



**DETEKSI ISOLAT PATOGEN HAWAR BAKTERI
PADA KEDELAI ASAL JEMBER DENGAN
TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION***

SKRIPSI

Oleh

**Moh. Miftah Farid
NIM. 091510501141**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**



**DETEKSI ISOLAT PATOGEN HAWAR BAKTERI
PADA KEDELAI ASAL JEMBER DENGAN
TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION***

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan
Program Sarjana pada Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Moh. Miftah Farid
NIM. 091510501141**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**

SKRIPSI

DETEKSI ISOLAT PATOGEN HAWAR BAKTERI PADA KEDELAI ASAL JEMBER DENGAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Oleh

Moh. Miftah Farid
NIM. 091510501141

Pembimbing

Pembimbing Utama : Hardian Susilo Addy, SP., MP. Ph.D.
NIP. : 19801109 200501 1 001

Pembimbing Anggota : Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni.,MS.Ph.D.
NIP. : 19521217 198003 2 001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Deteksi Isolat Patogen Hawar Bakteri pada Kedelai Asal Jember dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian pada:

hari, tanggal : 13 Februari 2014

tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji
Penguji I,

Hardian Susilo Addy, SP.MP. Ph.D.
NIP. 19801109 200501 1 001

Penguji II,

Penguji III,

Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS.
Ph.D. NIP. 19521217 198003 2 001

Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS.
NIP. 19441227 197603 2 001

Mengesahkan
Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, MT.
NIP. 19590102 1988031 002

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Moh. Miftah Farid

NIM : 091510501141

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: **Deteksi Isolat Patogen Hawar Bakteri pada Kedelai Asal Jember dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction*** adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap dan etika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Februari 2014
Yang menyatakan,

Moh. Miftah Farid
NIM. 091510501141

RINGKASAN

Deteksi Isolat Patogen Hawar Bakteri pada Kedelai Asal Jember dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction*. Moh. Miftah Farid 091510501141. Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Penyakit hawar bakteri kedelai, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* merupakan salah satu penyakit bakteri penting pada kedelai. Penurunan produksi akibat penyakit tersebut dapat mencapai sampai 20 %. Upaya pengendalian penyakit yang tepat sasaran dan efektif sangat diperlukan. Oleh karena itu identifikasi penyebab penyakit yang tepat dan akurat sangat diperlukan. Salah satu teknik identifikasi yang telah dikembangkan yaitu teknik *polymerase chain reaction* (PCR). Penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi penyebab penyakit hawar bakteri kedelai asal Jember dengan teknik PCR menggunakan primer *cfl* 650.

Identifikasi isolat bakteri hawar kedelai asal Jember dengan teknik PCR dilakukan dengan memasukkan campuran reaksi PCR yang ditempatkan dalam tabung *ependorf* ke dalam *thermocycler* dengan pengaturan suhu dan waktu setiap tahapan *initial* denaturasi, denaturasi, *annealing*, *extension* dan *final extension* berturut-turut 94°C selama 2 menit, 94°C selama 20 detik, 65°C selama 10 detik, 72°C selama 25 detik dan 72°C selama 4 menit. Campuran reaksi PCR terdiri atas 2X *PCR master mix solution* 10 µl, cetakan DNA 2 µl, primer *cfl* 650 (F) 1 µl, primer *cfl* 650 (R) 1 µl, air steril 7 µl, hasil PCR selanjutnya divisualisasi pada elektroforesis gel agarosa 1 %.

Sepuluh isolat bakteri hawar kedelai asal Jember melalui identifikasi dengan teknik PCR terbukti positif bakteri hawar kedelai, *P. syringae* pv. *glycinea* yang telah umum dikenal dan tersebar serta berkembang di sentra produksi tanaman kedelai di Indonesia. Teknik PCR untuk identifikasi bakteri hawar kedelai dengan menggunakan cetakan DNA dari daun yang terinfeksi, masih perlu dikembangkan dengan memperhatikan konsentrasi DNA bakteri dalam jaringan daun yang terinfeksi.

SUMMARY

Detection isolates blight pathogenic bacteria in soybeans origin Jember with technique polymerase chain reaction. Moh.Miftah Farid, 091510501141. Agrotechnology study Program; Faculty of Agriculture University of Jember.

