

## **Kemampuan antagonis bakteri endofit dari tanaman ciplukan terhadap patogen *Xanthomonas oryzae* Penyebab hawar daun bakteri pada padi secara *in vitro***

**Zahra Auliya, Ika Afifah Nugraheni, Nosa Septiana Anindita, Sharfina Mutia Syarifah**

<sup>1</sup> Program Studi S1 Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

\*Email: [ikaafifah@unisayogya.ac.id](mailto:ikaafifah@unisayogya.ac.id)

### **Abstrak**

Penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* merupakan salah satu penyakit yang dapat menurunkan produktivitas padi. Pengendalian terhadap penyakit ini dengan penggunaan agensia hayati berupa bakteri endofit dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bakteri endofit dari tanaman ciplukan mampu menghambat serta mengendalikan hawar daun bakteri pada padi yang disebabkan oleh patogen *X. oryzae*. Metode penelitian meliputi karakterisasi morfologi makroskopik dan mikroskopik, perhitungan laju pertumbuhan bakteri endofit, uji hipersensitifitas bakteri endofit, dan uji antagonis isolat bakteri endofit dari ciplukan terhadap pathogen *X. oryzae*. Penelitian ini dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dengan subyek penelitian yaitu bakteri endofit kode isolat DA(1)4, BA2(3), BU3(5), dan BU2(4). Pada karakterisasi morfologi mikroskopik dan makroskopik isolat bakteri endofit, dilakukan identifikasi kembali isolat yang sebelumnya sudah ada. Metabolit sekunder isolat endofit BU3(5) dapat dipanen pada fase stationer akhir, yaitu pada jam ke-78, DA1(4) jam ke-80, BU2(4) jam ke-100, dan BA2(3) jam ke-72. Pada uji hipersensitifitas tanaman tembakau, diperoleh 3 isolat bakteri endofit yaitu BA2(3), BU3(5), dan BU2(4) yang tidak bersifat patogen, yang ditandai dengan tidak adanya gejala nekrosis, sehingga isolat tersebut dapat digunakan untuk pengujian antagonis. Hasil uji antagonis pada inkubasi 120 jam menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit BU3(5) dan BU2(4) tergolong daya hambat lemah, sedangkan BA2(3) tidak membentuk zona hambat. Hasil penelitian membuktikan bahwa bakteri endofit dari tanaman ciplukan dapat menghambat patogen *X. oryzae* secara *in vitro*. Kemampuan antagonis yang dimiliki oleh isolat endofit BU3(5) dan BU2(4) dalam menghambat pertumbuhan patogen *X. oryzae* diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai agen hayati untuk mengurangi penggunaan pestisida dalam mengatasi penyakit pada tanaman.

**Kata Kunci:** ciplukan; endofit; penyakit hawar daun bakteri

## ***Antagonistic ability of endophytic bacteria from ciplukan plants against xanthomonas oryzae pathogen causing bacterial leaf blight in rice in vitro***

### **Abstract**

Bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* bacteria is one of the diseases that can reduce rice productivity. Control of this disease with the use of biological agents in the form of endophytic bacteria from ciplukan plants (*Physalis angulata* L). The purpose of this study was to determine the endophytic bacteria from ciplukan plants that can inhibit and control bacterial leaf blight in rice caused by the pathogen *X. oryzae*. The research methods included macroscopic and microscopic morphological characterization, calculation of the growth rate of endophytic bacteria, hypersensitivity test of endophytic bacteria, and antagonistic test of endophytic bacterial isolates from ciplukan against the pathogen *X. oryzae*. This research was conducted in three replicates with the research subjects being endophytic bacteria isolate code DA(1)4, BA2(3), BU3(5), and BU2(4). In the characterization of microscopic and macroscopic morphology of endophytic bacterial isolates, re-identification of previously existing isolates was carried out. Secondary metabolites of endophytic isolate BU3(5) can be harvested at the final stationary phase, namely at 78th hour, DA1(4) at 80th hour, BU2(4) at 100th hour, and BA2(3) at 72nd hour. In the hypersensitivity test of tobacco plants, 3 endophytic bacterial isolates were obtained, namely BA2(3), BU3(5), and BU2(4) which were not pathogenic, characterized by the absence of necrosis symptoms, so that these isolates could be used for antagonistic testing. The results of the antagonistic test at 120 hours incubation showed that the endophytic bacterial isolates BU3(5) and BU2(4) were classified as weak inhibition, while BA2(3) did not form an inhibition zone. The results prove that endophytic bacteria from ciplukan plants can inhibit the pathogen *X. oryzae* *in vitro*. The antagonistic ability possessed by endophytic isolates BU3(5) and BU2(4) in inhibiting the growth of the pathogen *X. oryzae* is expected to be utilized as a biological agent to reduce the use of pesticides in overcoming plant diseases.

