

ISOLASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN BAWANG MERAH (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) DAN UJI POTENSI *Bacillus* spp. SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI



GITA ASVELA
G011201187



PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024

**ISOLASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN BAWANG
MERAH (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) DAN UJI POTENSI
Bacillus spp. SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI**

**GITA ASVELA
G011 20 1187**



**DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN BAWANG
MERAH (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) DAN UJI POTENSI
Bacillus spp. SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI**

**GITA ASVELA
G011 20 1187**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana

Program Studi Agroteknologi

pada

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

ISOLASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN BAWANG
MERAH (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) DAN UJI POTENSI
Bacillus spp. SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
yang disusun dan diajukan oleh

GITA ASVELA
G011201187

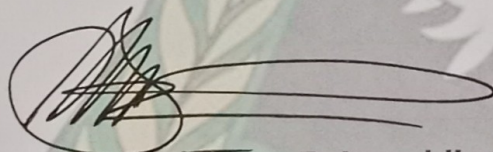
Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pertanian pada 25
November 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

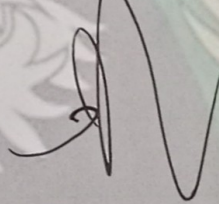
Program Studi Agroteknologi
Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin
NIP. 19601224 198601 1 001

Pembimbing Pendamping



Prof. Ir. Andi Nasruddin, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19600101 198601 1 011

Ketua Program Studi
Agroteknologi



Dr. Ir. Abd. Haris B., M.Si
NIP. 19670811 199403 1 003

Ketua Departemen
Hama dan Penyakit Tumbuhan



Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M. Sc.
NIP. 19650316 198903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa. skripsi berjudul “**Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Bawang Merah (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) Dan Uji Potensi *Bacillus* spp. Sebagai Agens Pengendali Hayati**” adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Sc.Agr. Ir. Baharuddin dan Prof. Ir. Andi Nasruddin, M.Sc., Ph.D.). Karya ilmiah ini belum diajukan atau tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 10 Oktober 2024



Gita Asvela
G011 20 1187

RIWAYAT HIDUP



Gita Asvela lahir di Kabupaten Luwu, Provinsi Sulawesi Selatan pada tanggal 27 Desember 2000. Penulis adalah anak ketiga dari empat bersaudara, dari pasangan Pairen dan Suyati. Penulis pertama kali bersekolah di SDN 105 Lamasi pada tahun 2006 dan lulus pada tahun 2012. Penulis kemudian bersekolah di SMP Negeri 1 Lamasi pada tahun yang sama dan lulus pada tahun 2015. Pada tahun yang sama Penulis masuk Sekolah Menengah di SMA Negeri 11 Luwu dan lulus pada tahun 2018. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan non formal di Pondok Pesantren Rhoudotul Jannah selama 2 tahun dan Lulus pada tahun 2020. Dan pada tahun yang sama, penulis terdaftar sebagai mahasiswa pada Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin melalui jalur ujian SBMPTN. Selama perkuliahan penulis aktif dalam berbagai bidang akademik yaitu menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman (2022), Hama dan Penyakit Tumbuhan (2023) dan Identifikasi Patogen (2024). Penulis aktif pada kegiatan UKM Koperasi Mahasiswa Universitas Hasanuddin dan bergabung dalam Tim Proyek Almamater Kopma Unhas (2023). Selain itu, penulis juga aktif sebagai guru mengaji sejak tahun 2020.

