
P2	7	32,25	1,65	1,65	1,65	9,3
	14	35,25	35,25	1,65	1,65	18,45
	21	54,71	35,25	35,25	1,65	31,72
	28	99,92	54,71	35,25	35,25	56,28
P3	7	1,65	1,65	1,65	1,65	1,65
	14	35,25	1,65	1,65	1,65	10,05
	21	35,25	35,25	35,25	1,65	26,85
	28	54,71	54,71	35,25	35,25	44,98
P4	7	1,65	1,65	1,65	1,65	1,65
	14	1,65	35,25	1,65	1,65	10,05
	21	35,25	35,25	1,65	1,65	18,45
	28	54,71	35,25	35,25	35,25	40,12

Data pengamatan insidensi penyakit pada 7 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
P0	1,65	1,65	35,25	35,25	73,81	18,45
P1	35,25	1,65	1,65	1,65	40,21	10,05
P2	35,25	1,65	1,65	1,65	40,21	10,05
P3	1,65	1,65	1,65	1,65	6,61	1,65
P4	1,65	1,65	1,65	1,65	6,61	1,65
Total	75,46	8,27	41,86	41,86	167,46	
Rata-rata	15,09	1,65	8,37	8,37		8,37

Anova insidensi penyakit pada 7 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	790,11	197,53	1,05	3,06	4,89	Ns
Error	15	2821,84	188,12				
Total	19	3611,95					

FK 1402,10

CV 163,81

Data pengamatan insidensi penyakit pada 14 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
P0	35,25	35,25	35,25	35,25	141,00	35,25
P1	35,25	35,25	1,65	1,65	73,81	18,45
P2	35,25	35,25	1,65	1,65	73,81	18,45
P3	35,25	1,65	1,65	1,65	40,21	10,05
P4	1,65	35,25	1,65	1,65	40,21	10,05
Total	142,65	142,65	41,86	41,86	369,04	
Rata-rata	28,53	28,53	8,37	8,37		18,45

Anova insidensi penyakit pada 14 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	1693,10	423,28	1,61	3,06	4,89	Ns
Error	15	3950,57	263,37				
Total	19	5643,67					

FK 6809,43

CV 87,95

Data pengamatan insidensi penyakit pada 21 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
P0	54,71	54,71	54,71	35,25	199,39	49,85
P1	35,25	35,25	35,25	1,65	107,40	26,85
P2	54,71	35,25	35,25	1,65	126,87	31,72
P3	35,25	35,25	35,25	1,65	107,40	26,85
P4	35,25	35,25	1,65	1,65	73,81	18,45
Total	215,18	195,71	162,12	41,86	614,87	
Rata-rata	43,04	39,14	32,42	8,37		30,74

Anova insidensi penyakit pada 21 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	2189,22	547,31	1,80	3,06	4,89	Ns
Error	15	4563,58	304,24				
Total	19	6752,80					

FK 18903,52

CV 56,73

Data pengamatan insidensi penyakit pada 28 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
P0	99,92	54,71	99,92	54,71	309,26	77,32
P1	54,71	54,71	54,71	35,25	199,39	49,85
P2	99,92	54,71	35,25	35,25	225,13	56,28
P3	54,71	54,71	35,25	35,25	179,93	44,98
P4	54,71	35,25	35,25	35,25	160,46	40,12
Total	363,97	254,10	260,38	195,71	1074,17	
Rata-rata	72,79	50,82	52,08	39,14		53,71

Anova insidensi penyakit pada 28 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	3358,85	839,71	2,18	3,06	4,89	Ns
Error	15	5781,49	385,43				
Total	19	9140,35					

FK 57692,48

CV 36,55

Lampiran 4. Data Laju Infeksi (unit per hari)

Perlakuan	Laju infeksi (unit/hari)				Total	Rata-rata
	r1	r2	r3	r4		
P0	0,5045	0,009	0,0089	0,0044	0,5268	0,1317
P1	0,4603	0,0087	0,0025	0,0133	0,4848	0,1212
P2	0,4171	0,0014	0,0000	0,0001	0,4186	0,1047
P3	0,4367	0,0041	0,0000	0,0014	0,4422	0,1106
P4	0,3566	0,0073	0,0053	0,0375	0,4067	0,1017
Total	2,1752	0,0305	0,0167	0,0567	2,2791	
Rata-rata	0,4350	0,0061	0,0033	0,0113		0,1140