**Keywords:** ciplukan; endofit; bacterial leaf blight of rice plants

## 1. Pendahuluan

Padi merupakan sumber makanan pokok penduduk Indonesia. Sepanjang Januari hingga Desember 2023 produksi padi sebesar 53,98 juta ton gabah kering giling (GKG) yang mana jumlah tersebut menurun sebesar 1,40 % dari periode 2022 (Badan Pusat Statistik, 2022). Peningkatan produksi beras saat ini menjadi fokus utama untuk mengatasi masalah kekurangan pasokan (Nurkholis dkk., 2020). Namun, upaya peningkatan produksi beras nasional sering terhambat oleh berbagai faktor cekaman biotik maupun abiotik. Faktor biotik yang menjadi penghambat dalam produksi padi adalah adanya serangan dari organisme pengganggu tanaman (OPT), salah satunya adalah penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh bakteri *X. oryzae* (Yuliani dan Rohaeni, 2017).

Serangan penyakit hawar daun bakteri dapat menyebabkan kerugian hasil panen pada tanaman padi. Akibat dari kerusakan daun, kemampuan fotosintesis pada tanaman padi terganggu, sehingga gabah tidak terisi penuh bahkan hampa. Penularan pada fase vegetatif menyebabkan tanaman puso, sedangkan serangan pada fase generatif menyebabkan pengisian gabah menjadi kurang sempurna dan kehilangan hasil mencapai 50% (Widiyatmoko *et al.*, 2022). Selain pada tanaman padi, *X. oryzae* juga merusak tanaman ekonomi lainnya seperti padi, jeruk, pisang, kol, tomat, lada dan kacang-kacangan (Husain *et al.*, 2021). *X. oryzae* merupakan organisme penyebab penyakit hawar daun bakteri yang dapat mengurangi produktivitas padi secara nyata. Penyakit ini tersebar luas di 32 provinsi di Indonesia dengan tingkat penularan berkisar dari ringan hingga berat (Yuliani dan Rohaeni, 2017). Infeksi *X. oryzae* dapat ditularkan melalui benih, tanaman yang terinfeksi, sisa gulma dan air irigasi dapat menjadi sumber penyebaran *X. oryzae* (Ranjani *et al.*, 2018).

Penggunaan pestisida kimia selama ini dilakukan petani guna mengatasi gangguan penyakit pada tanaman karena dinilai efektif dan cepat. Namun, penggunaan pestisida kimia diketahui berdampak buruk, baik bagi keamanan konsumen dan lingkungan. Hal tersebut disebabkan karena aplikasi penggunaan pestisida kimia meninggalkan residu yang membahayakan kesehatan konsumen dan menyebabkan matinya predator alami yang berdampak buruk terhadap keseimbangan ekosistem (Sumarno dkk., 2015). Oleh karena hal tersebut, salah satu alternatif pengendalian penyakit hawar daun bakteri dapat dilakukan dengan memanfaatkan bakteri endofit yang hidup dalam jaringan tumbuhan sebagai agensia pengendalian hayati (Marwan dkk., 2021). Agen hayati tersebut dapat berupa bakteri endofit yang terdapat pada tanaman ciplukan (Nursanti dkk., 2020). Pemanfaatan bakteri endofit dalam pengendalian hayati merupakan pilihan yang relatif murah, mudah dalam pengaplikasian serta bersifat ramah terhadap lingkungan (Sudewi *et al.*, 2020).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Setianah *et al.*, (2021) membuktikan bahwa isolat DA1 (4), BA2 (3), BU3(5), dan BU2(4) dari tanaman ciplukan memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat sekitar 0,5 mm sampai 2 mm. Sementara itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Jannah dkk., (2023) menunjukkan bahwa bakteri endofit *Paenibacillus polymyxa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* secara *in vitro* dengan zona hambat 51,54%. Berdasarkan penelitian tersebut, isolat DA1 (4), BA2 (3), BU3 (5), dan BU2(4) kemungkinan juga berpotensi dapat menghambat bakteri patogen lainnya. Sejauh ini, penelitian mengenai potensi bakteri endofit pada ciplukan sebagai agen hayati untuk mengendalikan patogen *X. oryzae* penyakit hawar daun padi belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui kemampuan penghambatan isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan terhadap patogen *X. oryzae*.