PERSANTUNAN

Bismillahirrahmaanirrahiim,

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh. Puji dan syukur tak hentinya penulis ucapkan atas kehadiran *Allahu Subhanahu Wa ta'ala* atas segala limpahan Rahmat dan Karunia-Nya kepada penulis untuk menyelesaikan penyusunan skripsi sebagai tugas akhir penyelesaian program studi S1 Fakultas Pertanian. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna karena penulis mengalami banyak rintangan dan hambatan selama proses penulisan. Dengan bantuan, bimbingan dan dukungan penuh dari berbagai pihak, segala tantangan dan hambatan dapat penulis atasi dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua orang yang turut serta membantu penulis menyelesaikan skripsi ini, baik dalam bentuk ide, moril, dan materil. Penulis dengan tulus mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta Bapak **Pairen** dan Ibunda **Suyati** atas limpahan cinta dan kasih sayang mereka, yang selalu mendoakan dan mendukung penulis secara moril dan materil sehingga penulis dapat mencapai titik ini. Untuk kakak penulis **Devi Anjaini**, kakak ipar penulis **Arif Mahadi**, dan adik penulis **Damar**, yang selalu memberi penulis motivasi, doa, dan inspirasi.
2. Bapak **Prof. Dr. Sc.Agr. Ir. Baharuddin** sebagai dosen pembimbing pertama dan Bapak **Prof. Ir. Andi Nasruddin, M.Sc.**, sebagai dosen pembimbing kedua, yang telah banyak memberikan bimbingan dan mendedikasikan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk mengarahkan dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan karya tulis ini. Penulis mengucapkan terima kasih atas kesabaran dan bimbingannya yang tulus. Semoga Prof dan keluarga selalu dilimpahi keberkahan.
3. Ibu **Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc**, Bapak **Ir. Fatahuddin, M.P.**, dan Bapak **Muhammad Junaid, S.P., M.P., P.hD.**, sebagai dosen penguji, penulis mengucapkan terima kasih telah meluangkan waktu memberikan pendapat, kritik yang membangun, dan saran guna menyelesaikan skripsi sebagai tugas akhir untuk menyelesaikan studi ini.
4. Bapak **Ahmad Yani, S.P., M.P.** selaku staf Laboratorium Bioteknologi dan Bapak **Nurmujahidin, S.P., M.Si.** selaku dosen proteksi tanaman. Kepada seluruh kakak-kakak dan teman-teman peneliti di laboratorium Bioteknologi: Kak Fadyah, Kak Alfian, Kak Widya, Ibu Eli, Yuli, Alfin, Syifa, Ermin dan teman-teman Bioteria 2020. Terima kasih telah kebersamaan serta turut membantu dalam penelitian penulis.
5. Kepada seluruh teman-teman **HIDROGEN 2020**. Kepada teman-teman **KKNT 109 Pertanian Organik Bantaeng**; Hairul, Bagas, Kak Freddy, Cica, Dina, Cici, Rasti, Aliyya, Andi Salsabila, dan terutama Gita Zabrina Y yang telah menjadi sahabat penulis dari KKN hingga kini. Terima kasih telah berbagi momen indah dan selalu mendukung penulis sampai akhir.

6. Kepada sahabat saya **Putri Kumala Dewi dan Dela Puspita** serta keluarga mereka yang telah banyak membantu penulis dari awal hingga akhir. Terima kasih atas dukungan dan motivasi yang telah diberikan hingga saat ini.
7. Temanku tercinta **Fitriyanti dan Citra Randa DF**, yang senantiasa mendengarkan keluh kesahku, memberikan semangat, *support* dan memberikan pendapat dan saling menasehati dari awal hingga akhir.
8. Kepada sahabat saya Sulis, Intan, Heni, Fitri, Hijrah, Nurhayati, dan Ferent, yang telah terlibat dalam kehidupan penulis.
9. Penulis mengucapkan terima kasih kepada diri saya sendiri karena mampu tetap tegar dan bertahan hingga akhir, meski diterpa berbagai obaan dan rintangan. Semoga penulis bisa menjadi lebih kuat lagi untuk kedepannya dalam meraih bahagia dan sukses bersama orang-orang tersayang.

Serta penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat penulis tuliskan satu per satu, atas segala doa dan dukungan yang diberikan kepada penulis. Akhir kata, semoga Allah SWT terus meridhoi dan memberikan keberkahan kepada semua pihak yang berperan penting bagi penulis. Hormat kami, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Gita Asvela

ABSTRAK

GITA ASVELA. **Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Bawang Merah (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) Dan Uji Potensi *Bacillus* spp. Sebagai Agens Pengendali Hayati.** (dibimbing oleh BAHARUDDIN dan ANDI NASRUDDIN)

Produksi bawang merah di Indonesia dari tahun ke tahun terjadi fluktuasi. Salah satu penyebab menurunnya produksi bawang merah adalah akibat serangan bakteri patogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Xaa) penyebab penyakit hawar daun (*bacterial blight*). Pemanfaatan agens pengendali hayati, *Bacillus* spp. mempunyai prospek yang cerah karena dapat hidup dan bertahan di rizosfer tanaman bawang merah, ramah lingkungan, serta dapat bersinergi dengan agens pengendali lainnya. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui potensi isolat bakteri *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri (Xaa) secara *in vitro*. Isolasi, pemurnian, dan uji patogenitas bakteri penyebab hawar daun terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan pengujian isolat-isolat bakteri antagonis *Bacillus* spp. (hasil koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian) dengan metode dual kultur. Suspensi bakteri Xaa diratakan pada media NA terlebih dahulu, lalu 2 lembar *paper disc* yang telah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *Bacillus* spp. konsentrasi 10^8 cfu/mL diletakkan secara teratur di atas media *nutrient agar*. Pengamatan harian dilakukan dengan mengamati terbentuknya zona penghambatan di sekitar *paper disc*. Dari 6 isolat *Bacillus* spp. yang diuji menunjukkan kemampuan daya hambat yang variatif. Isolat PL 12 adalah isolat yang memiliki daya hambat tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya dengan kategori sangat kuat (++++) yaitu diameter zona hambat sebesar 3,6 mm.