Data laju infeksi yang telah di tranformasi ke $\sqrt{x} + 0,5$

Perlakuan	Laju infeksi				Total	Rata-rata
	r1	r2	r3	r4		
P0	1,002	0,713	0,713	0,710	3,139	0,785
P1	0,980	0,713	0,709	0,716	3,119	0,780
P2	0,958	0,708	0,707	0,707	3,080	0,770
P3	0,968	0,710	0,707	0,708	3,093	0,773
P4	0,926	0,712	0,711	0,733	3,082	0,770
Total	4,83	3,56	3,55	3,58	15,51	
Rata-rata	0,97	0,71	0,71	0,72		0,78

Anova laju infeksi

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	0,00	0,00	0,01	3,06	4,89	ns
Error	15	0,25	0,02				
Total	19	0,25					

FK 12,03

CV 16,52

Lampiran 5. Data Uji Efektivitas (%)

Data keparahan penyakit untuk data uji efektivitas

Perlakuan	HSI	Ulangan (%)				Rata-rata
		1	2	3	4	
P0	7	37,78	41,48	28,15	39,26	36,67
	14	38,52	37,78	36,3	40	38,15
	21	38,52	43,7	40,74	35,56	39,63
	28	42,96	40,74	37,04	40,74	40,37
P1	7	27,41	28,89	34,81	28,15	29,82
	14	34,81	30,37	32,59	26,67	31,11
	21	31,11	31,85	30,37	32,59	31,48
	28	32,59	34,07	33,33	34,07	33,52
P2	7	32,59	28,89	11,11	22,96	23,89
	14	28,15	23,7	21,48	22,96	24,07
	21	26,67	24,44	20,74	24,44	24,07
	28	25,93	23,7	21,48	25,19	24,08
P3	7	33,33	23,7	35,56	13,33	26,48
	14	34,07	25,19	30,37	18,52	27,04
	21	29,63	25,19	28,89	24,44	27,04
	28	29,63	26,67	27,41	25,19	27,23
P4	7	25,93	9,63	6,67	25,93	17,04
	14	25,93	8,89	10,37	25,93	17,78
	21	20,74	11,85	14,07	26,67	18,33
	28	22,96	15,56	20,74	31,11	22,59

Data keparahan penyakit setelah dimasukkan ke rumus efektivitas (%)

Perlakuan	HSI	Ulangan (%)				Rata-rata
		1	2	3	4	
P0	7	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0
	21	0	0	0	0	0
	28	0	0	0	0	0
P1	7	37,05	40,78	26,91	38,54	35,82
	14	37,62	36,98	35,40	39,33	37,33
	21	37,71	42,97	39,99	34,64	38,83
	28	42,20	39,90	36,14	39,90	39,54
P2	7	36,92	40,78	27,76	38,68	36,03
	14	37,79	37,15	35,71	39,43	37,52
	21	37,83	43,14	40,23	34,87	39,02
	28	42,36	40,16	36,46	40,12	39,77
P3	7	36,90	40,91	26,89	38,92	35,90
	14	37,64	37,11	35,46	39,54	37,44
	21	37,75	43,12	40,03	34,87	38,94
	28	42,27	40,09	36,30	40,12	39,69
P4	7	37,09	41,25	27,91	38,60	36,21
	14	37,85	37,54	36,01	39,35	37,69
	21	37,98	43,43	40,39	34,81	39,15
	28	42,43	40,36	36,48	39,98	39,81

Data pengamatan uji efektivitas pada 7 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P1	37,05	40,78	26,91	38,54	143,28	35,82
P2	36,92	40,78	27,76	38,68	144,14	36,04
P3	36,90	40,91	26,89	38,92	143,62	35,91
P4	37,09	41,25	27,91	38,60	144,85	36,21
Total	147,96	163,72	109,47	154,74	575,89	
Rata-rata	29,59	32,74	18,75	30,95		28,79

Anova uji efektivitas pada 7 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	14433,97	3608,49	151,16	3,06	4,89	**
Eror	15	358,07	23,87				
Total	19	14792,05					

FK 1049,08

CV 16,97

SE	2,44
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	10,68

Perlakuan	Rata-Rata
P4	36,21
P2	36,04
P3	35,91
P1	35,82
P0	0,00

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	0,00	b
P1	35,82	a
P2	36,04	a
P3	35,91	a
P4	36,21	a