## 2. Metode

### 2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium mikrobiologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Penelitian ini berlangsung pada Oktober 2023 hingga Juli 2024.

### 2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain gunting, jarum ose, korek, spatula, mikroskop (*Olympus*), timbangan analitik, autoklaf (Hirayama), spektrofotometer (*Thermo Scientific USA*), bunsen, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, *hot plate* (Scilogex), Laminar Air Flow Kabinet (LAF), inkubator (Velp FOC), alumunium foil, *shaker*, *cotton swab* steril (*Onemed*), *slide*, penjepit *slide*, bak

slide, pipet tetes, alat tulis, kamera. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquades, alkohol 95%, iodine, zat warna kristal violet, isolat bakteri endofit dari koleksi Laboratorium Biologi Molekuler Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta penelitian sebelumnya (Setianah, 2020), isolat bakteri patogen *X. oryzae* dari koleksi laboratorium Universitas Gajah Mada, media pertumbuhan nutrient agar (NA) (Merck, German), media pertumbuhan nutrient broth (NB) (Merck, German), dan aquades steril.

### 2.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menguji kemampuan antagonis isolat bakteri endofit DA1(4), BA2(3), BU3(5), dan BU2(4) terhadap patogen *X. oryzae* secara *in vitro*. Diameter zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri patogen diamati dan dilakukan perhitungan indeks zona penghambatan, serta dibandingkan efektivitasnya dengan kontrol positif.

### 2.4. Pelaksanaan Penelitian

#### a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang disterilisasi adalah cawan petri, tabung erlenmeyer, dan tabung reaksi. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada temperatur 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Alat-alat yang akan disterilisasi sebelumnya dimasukkan ke dalam plastik dan diikat dengan karet (Mulyasari, 2018).

#### b. Peremajaan isolat bakteri endofit

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri endofit pada cawan petri yang berisi media NA steril. Satu koloni bakteri endofit diambil dengan jarum ose steril, lalu diinokulasi ke media lempeng NA menggunakan metode gores dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam (Kurniawan dkk., 2021). Koloni yang memiliki kesamaan dalam hal warna, bentuk, tepian, dan elevasi diidentifikasi sebagai isolat yang sama (Wondal *et al.*, 2019). Selanjutnya, diamati kenampakan morfologi makroskopisnya seperti warna, bentuk, dan ukuran koloni. Isolat bakteri endofit kemudian di subkultur hingga menjadi isolat murni, dan disimpan sebagai stok kultur murni pada medium NA miring dalam tabung reaksi (Aqlinia *et al.*, 2020).

#### c. Peremajaan isolat bakteri *X. oryzae*

Bakteri patogen *X. oryzae* diperoleh dari koleksi Laboratorium Universitas Gajah Mada. Bakteri patogen tersebut selanjutnya dilakukan peremajaan. Proses peremajaan dilakukan dengan cara mengambil satu jarum ose biakan isolat murni *X. oryzae* kemudian digoreskan pada permukaan cawan petri yang berisikan media NA untuk selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (Yanuar dkk., 2016).

#### d. Karakterisasi Morfologi Makroskopik dan Mikroskopik

Proses karakterisasi morfologi bakteri meliputi pengamatan makroskopik dan pengamatan mikroskopik, termasuk bentuk, tepi, elevasi, warna, ukuran koloni, dan sifat gram yang mengacu pada Cappucino dan Sherman (2001). Pengecetan gram dilakukan dengan menyiapkan bakteri berumur 48 jam di atas gelas obyek steril, diwarnai dengan kristal violet, iodine, dan dicuci dengan alkohol 95%, lalu diwarnai dengan safranin. Bakteri kemudian diamati dengan melihat bentuk sel bakteri dibawah mikroskop. Gram negatif ditunjukkan oleh warna merah terang dan Gram positif berwarna ungu gelap (Pratista, 2019).