Kata Kunci : antagonis, *bacterial leaf blight*, patogenitas, uji *in vitro*

ABSTRACT

GITA ASVELA. **Isolation of the Bacteria Causing Red Onion Leaf Blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) and Testing the Potential of *Bacillus* spp. as Biological Control Agents.** (supervised by BAHARUDDIN and ANDI NASRUDDIN)

The production of red onions in Indonesia has fluctuated from year to year. One of the causes of the decline in red onion production is the attack of the pathogenic bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Xaa), which causes leaf blight disease (bacterial blight). The use of biological control agents, *Bacillus* spp., has promising prospect because they can live and thrive in the rhizosphere of shallot plants, are environmentally friendly, and can synergize with other control agents. This research aims to determine the potential of *Bacillus* spp. bacterial isolates in controlling bacterial leaf blight disease (Xaa) *in vitro*. Isolation, purification, and pathogenicity testing of the bacteria causing leaf blight first. Next, testing of antagonistic bacterial isolates of *Bacillus* spp. (from the collection of the Agricultural Biotechnology Laboratory) was conducted using the dual culture method. The bacterial suspension of Xaa is first spread on NA media, then two paper discs that have been dipped in a *Bacillus* spp. suspension at a concentration of 10^8 cfu/mL are placed regularly above the nutrient agar media. Daily observations were conducted by monitoring the formation of inhibition zones around the paper disc. Of the 6 tested *Bacillus* spp. isolates, they showed varying levels of inhibitory capacity. PL 12 is an isolate that has the highest inhibitory power compared to other treatments, categorized as very strong (++++) with an inhibition zone diameter of 3.6 mm.

Keywords: antagonist, *bacterial leaf* blight, pathogenicity, *in vitro* test

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| SAMPUL | i |
| PERNYATAAN PENGAJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA | iv |
| ABSTRAK | v |
| ABSTRACT | vi |
| PERSANTUNAN | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Teori | 2 |
| 1.2.1 Bawang Merah | 2 |
| 1.2.2 <i>Bacillus</i> spp. | 3 |
| 1.2.3 Penyakit Hawar Daun Bakteri | 4 |
| 1.2.4 <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 5 |
| 1.3 Tujuan dan Kegunaan | 6 |
| 1.4 Hipotesis Penelitian | 6 |
| BAB II METODE PENELITIAN | 7 |
| 2.1 Tempat dan Waktu..... | 7 |
| 2.2 Alat dan Bahan..... | 7 |
| 2.3 Prosedur Penelitian | 7 |
| 2.3.1 Reisolasi dan Reidentifikasi <i>Bacillus</i> spp. | 7 |
| 2.3.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 7 |
| 2.3.3 Uji Antagonis Terhadap <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 9 |
| BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN | 11 |
| 3.1 Hasil | 11 |
| 3.1.1 Reisolasi dan Reidentifikasi <i>Bacillus</i> spp. | 11 |
| 3.1.2 Isolasi dan Idenfikasi Bakteri Patogen <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 11 |
| 3.1.3 Uji Antagonis Terhadap <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 15 |
| 3.2 Pembahasan | 15 |
| BAB IV PENUTUP | 20 |
| 4.1 Kesimpulan..... | 20 |

| | | |
|-----|-----------------------------|-----------|
| 4.2 | Saran..... | 20 |
| | DAFTAR PUSTAKA | 21 |
| | LAMPIRAN | 24 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Hasil Uji Morfofisiologis Isolat <i>Bacillus</i> spp. Koleksi Kafrawi (2014) | 11 |
| Tabel 2. Karakteristik Bakteri <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> yang telah Diisolasi dari Tanaman Bawang Merah..... | 12 |
| Tabel 3. Hasil Pengujian Kemampuan Menghambat Isolat <i>Bacillus</i> spp. terhadap <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> secara <i>in vitro</i> | 15 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|-------------------|---|----|
| Gambar 1. | Gejala penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah..... | 4 |
| Gambar 2. | Morfologi Koloni Xaa | 5 |
| Gambar 3. | Hasil isolasi patogen <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> (Xaa) pada tanaman bawang merah..... | 11 |
| Gambar 4. | Koloni berwarna kuning pada media YDC | 12 |
| Gambar 5. | Uji Gram dan Uji Katalase | 12 |
| Gambar 6. | Uji Oksidase | 13 |
| Gambar 7. | Uji Oksidatif Fermentatif | 13 |
| Gambar 8. | Uji Sumber Karbon | 14 |
| Gambar 9. | Uji Patogenisitas | 14 |
| Gambar 10. | Uji Hipersensitif | 15 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|---------------------------|---|----|
| Tabel Lampiran 1. | Hasil pengamatan uji kemampuan daya hambat isolat bakteri <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> secara <i>in vitro</i> | 24 |
| Gambar Lampiran 1. | Reisolasi Isolat <i>Bacillus</i> spp. koleksi Kafrawi (2014). | |
| Gambar Lampiran 2. | Reidentifikasi Isolat <i>Bacillus</i> spp..... | 24 |
| Gambar Lampiran 3. | Isolasi bakteri patogen <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 26 |
| Gambar Lampiran 4. | Uji Antagonis Terhadap <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i> | 27 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* Linn.) merupakan komoditas sayuran yang sangat potensial untuk dibudidayakan di Indonesia. Komoditas ini bernilai ekonomi tinggi dan berperan dalam perekonomian di Indonesia. Selain itu, bawang merah termasuk dalam kelompok rempah yang banyak dibutuhkan dan dikonsumsi setiap hari seperti untuk bumbu masakan, bahan untuk industri makanan, dan sebagai bahan obat tradisional. Bawang merah memiliki kandungan sumber beragam senyawa yang penting bagi tubuh termasuk lemak, protein, kalsium, fosfor, dan zat besi, serta vitamin B1, dan vitamin C (Afriani et al., 2018).