		P4	P2	P3	P1	Notasi
		36,21	36,04	35,91	35,82	
P4	36,21	0,00				a
P2	36,04	0,17	0,00			a
P3	35,91	0,30	0,13	0,00		a
P1	35,82	0,39	0,22	0,09	0,00	a
P0	0,00	36,21	36,04	35,91	35,82	b

Data pengamatan uji efektivitas pada 14 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P1	37,62	36,98	35,40	39,33	149,33	37,33
P2	37,79	37,15	35,71	39,43	150,08	37,52
P3	37,64	37,11	35,46	39,54	149,75	37,44
P4	37,85	37,54	36,01	39,35	150,75	37,69
Total	150,90	148,78	142,58	157,65	599,91	
Rata-rata	30,18	29,76	24,26	31,53		30,00

Anova uji efektivitas pada 14 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	15675,85	3918,96	1097,86	3,06	4,89	**
Eror	15	53,54	3,57				
Total	19	15729,40					

FK 1136,28

CV 6,30

SE	0,94
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	4,13

Perlakuan	Rata-Rata
P4	37,69
P2	37,52
P3	37,44
P1	37,33
P0	0,00

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	0,00	b
P1	37,33	a
P2	37,52	a
P3	37,44	a
P4	37,69	a

		P4	P2	P3	P1	Notasi
		37,69	37,52	37,44	37,33	
P4	37,69	0,00				a
P2	37,52	0,17	0,00			a
P3	37,44	0,25	0,08	0,00		a
P1	37,33	0,36	0,19	0,11	0,00	a
P0	0,00	37,69	37,52	37,44	37,33	b

Data pengamatan uji efektivitas pada 21 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P1	37,71	42,97	39,99	34,64	155,31	38,83
P2	37,83	43,14	40,23	34,87	156,07	39,02
P3	37,75	43,12	40,03	34,87	155,77	38,94
P4	37,98	43,43	40,39	34,81	156,61	39,15
Total	151,27	172,66	160,64	139,19	623,76	
Rata-rata	30,25	34,53	27,27	27,84		31,19

Anova uji efektivitas pada 21 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	16959,50	4239,87	451,01	3,06	4,89	**
Eror	15	141,01	9,40				
Total	19	17100,51					

FK 1226,33

CV 9,83

SE	1,53
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	6,70

Perlakuan	Rata-Rata
P4	39,15
P2	39,02
P3	38,94
P1	38,83
P0	0,00

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	0,00	b
P1	38,83	a
P2	39,02	a
P3	38,94	a
P4	39,15	a

		P4	P2	P3	P1	Notasi
		39,15	39,02	38,94	38,83	
P4	39,15	0,00				a
P2	39,02	0,13	0,00			a
P3	38,94	0,21	0,08	0,00		a
P1	38,83	0,32	0,19	0,11	0,00	a
P0	0,00	39,15	39,02	38,94	38,83	b

Data pengamatan uji efektivitas pada 28 hsi

Perlakuan	Ulangan (%)				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
P0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P1	42,20	39,90	36,14	39,90	158,14	39,54
P2	42,36	40,16	36,46	40,12	159,10	39,78
P3	42,27	40,09	36,30	40,12	158,78	39,70
P4	42,43	40,36	36,48	39,98	159,25	39,81
Total	169,26	160,51	145,38	160,12	635,27	
Rata-rata	33,85	32,10	24,73	32,02		31,76

Anova uji efektivitas pada 28 hsi

SK	Db	JK	KT	F hit	F tab 5%	F tab 1%	Ket
Perlakuan	4	17615,01	4403,75	774,16	3,06	4,89	**
Eror	15	85,33	5,69				
Total	19	17700,34					

FK 1268,03

CV 7,51

SE	
q(5,15)	4,37
BNJ 5%	5,21

Perlakuan	Rata-Rata
P4	39,81
P2	39,78
P3	39,70
P1	39,54
P0	0,00

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
P0	0,00	b
P1	39,54	a
P2	39,78	a
P3	39,70	a
P4	39,81	a

		P4	P2	P3	P1	Notasi
		39,81	39,78	39,70	39,54	
P4	39,81	0,00				a
P2	39,78	0,03	0,00			a
P3	39,70	0,11	0,08	0,00		a
P1	39,54	0,27	0,24	0,16	0,00	a
P0	0,00	39,81	39,78	39,70	39,54	b