#### e. Perhitungan laju pertumbuhan bakteri endofit

Isolat DA1(4) dan BU2(4) dikultur sebanyak satu ose pada media NA dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang sebagai langkah awal persiapan proses fermentasi. Selanjutnya, satu ose dari isolat tersebut dipindahkan ke dalam 150 mL media NB untuk fermentasi (Iqlima *et al.*, 2017). Proses fermentasi berlangsung dari jam ke-0 hingga 120 jam pada suhu ruang dengan menggunakan *shaker* secara tertutup. *Sampling* dilakukan setiap 2 jam sekali dengan mengambil 3 mL kultur bakteri ke dalam kuvet dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm

(Elita *et al.*, 2013). Pengulangan dilakukan sebanyak 2 kali untuk laju pertumbuhan sehingga diperoleh ulangan 1 dan ulangan 2. Panjang gelombang 600-625 nm biasanya digunakan dalam uji antibakteri dengan spektrofotometer UV-Vis, karena rentang ini dapat melihat tingkat kekeruhan dari larutan yang berwarna kuning sampai coklat (Furqonita dkk., 2021).

#### **f. Uji Hipersensitifitas bakteri endofit**

Uji hipersensitifitas dilakukan dengan menggunakan daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) umur 4 bulan. Empat isolat kandidat bakteri endofit BA2(3), DA1(4), BU2(4) dan BU3(5) yang sudah diremajakan, selanjutnya dilakukan pengambilan isolat tunggal pada masing-masing bakteri endofit, kemudian menumbuhkan koloni tunggal bakteri pada media NB kemudian digoyang menggunakan *shaker* selama 24 jam. Sebelum di *shaker* dilakukan penggojokan manual kultur bakteri selama 5 menit untuk membuat suatu kondisi sehingga dimungkinkan bakteri homogen dalam larutan. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri menggunakan panjang gelombang sebesar 600 nm, nilai absorbansi antara 0,08 sampai 0,13 sehingga diperoleh kerapatan bakteri untuk standar kekeruhan McFarland 0,5. Setiap suspensi bakteri endofit tersebut diambil menggunakan spuit steril sebanyak  $\pm 2$  mL untuk selanjutnya dilakukan injeksi pada bagian belakang daun tanaman tembakau, perlakuan injeksi pada setiap isolat diulang sebanyak 3 kali (Sanjaya *et al.*, 2019). Kontrol negatif diinjeksi dengan akuades steril sedangkan kontrol positif menggunakan patogen *X. oryzae*. Selanjutnya, perlakuan tersebut diamati selama 120 jam (Arimbawa *et al.*, 2019 dengan modifikasi). Isolat yang menunjukkan reaksi negatif hipersensitif, akan dilanjutkan ke pengujian antagonis untuk membuktikan kemampuan penghambatannya terhadap patogen *X. oryzae*.

#### **g. Pembuatan suspensi bakteri endofit**

Pembuatan suspensi bakteri dibuat berdasarkan data hasil perhitungan laju pertumbuhan bakteri endofit. Bakteri tersebut kemudian diukur kepadatannya menggunakan spektrofotometer 600 nm untuk standar McFarland 0,5 ( $10^8$ CFU/mL). Suspensi dipindahkan ke dalam *tube* dan dilakukan sentrifugasi 20 menit kecepatan 3000 rpm (Aqlinia *et al.*, 2020), sehingga akan diperoleh larutan supernatan dan biomassa pada *tube*. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai tes uji antagonis.

#### **h. Pembuatan suspensi bakteri *X. oryzae***

Isolat bakteri patogen yang sudah murni kemudian dilakukan pembuatan suspensi dengan cara menumbuhkan bakteri patogen yang berusia 48 jam pada media cair NB. Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam di *shaker* pada suhu ruang. Suspensi bakteri selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer 600 nm untuk standar 0,5 Mc-farland ( $10^8$ CFU/mL) (Larasaty dkk., 2019).