Data produksi bawang merah secara nasional pada tahun 2021 mencapai 2 juta ton dengan total luas lahan 194 ribu hektar. Tingkat produktivitas mencapai 10,3 ton/Ha (BPS, 2021). Pada tahun 2022 produksi bawang merah secara nasional mengalami penurunan yakni berkisar 1,9 juta ton dengan luas panen 184 ribu hektar. Tingkat produktivitas berkisar 10,2 ton/Ha (BPS, 2022). Produktivitas bawang merah di Indonesia rata-rata masih tergolong rendah, yaitu 4,4 - 14 ton/hektar, sedangkan potensi hasil bawang merah umumnya mencapai 17 - 20 ton per hektar (Bappenas, 2013).

Sentra produksi bawang merah di Indonesia berasal dari berbagai daerah termasuk Sulawesi Selatan yang masuk dalam enam provinsi penghasil bawang merah teratas dengan memberikan kontribusi sebesar 6,77% terhadap produksi bawang merah di Indonesia. Kabupaten Enrekang menempati posisi teratas produksi bawang merah di Sulawesi Selatan dengan kontribusi mencapai 80%, selanjutnya Kabupaten Bantaeng sebesar 13,3%, Jeneponto sebesar 3,32%, dan Bone sebesar 2,55% (BPS, 2019). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) Sulawesi Selatan (2023) produksi bawang merah pada tahun 2018 sebanyak 92.32 ton/Ha, tahun 2019 sebanyak 101.762, pada tahun 2020 sebanyak 124.381 ton/Ha, pada tahun 2021 sebanyak 183.210 ton/Ha, pada tahun 2022 sebanyak 175.150 ton/Ha dan pada tahun 2023 sebanyak 201.421 ton/Ha. Berdasarkan data tersebut dapat terlihat bahwa pada tahun 2018 - 2023 produksi bawang merah di Sulawesi Selatan cenderung fluktuatif.

Hasil produksi pertanian di Indonesia terjadi fluktuasi, salah satu faktor yang menyebabkan perubahan naik turun produksi bawang merah disebabkan oleh teknik budidaya tanaman bawang merah yang selama ini masih ditemui berbagai kendala, mulai dari masalah teknis, penggunaan dosis pupuk yang kurang tepat, hingga serangan hama dan penyakit. Salah satu hambatan dari produksi bawang merah disebabkan oleh tingginya intensitas serangan patogen penyebab penyakit seperti bakteri, cendawan, virus dan berbagai patogen lainnya. Salah satu penyakit utama pada bawang merah adalah penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. Patogen ini merupakan ancaman serius

terhadap produksi bawang merah yang dapat menyebabkan kehilangan hasil mencapai 50% dan dalam kondisi yang sesuai dapat mengakibatkan puso (Asrul et al., 2013).

Hawar daun bawang merah ditularkan melalui benih (umbi) sehingga menjadi penyebab penyebaran penyakit. Benih yang terkontaminasi akan membawa patogen ke area pertanaman baru sehingga dapat menimbulkan ledakan penyakit. Gejala dari hawar daun bakteri berupa kemunculan bercak (*water soaking*), daun layu kebasah-basahan sepanjang daun, terdapat garis klorosis, kemudian membentuk nekrosis berwarna coklat dan mengering, lalu daun yang terinfeksi akan mengalami mati pucuk, selanjutnya mempengaruhi pertumbuhan tanaman sehingga tanaman menjadi kerdil (Rougmanac et al., 2004).

Pengelolaan penyakit hawar daun bakteri dapat dilakukan melalui tindakan preventif, pengendalian secara kimiawi, dan pengendalian hayati. Pengendalian hayati merupakan salah satu alternatif dalam mengendalikan hawar daun bakteri yaitu dengan pemanfaatan agen hayati berupa penggunaan mikroorganisme dari kelompok *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) yaitu *Bacillus* spp. yang dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen. *Bacillus* spp. secara langsung meningkatkan ketahanan tanaman, pengendalian patogen serta secara tidak langsung dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Saeed et al., 2021).