The bacterial blight, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* is one of important bacterial diseases on soybean. That can reduce the production of soybean up to 20 %. So it needs to control this disease properly, in order to control this disease, the identification the causal agent is required. PCR is one of the identification technique that has been developed the aims of this study was to identify the causal agent of *P. syringae* pv. *glycinea*

The result LOPAT test was similar with *P. syringae* pv. *glycinea* to obtain more accurate detection, PCR technique was performed using *cfl650* pair primer, the procedure of PCR with stage initial denaturation, denaturation, annealing, and final extension consecutive 94° C for 2 min, 94° C for 20 seconds, 65 C° for 10 seconds, 72° C for 25 minutes and 72 C° for 4 minutes. The reaction mixture PCR consists of 2 x PCR master mix solution 10 µl, template of DNA 2 µl, primary *cfl* 650 (F) 1 µl, primary *cfl* 650 (R) 1 µl double distilled water 7 µl,

The PCR product was electrophoresis on 10 % agarose, ten isolates which suspected by LOPAT test were identified as *P. syringae* pv. *glycinea* by PCR. PCR technique for the identification of bacterial blight of soybean by using DNA from leaf mould infected, still need to be developed with attention to the concentration of the DNA of bacteria in an infected leaf tissue.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sholawat serta salam atas junjungan Nabi Muhammad SAW, sehingga penyusunan skripsi dengan judul Deteksi Isolat Patogen Hawar Bakteri pada Kedelai Asal Jember dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction* dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata satu (S1) sebagai sarjana pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Beberapa pihak turut membantu penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Hardian Susilo Addy, SP., MP. Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU), Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni., MS. Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) dan Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati ., MS selaku Dosen Penguji Tiga, yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, peningkatan wawasan, keterampilan, dan motivasi dalam pelaksanaan penelitian serta penyelesaian skripsi;
2. Ir. Paniman Ashna Mihardja., MP selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
3. Tri Agus Siswoyo, SP., M. Agr. Ph.D selaku Ketua Laboratorium Analisis Tanaman yang telah membantu dan memberikan ijin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Analisis Tanaman ;
4. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Ditjen Dikti), yang telah berperan sebagai penyandang dana melalui Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian (PKM-P);
5. Serta semua pihak yang telah memberikan saran dan kontribusi sehingga proses penyelesaian skripsi dapat berjalan dengan lancar.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Karakterisasi patogen hawar bakteri pada kedelai.....	3
2.2 Pemanfaatan teknik PCR untuk deteksi penyakit hawar bakteri...	4
2.3 Gen <i>cfl</i> di dalam DNA Bakteri.....	4
BAB 3. METODE PENELITIAN	6
3.1 Bahan dan Alat.....	6
3.2 Metode.....	6
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1 Isolat bakteri <i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	11
4.2 Pemberian identitas dan inventarisasi isolat <i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i> murni.....	12
4.3 Uji patogenesis dan virulensi Bakteri.....	13
4.4 Identifikasi secara biokimia dan fisiologi.....	15
4.5 Hasil PCR.....	16
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	20
DAFTAR PUSTAKA	21

TABEL

Tabel	Judul	Halaman
4.1	Inventarisasi isolat <i>P. syringae</i> pv. <i>glycineamurni</i> ..	12
4.2	Hasil dari uji hipersensitif pada daun tembakau.....	14
4.3	Hasil virulensi 10 isolat bakteri yang diduga <i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i> pada daun kedelai.....	15
4.4	Hasil pengujian LOPAT terhadap 10 isolat yang diduga <i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
2.1	Gambar bentuk molekul dari coronatine.....	5
4.1	Sampel daun kedelai asal Sukorambi (SK 3-2) (A) Daun sehat, (B) Daun yang diduga terserang patogen penyebab penyakit hawar bakteri	11
4.2	Isolasi bakteri berpendarflour dari sampel daun bergejala (SK 3-2) (A) Sampel yang ditanam pada media King's B, (B) Bakteri yang berpendar di bawah sinar UV (C) Isolat murni.....	12
4.3	Gejala nekrosis pada daun tembakau hasil uji hipersensitif dengan isolat SK 3-2 (B) dan isolat H3 (C) setelah 24 jam masa inkubasi.....	13
4.4	Gejala pada daun kedelai sehat (A) dan Daun bergejala hawar bakteri pada uji virulensi dengan isolat SK 3-2 (B) setelah 48 jam inkubasi.....	14
4.5	Elektroforesis hasil PCR bakteri penyebab hawar daun bakteri hawar bakteri dengan menggunakan primer <i>cfl</i> 650.....	17
4.6	Elektroforesis hasil PCR daun kedelai yang terserang patogen penyebab penyakit hawar daun bakteri dengan menggunakan primer <i>cfl</i> 650.....	18
4.7	Elektroforesis hasil PCR suspensi bakteri SK 3-2, daun yang terinfeksi bakteri <i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i> SK 3-2 dan daun sehat dengan menggunakan primer <i>cfl</i> 650.....	19