#### **i. Persiapan Uji antagonis Isolat Bakteri endofit dari ciplukan terhadap *X. oryzae***

Pada persiapan uji antagonis, pembuatan suspensi setiap bakteri yaitu BU2(4), BU3(5), BA2(3) dan *X. oryzae* dilakukan pada waktu yang berbeda. Pemanenan metabolit sekunder dilakukan pada fase stationer akhir, dimana metabolit sekunder dihasilkan. Bakteri BU2(4) dipanen pada jam ke-80, BA2(3) dan BU3(5) mengacu pada penelitian yang dilakukan A'yun (2023), dan Amanah (2024) dipanen pada jam ke-72 dan jam ke-78. Sedangkan pada bakteri *X. oryzae* dipanen pada jam ke-24. Pemanenan metabolit sekunder ini bertujuan untuk mengumpulkan larutan yang akan digunakan sebagai supernatan dalam tes uji antagonis.

#### **j. Uji antagonis Isolat Bakteri endofit dari ciplukan terhadap *X. oryzae***

Uji antagonis secara *in vitro* dilakukan dengan metode difusi cakram (*disc diffusion*). Medium NA disiapkan dengan menuang 15 ml media secara aseptis ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Kemudian 100  $\mu$ l suspensi *X. oryzae* yang telah diinkubasi selama 24 jam di *shaker*, diinokulasikan ke permukaan media NA menggunakan swab steril. Kemudian masing-masing kertas saring (diameter 5 mm) diambil menggunakan pinset kemudian ditetesi dengan 50  $\mu$ l supernatan dari bakteri endofit. Kontrol positif berupa kloramfenikol sebanyak 25  $\mu$ l, dan kontrol negatif yang digunakan yaitu akuades steril sebanyak 25  $\mu$ l. Kertas saring tersebut diletakkan diatas

medium NA dan diinkubasi pada suhu 37°C di inkubator selama 120 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong yang dihitung dari hari ke- 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 (Indrawati *et al.*, 2019).

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Karakterisasi morfologi makroskopik dan mikroskopik

Karakterisasi morfologi makroskopik dilakukan dengan mengamati koloni bakteri secara langsung, dan pengamatan mikroskopik dilakukan dengan mengamati sel di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Tujuan pengamatan isolat endofit adalah untuk mengamati bentuk pertumbuhan isolat bakteri yang terbentuk dan memastikan isolat endofit terbebas dari kontaminasi. Hasil karakterisasi makroskopik dan mikroskopik dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Ciri morfologi isolat makroskopis dan mikroskopis bakteri endofit ciplukan

No	Kode isolat	Koloni (makroskopis)				Sel (mikroskopis)	
		warna	bentuk	elevasi	tepi	gram	bentuk
1	DA1(4)	putih	bulat	cembung	mulus	positif	<i>coccus</i>
2	BA2(3)	orange	bulat	cembung	mulus	positif	<i>coccus</i>
3	BU3(5)	kuning	bulat	cembung	mulus	negatif	<i>coccus</i>
4	BU2(4)	krem	bulat	cembung	mulus	negatif	<i>coccus</i>

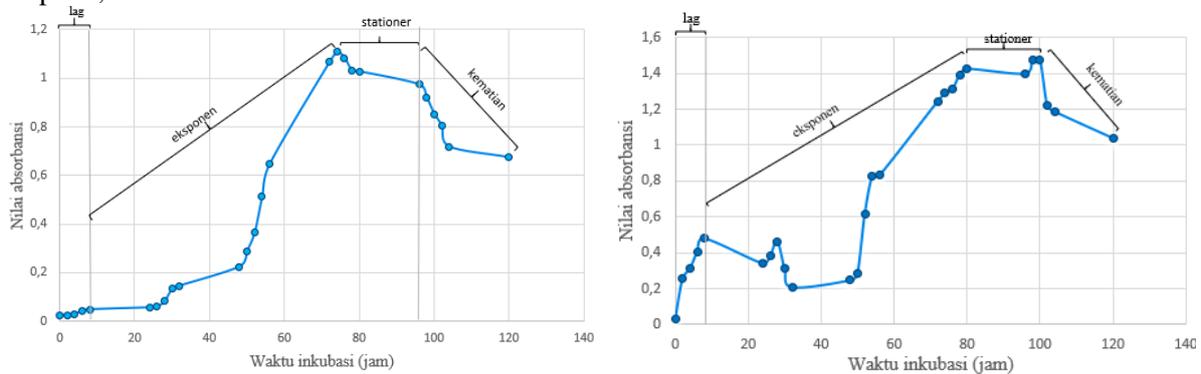
Pada Tabel 1 diketahui bahwa isolat DA1(4) memiliki bentuk bulat, elevasi cembung, tepi mulus, koloni berwarna putih dan sifat gram positif. Isolat BA2(3) memiliki bentuk bulat, elevasi cembung, tepi mulus, koloni berwarna orange, dan sifat gram positif. Isolat BU3(5) memiliki bentuk bulat, elevasi cembung, tepi mulus, koloni berwarna kuning, dan sifat gram negatif. Isolat BU2(4) memiliki bentuk bulat, elevasi cembung, tepi mulus, koloni berwarna krem, dan sifat gram negatif. Berdasarkan karakterisasi morfologi makroskopis yang telah dilakukan, isolat bakteri endofit menunjukkan kesesuaian dengan karakterisasi yang sebelumnya yang dilakukan oleh Setianah (2021), baik dari segi warna koloni, bentuk, elevasi, maupun tepi. Sementara itu, pada pengamatan mikroskopis, sifat gram dan bentuk sel juga menunjukkan kesamaan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nugraheni dan Mawaddah (2023). Oleh karena itu, isolat ini dapat dikonfirmasi sebagai isolat murni, berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya yang menunjukkan kesamaan karakteristik.