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian mengenai potensi isolat *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri terhadap tanaman bawang merah secara *in vitro* sehingga diperoleh isolat bakteri yang berpotensi sebagai pengendali hayati.

1.2 Teori

1.2.1 Bawang Merah

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan tanaman berumbi berlapis, memiliki akar serabut, dengan daun berbentuk silinder dan berongga, serta tumbuh tegak dengan tinggi mencapai 15 – 40 cm, dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Monocotyledonae

Ordo : Liliales

Famili : Liliaceae

Genus : *Allium*

Spesies : *Allium ascalonicum* L. (Estu dan Nur, 2015).

Morfologi akar bawang merah terdiri atas akar, batang, umbi, daun, bunga dan biji. Secara morfologi, akar bawang merah memiliki sistem perakaran serabut, yang tumbuh menyebar secara dangkal di bawah permukaan tanah. Akar bawang

merah dapat menembus hingga kedalaman tanah 15 – 30 cm. Batang bawang merah merupakan batang semu yang terbentuk dari kelopak-kelopak daun yang saling membungkus satu sama lain. Kelopak-kelopak daun sebelah luar selalu melingkar dan menutupi daun yang ada didalamnya. Bawang merah memiliki daun yang menyerupai tabung dengan rongga didalamnya dan berjumlah sekitar 30 helai. Batang daunnya relatif pendek, sedangkan daunnya panjangnya mencapai 40 cm dan memiliki ujung yang meruncing (Estu dan Nur, 2015).

Bawang merah memiliki tangkai bunga yang keluar dari titik tumbuh tanaman yang panjangnya berkisar antara 30 – 90 cm, dan diujungnya terdapat 50 – 200 kuntum Bunga yang tersusun melingkar berbentuk payung berwarna putih. Bawang merah memiliki umbi berbentuk bulat dengan ujungnya tumpul membungkus biji berjumlah 2 - 3 butir. Setiap tanaman menghasilkan 6 hingga 12 umbi. Tanaman bawang merah mencapai fase generatif (berbunga) pada umur 52 hari setelah tanam. Sekitar 70 hari setelah tanam, tanaman bawang merah sudah matang secara fisiologis sehingga siap untuk dipanen (Puspa, 2017).

Bawang merah dapat dibudidayakan pada daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, dengan ketinggian tempat yang disarankan adalah ketinggian 0 - 800 meter di atas permukaan laut. Tanaman bawang merah dapat tumbuh secara optimal pada suhu berkisar antara 25 - 32° C dengan iklim kering. Jenis tanah yang sesuai adalah tanah lempung berpasir atau lempung berdebu. Selain itu, Keasaman tanah yang ideal untuk budidaya bawang merah adalah tanah dengan pH 5,6 – 7,0 (sedikit asam hingga netral) (Kurnianingsih, 2018).

1.2.2 *Bacillus* spp.

Beberapa agens hayati telah banyak dibuktikan memiliki keefektifan dalam mengendalikan patogen. Terutama kelompok bakteri yang hidup bebas, menduduki atau mengkoloniasi perakaran (*rhizobacteria*) yaitu *Bacillus* spp. yang mampu secara agresif menduduki rizosfer sehingga menguntungkan bagi tanaman. Kemampuannya dalam membentuk endospora dan memiliki mekanisme antagonis yang beragam membuat genus *Bacillus* seringkali dipilih sebagai pengendalian secara alami untuk mengendalikan berbagai patogen pada tanaman (Novitasari dan Munif., 2020).

Bacillus spp. merupakan bakteri yang tergolong kedalam gram positif, berbentuk batang, dapat hidup pada kondisi aerob obligat atau anaerob fakultatif serta memiliki kemampuan membentuk endospora pada kondisi yang kurang menguntungkan. Keberadaan endospora pada *Bacillus* spp. ini menyebabkan bakteri dapat bertahan dalam kondisi lingkungan yang kritis seperti kekeringan, panas, nutrisi yang terbatas, serta dapat dorman dalam jangka waktu yang lama bahkan hingga bertahun-tahun (Setiaji et al., 2023).

Kelompok *Bacillus* spp. memiliki kemampuan sebagai agens hayati, biopestisida, biofertilizer, dan tidak bersifat patogen pada tanaman inang sehingga sangat mudah untuk dimanfaatkan. Selain itu *Bacillus* spp juga dilaporkan dapat meningkatkan ketahanan tanaman, pengendalian patogen, serta memiliki

kemampuan menyediakan, memfasilitasi atau memobilisasi penyerapan berbagai unsur hara ke dalam tanah seperti besi, fosfat, dan nitrogen. Kemampuan bertahan hidup yang tinggi dan kemampuan adaptasinya yang tinggi terhadap cekaman lingkungan juga menjadi keunggulan dari *Bacillus* spp. Serta potensinya dalam menghasilkan metabolit yang beragam dan potensial sebagai antibiotik (Setiaji et al., 2023).