Faktor penyimpanan kultur stok dapat mempengaruhi terhadap pertumbuhan bakteri. Semakin lama waktu penyimpanan pada kultur stok, nutrisi didalam media akan berkurang. Menurut Rosmania dan Yuniar, (2021), bahwa ketika mikroorganisme mengalami kekurangan nutrisi, bakteri meresponsnya dengan menghentikan semua aktivitas metabolisme dan pertumbuhan. Selain itu, karakteristik koloni dapat berubah apabila terjadi kontaminasi pada kultur stok. Mutasi pada bakteri juga dapat menyebabkan perubahan dalam morfologi koloni dan sifat gram. Untuk menjaga kemurnian isolat, kultur harus disimpan dengan benar dalam kondisi yang tepat, yaitu suhu dan media yang sesuai. Selain itu, menerapkan teknik aseptik juga diperlukan untuk mencegah kontaminasi pada isolat bakteri.

#### 3.2. Perhitungan laju pertumbuhan bakteri endofit

Laju pertumbuhan bakteri endofit dapat diperoleh dengan perhitungan nilai absorbansi yang dihasilkan pada saat fermentasi bakteri di media NB. Pada Gambar 1 diketahui bahwa fase lag bakteri DA1(4) dan BU2(4) terjadi pada jam ke 0 sampai jam ke 8. Nilai rata-rata absorbansi bakteri DA1(4) dari 0,024 menjadi 0,048. Pada fase lag, kurva mendatar menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri sedikit atau belum terjadi peningkatan bakteri karena bakteri beradaptasi pada lingkungan baru. Fase eksponen bakteri DA1(4) terjadi pada jam ke 8 sampai jam ke 74 dengan nilai rata-rata absorbansi dari 0,029 menjadi 1,108 menunjukkan pertumbuhan eksponensial yang cepat. Sedangkan pada BU2(4) terjadi pada jam ke 8 sampai 80, dengan nilai rata-rata absorbansi dari 0,480 menjadi 1,426. Pada Gambar 1, kurva terlihat meningkat secara signifikan yang menandakan bahwa terjadi peningkatan jumlah bakteri yang sangat cepat. Pada fase stasioner bakteri DA1(4) dimulai pada jam ke 74 sampai jam ke 96, dengan nilai rata-rata absorbansi dari 1,108 sampai 0,973. Sedangkan pada bakteri BU2(4) terjadi pada jam ke 80 sampai 100, dengan nilai rerata absorbansi 1,426 sampai 1,474. Pada fase ini,

pemanenan metabolit sekunder bakteri DA1(4) diambil pada jam ke-80, sedangkan pada BU2(4) pada jam ke 100. Pada titik ini, laju pertumbuhan bakteri mulai melambat dan populasi mencapai keseimbangan. Setelah itu, nilai absorbansi bakteri DA1(4) dan BU2(4) mulai menurun yang menunjukkan penurunan populasi bakteri atau disebut fase kematian. Fase kematian bakteri DA1(4) terjadi setelah jam ke-80, dengan nilai rata-rata absorbansi dari 1,027 menjadi 0,674 pada jam ke-120. Pada bakteri BU2(4) terjadi pada jam ke 100 sampai 120 dengan nilai rata-rata absorbansi dari 1,474 sampai 1,039.