Bacillus spp. berperan sebagai biokontrol dengan mekanisme secara langsung yaitu dengan memproduksi antibiotik, senyawa metabolit sekunder seperti *Hydrogen Cyanida* (HCN), siderofor, enzim litik, asam salisilat yang bersifat toksik bagi patogen. Mekanisme langsung lainnya adalah kompetisi dengan patogen dalam memperebutkan nutrisi esensial. Mekanisme secara tidak langsung, *Bacillus* spp mampu menginduksi sistem ketahanan tanaman sehingga tanaman menjadi lebih resisten terhadap serangan patogen (Purnawati et al., 2019).

1.2.3 Penyakit Hawar Daun Bakteri

Penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah (Bacterial blight of onion/BBO) pertama kali diidentifikasi disebabkan oleh *Xanthomonas* sp dan baru-baru ini digolongkan ke dalam pendekatan poliphasik dan dinamakan *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Xaa). Hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah tergolong penyakit baru di Indonesia dan tergolong berbahaya karena di luar negeri serangan patogen ini dapat menyebabkan kehilangan hasil antara 19 – 100% sehingga memiliki potensi sebagai penyakit utama pada bawang merah (Resti et al., 2016).



Gambar 1. Gejala penyakit hawar daun bawang merah

Sumber: Asrul (2013)

Xaa menginfeksi ujung daun bawang merah dan menimbulkan bercak kebasahan (water soaking) berwarna putih pucat, semakin lama gejala akan meluas dan akan menyebar keseluruh daun. infeksi ini mengakibatkan kematian pucuk yang menyebabkan umbi bawang merah menjadi lebih kecil dan ringan (Resti et al., 2013). Xaa menginfeksi banyak inang dari berbagai jenis bawang-bawangan termasuk bawang Bombay (*Allium cepa*), bawang putih (*Allium saliviat* L.), bawang daun (*Allium fistulosum*), dan bawang merah (*Allium ascalonicum*) (Roumacnag et al., 2004).

Xaa adalah patogen penyebab penyakit hawar daun bakteri yang dapat ditransmisikan melalui benih yang terkontaminasi (*seed born*). Kejadian penyakit ini sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti kondisi lingkungan, inang, dan teknik budidaya. Kondisi optimal bagi perkembangan penyakit hawar daun bakteri adalah suhu tinggi (lebih dari 27° C), curah hujan yang tinggi, dan kelembaban yang tinggi. Kombinasi faktor-faktor ini memungkinkan penyakit terus berkembang, bahkan hingga fase pembentukan umbi sampai perkembangan umbi. Curah hujan yang relatif tinggi pada awal fase pembentukan umbi sangat mendukung terjadinya ledakan populasi patogen (Kadota et al. 2000).

1.2.4 *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*

Klasifikasi *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Xaa) menurut Roumagnac et al., (2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria,

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Xanthomonadales

Famili : Xanthomonadaceae

Genus : *Xanthomonas*

Spesies : *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*

Xaa secara makroskopis memiliki ciri khas yaitu bentuk koloni yang tumbuh pada media *Yeast Peptone Glucose Agar* (YPGA) umur 2 - 3 hari pada suhu 28° C berbentuk bulat, berlendir, berkilau, licin, berwarna kuning, kuning pucat atau krem, dan koloni bakteri tidak memancarkan cahaya dibawah sinar ultraviolet. secara mikroskopis berbentuk batang atau tongkat, tidak berkapsul, tidak membentuk spora dan bergerak dengan flagel (Rougmanac et al. 2004). Adapun sifat-sifat fisiologi patogen ini adalah gram negatif, aerob obligat, tidak menghasilkan pigmen oksidase (oksidase negatif), menghasilkan enzim katalase, bersifat oksidatif, dan menghidrolisis pati (Schwartz dan Otto, 2005).



Gambar 2. Morfologi koloni Xaa

Sumber: Andriani (2012)

Xaa menyerang daun bawang merah dengan masuk melalui pori-pori daun (stomata). Infeksi ini menyebar sangat cepat terutama pada kondisi lembab. Xaa dapat bertahan hidup di dalam benih dan umbi bawang merah. Infeksi bakteri ini sering terjadi pada benih yang disimpan dalam suhu rendah (4°C) (Schwartz et al., 2003). Xaa menunjukkan pertumbuhan optimal pada daerah dengan iklim kering, dengan suhu rata-rata berkisar antara 21 - 22° C. Faktor iklim berperan utama dalam dinamika pertumbuhan dan perkembangan Xaa. Kombinasi curah hujan yang tinggi dengan suhu di atas 20°C menciptakan lingkungan yang sangat kondusif bagi siklus hidup patogen ini. Durasi periode infeksi Xaa bervariasi tergantung pada karakteristik iklim dan suhu di suatu wilayah (Humeau et al., 2006).

1.3 Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi isolat bakteri *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh patogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* pada tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) secara *in vitro*.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai bakteri *Bacillus* spp. yang berpotensi sebagai antagonis yang mampu mengendalikan patogen (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) penyebab penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang merah *in vitro*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Diduga terdapat isolat bakteri *Bacillus* spp. potensial yang mampu mengendalikan penyakit hawar daun bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*) pada tanaman bawang merah secara *in vitro*.

BAB II METOTE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2023 sampai Juni 2024.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah jarum ose, cawan petri, LAF, Erlenmeyer, tabung reaksi, Bunsen, kaca preparat, timbangan analitik, vortex, spektrofotometer, *hot plate*, *magnetic stirrer*, autoklaf, cawan petri, oven, dan ATK.

Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri *Bacillus* spp. (hasil koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian) dengan kode isolat (PL 1, PL 12, MG 5, GR 7, GR 21, LB 4) , media NA, media *Hugh - Leifson*, media *yeast dextrose calcium carbonate* (YDC), aquades, alkohol 70%, agar-agar.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Reisolasi dan Reidentifikasi *Bacillus* spp.

Isolat *Bacillus* spp. yang digunakan merupakan koleksi isolat bakteri Laboratorium Bioteknologi, hasil penelitian Kafrawi (2014) dengan kode isolat PL 1 dan PL 12 yang diisolasi dari Palu (Sulawesi Tengah), isolat MG 5 yang diisolasi dari Maligano (Sulawesi Utara), isolat LB 4 yang diisolasi dari Limboro (Sulawesi Barat), dan isolat GR 7 dan GR 21 yang diisolasi dari Gorontalo. Isolat tersebut diisolasi dari daerah sekitar perakaran bawang merah sehat yang terdapat pada beberapa sentra penanaman bawang merah di Sulawesi. Kemudian dilakukan peremajaan menggunakan teknik penggosokan pada media NA dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah itu, dilakukan reidentifikasi sederhana seperti uji karakterisasi morfologi dan fisiologi.

2.3.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*

Isolasi bakteri patogen dilakukan dengan pengambilan sampel tanaman daun bawang bergejala hawar yang diambil dari Enrekang, menggunakan media *nutrient agar* (NA). Tanaman bawang merah (daun) yang bergejala dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air mengalir. Daun yang bergejala dipotong-potong kecil berukuran 2 cm dan dilakukan sterilisasi permukaan. Selanjutnya, potongan daun digerus menggunakan mortar dan ditambahkan 5 ml air steril kemudian dilakukan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} . Pada suspensi 10^{-6} diambil 1 ml lalu ditetaskan dan diratakan pada media NA. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 28° C. Koloni yang tumbuh diambil dengan ose steril kemudian dipindahkan ke media NA untuk dilakukan identifikasi.

Karakterisasi isolat bakteri secara morfologi dilakukan melalui pengamatan secara mikroskopis dan makroskopis. Pengamatan secara makroskopis meliputi bentuk koloni, tepi, elevasi, dan warna koloni. Selain itu dilakukan uji fisiologi sederhana diantaranya uji gram menggunakan larutan KOH 3%, uji katalase menggunakan larutan H₂O₂, Uji OF dan Uji Hipersensitif. Hasil pengujian sifat-sifat isolat bakteri yang diperoleh, selanjutnya dibandingkan dengan sifat-sifat bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* yang telah dideskripsikan oleh Kadota et al., (2000): Schaad et al., (2001) dan Rougmagnac et al., (2004). Adapun uji fisiologi sederhana yang dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Uji Reaksi Gram

Koloni tunggal bakteri dari kultur murni diinokulasikan pada kaca preparat menggunakan jarum ose steril kemudian ditambahkan sebanyak 2 tetes larutan KOH 3% lalu diaduk sampai homogen. Hasil uji menunjukkan reaksi positif apabila koloni berlendir dikategorikan sebagai gram negatif, sementara koloni bakteri yang tidak berlendir mengindikasikan reaksi negatif dan diklasifikasikan sebagai gram positif.

b. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan sebanyak 1 – 2 tetes larutan H₂O₂ diatas kaca preparat. Mengambil koloni tunggal bakteri dengan jarum ose yang telah disterilisasi pijar kemudian dioleskan pada kaca preparat yang telah diberi larutan H₂O₂. Suspensi diaduk berulang kali kemudian diamati adanya gelembung udara. Jika terdapat gelembung maka reaksi positif, tetapi jika tidak terdapat gelembung maka reaksi negatif.