**Gambar 1.** Grafik pertumbuhan bakteri DA1(4) dan BU2(4)

Pengukuran laju pertumbuhan isolat bakteri endofit DA1(4) dan BU2(4) dilakukan untuk menghasilkan grafik pertumbuhan bakteri tersebut, dengan tujuan menentukan fase stasioner ketika produksi metabolit sekunder mulai berlangsung. Berdasarkan hasil penelitian Sadikin dkk., (2021) fase lag terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-2. Sementara itu, dalam penelitian ini terdapat perbedaan fase lag pada bakteri endofit DA1(4) dan BU2(4) yang terjadi berlangsung lama yaitu pada jam ke-0 sampai jam ke-8. Hal ini dikarenakan saat melakukan perhitungan laju pertumbuhan bakteri endofit tidak dilakukannya *scale up* untuk mempersiapkan adaptasi bakteri dari skala yang kecil ke media dengan volume yang lebih besar. Hal ini didukung dengan pendapat Setyati dkk., (2020) bahwa panjang atau pendeknya fase lag (adaptasi) sangat dipengaruhi oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologis bakteri, serta media kultivasi yang sesuai. Selama fase ini, sebagian besar energi digunakan oleh sel untuk beradaptasi dengan medium pertumbuhan yang baru. Fase lag ini biasanya terjadi pada beberapa hari pertama setelah sel dipindahkan ke medium baru (Mata, 2021).

Mengacu pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan A'yun (2023) menyebutkan bahwa fase stasioner akhir BA2(3) terjadi pada jam ke-58 sampai jam ke-74. Fase stasioner akhir bakteri BU3(5) terjadi pada jam ke-72 sampai 80. Pada fase ini, metabolit sekunder banyak diproduksi karena bakteri saling mempertahankan diri untuk bertahan hidup dengan cara mengeluarkan metabolit sekundernya. Oleh karena itu, pada penelitian ini di jam ke 78, dilakukan pemanenan bakteri untuk mengambil metabolit sekunder dari bakteri BU3(5) Amanah., (2024). Sedangkan pada penelitian A'yun, (2023) pemanenan bakteri BA2(3) dilakukan di jam ke-72.

Perbedaan pertumbuhan antara satu bakteri dengan bakteri lainnya disebabkan oleh kemampuan reproduksi yang bervariasi, tergantung pada media tumbuh dan nutrisi yang tersedia. Selain itu, faktor-faktor seperti pH dan suhu juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Imron dan Purwanti (2016) mengungkapkan bahwa laju pertumbuhan antar bakteri bervariasi. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan kandungan enzim dalam setiap bakteri, yang berpengaruh terhadap proses metabolisme serta produksi metabolit sekunder.

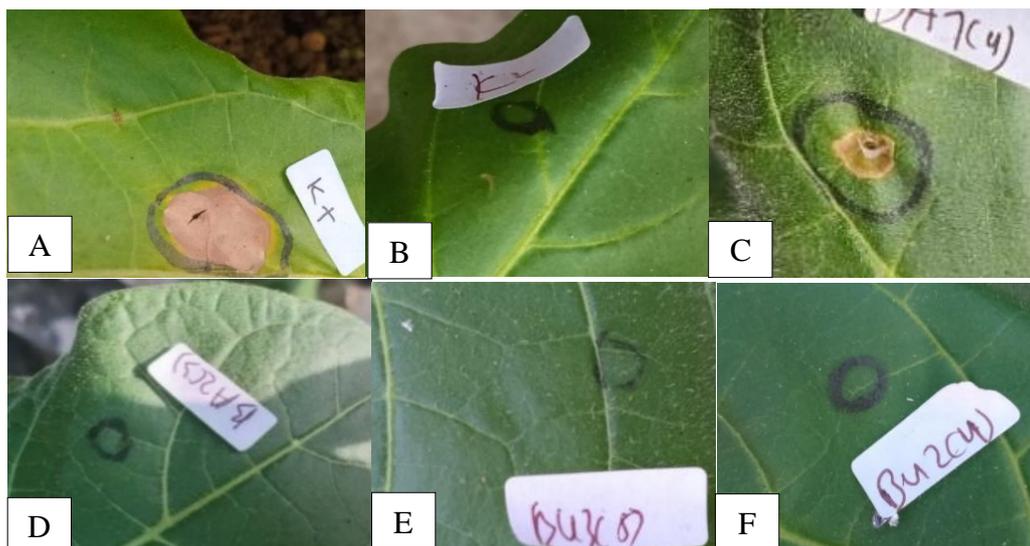
### 3.3. Uji Hipersensitifitas bakteri endofit