c. Uji Oksidase

Pelaksanaan uji oksidase didasarkan pada prosedur uji oksidase (Lay, 1994), yakni menyiapkan kertas saring yang ditetesi dengan larutan kovac. Selanjutnya, mengambil koloni tunggal bakteri dari biakan murni menggunakan jarum ose dan dioleskan pada kertas saring. Perubahan warna kertas saring menjadi ungu atau merah menandakan reaksi oksidase positif (+) dan mengindikasikan adanya aktivitas enzim oksidase. Apabila tidak terjadi perubahan warna maka reaksi oksidase (-) atau bakteri uji tidak menghasilkan enzim oksidase.

d. Uji Oksidatif Fermentatif

Uji fermentatif oksidatif dilakukan pada media *hugh-leifson* steril yang dimasukkan kedalam dua tabung masing-masing 9 ml. Setelah media dingin kemudian ditambahkan larutan glukosa 10% kedalam masing-masing tabung kemudian divortex hingga homogen. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri dengan mengambil satu ose koloni tunggal bakteri yang berasal dari biakan murni, lalu dimasukkan kedalam dua tabung reaksi berisi media *hugh-leifson* dan divortex hingga homogen. Salah satu tabung ditutup menggunakan agar-agar atau parafin untuk uji fermentatif.

Pengamatan dilakukan pada 24 – 72 jam setelah inokulasi dengan mengamati perubahan warna media. Bakteri bersifat positif fermentatif apabila tabung yang tertutup agar-agar berubah menjadi warna kuning, sedangkan bakteri bersifat oksidatif apabila tabung yang tidak tertutup agar-agar berubah menjadi warna kuning.

f. Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan dengan melakukan inokulasi bakteri uji pada tanaman inangnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri uji dalam menimbulkan penyakit pada tanaman (patogenisitas). Uji patogenisitas yang dilakukan menggunakan metode Nunez et al. (2002) yakni dengan melukai daun tanaman sehat yang berumur dua minggu menggunakan jarum steril, kemudian disemprotkan suspensi bakteri sebanyak 10ml, dan perlakuan kontrol disemprotkan menggunakan akuades steril. Kemudian diinkubasi selama 24 - 72 jam.

g. Uji Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif dilakukan menurut metode Kawamoto dan Lorbeer (1972) yang telah dilakukan modifikasi, yakni biakan murni bakteri ditumbuhkan dan diperbanyak selama 48 jam pada media NA. setelah 48 jam dilakukan pengenceran dan disuntikkan sebanyak 1 ml suspensi dengan konsentrasi 10^8 cfu/ml pada ruang interseluler daun muda tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) berumur satu bulan dengan menggunakan metode *hypodermic syringe* (tanpa jarum).

Timbulnya gejala berupa *water soaking* dilanjutkan dengan munculnya bercak kecil atau nekrosis pada daerah suntikan di daun yang terjadi dalam waktu 24 – 48 jam menunjukkan adanya reaksi positif. Hasil positif menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri tumbuhan dan patut diduga sebagai bakteri patogen.

2.3.3 Uji Antagonis Terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*

Uji antagonis dilakukan dengan menumbuhkan isolat patogen dan isolat *Bacillus* spp. pada media NA secara bersamaan. Aktivitas antagonis ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening. Isolat murni bakteri patogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Xaa) dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-6} , suspensi bakteri kemudian diambil 0.1 ml dan disemprotkan pada cawan petri berisi media NA lalu diratakan dengan drigalski. Selanjutnya, isolat murni bakteri antagonis diambil menggunakan jarum ose lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 2 ml air steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah itu, kertas *whatman* dengan diameter 0.5 cm di celupkan pada suspensi isolat bakteri *Bacillus* spp., selanjutnya kertas *whatman* diambil menggunakan pinset dan diletakkan kedalam media yang sama pada bagian tengah. Pengamatan dilakukan selama tiga kali dengan interval 2 hari dengan mengukur pembentukan zona hambat bakteri *Bacillus* spp. terhadap Xaa.

Zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disc* yang akan diukur dalam satuan mm dengan rumus sebagai berikut:

Diameter zona hambat diukur dengan rumus= $\frac{DZB-DBD}{DBD}$

Keterangan:

DZB : Diameter Zona Hambatan

DBD : Diameter *Blank Discs*

Menurut Kesaulya *at al* (2015) penentuan daya hambat bakteri dikelomppokkan berdasarkan besarnya indeks hambatan dengan kategori: sangat kuat (>3,0) dengan symbol (++++) , kuat (2,0 – 2,9) dengan symbol (+++), sedang (1,0 – 1,9) dengan symbol (++) , lemah (0,1 – 0,9) dengan symbol (+) dan tidak memiliki sifat antagonis (0,0).