Uji hipersensitifitas pada tanaman tembakau merupakan langkah penting dalam mengidentifikasi patogen yang potensial. Pengujian ini bertujuan untuk menentukan apakah isolat bakteri yang ditemukan merupakan bakteri patogen tanaman. Wahyuni dkk., (2021) menyatakan bahwa salah satu penyebab bakteri dapat menimbulkan penyakit adalah karena adanya faktor virulensi (faktor patogenitas dan tingkat patogenitas). Pengamatan uji hipersensitifitas dilakukan sampai 5 hari. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

**Tabel 2.** Reaksi hipersensitif isolat bakteri endofit

No	Isolat	Reaksi hipersensitif	Gejala hipersensitif
1	DA1(4)	+	nekrosis
2	BA2(3)	-	-
3	BU3(5)	-	-
4	BU2(4)	-	-
5	Kontrol +	+	+
6	Kontrol -	-	-

Berdasarkan hasil pengujian hipersensitifitas pada Tabel 2, sebanyak 3 isolat bakteri yaitu BU2(4), BA2(3), BU3(5), dan isolate isolate1541 menunjukkan reaksi isolate1541 hipersensitif yang ditandai dengan tidak adanya nekrosis pada daun. Sedangkan reaksi positif hipersensitif ditunjukkan oleh isolate DA1(4) dan isolate positif dengan munculnya gejala nekrosis pada daun. Tanaman tembakau dipilih karena kemampuannya mengalokasikan serangan bakteri isolate1541 yang menginfeksi (Fitri dkk., 2023).



**Gambar 2.** Hasil pengujian reaksi hipersensitif hari ke 5, (A) Kontrol positif, (B) isolate isolate1541, (C) isolate DA1(4), (D) isolate BA2(3), € isolate BU3(5), dan (F) isolate BU2(4)

Gejala nekrosis pada Gambar 2 mulai terlihat pada hari ke-2 setelah inokulasi. Pada isolat BU3(5), BA2(3), BU2(4), dan kontrol negatif, daun tanaman tembakau tetap hijau tanpa gejala nekrosis. Sedangkan pada isolat DA1(4) dan kontrol positif terdapat bercak nekrosis pada bagian daun berwarna kecoklatan dan menjadi kering. Pengukuran nekrosis dilakukan dengan mengukur diameter pendek dan diameter panjang pada luas inokulasi nekrosis tersebut menggunakan jangka sorong dan dihitung rerata luasnya. Luas nekrosis pada isolat DA1(4) meluas dari hari ke 2 sampai hari 5 dengan rerata sebesar 10,8 mm. Sedangkan pada kontrol positif memiliki luas nekrosis yang tinggi dari hari ke 2 sampai hari ke 5 dengan rerata sebesar 31,25 mm. Wahyuni dkk., (2021) menyatakan bahwa reaksi hipersensitif terjadi pada tanaman yang terinfeksi ketika patogen terdeteksi, dan berperan dalam menghambat pertumbuhan patogen. Proses induksi reaksi hipersensitif ini dikendalikan oleh gen hrp, yang umumnya terdapat pada bakteri Gram negatif patogen tanaman, seperti pada kelompok *Xanthomonas* sp. Wang *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa gen hrp mengkode sistem sekresi tipe III (Type III Secretion System, T3SS) yang berperan dalam mentransfer protein efektor dari bakteri ke dalam sel tanaman. Protein ini membantu bakteri menginfeksi tanaman dengan mengganggu mekanisme pertahanan tanaman. Menurut Arimbawa dkk., bahwa timbulnya gejala nekrosis disebabkan oleh adanya proteksi dari sel tanaman yang menyebabkan kematian sel-sel di sekitar area infeksi dengan tujuan mencegah penyebaran patogen lebih lanjut. Isolat yang menunjukkan reaksi negatif hipersensitif, akan dilanjutkan ke pengujian antagonis untuk membuktikan kemampuan penghambatannya terhadap patogen *X. oryzae*.

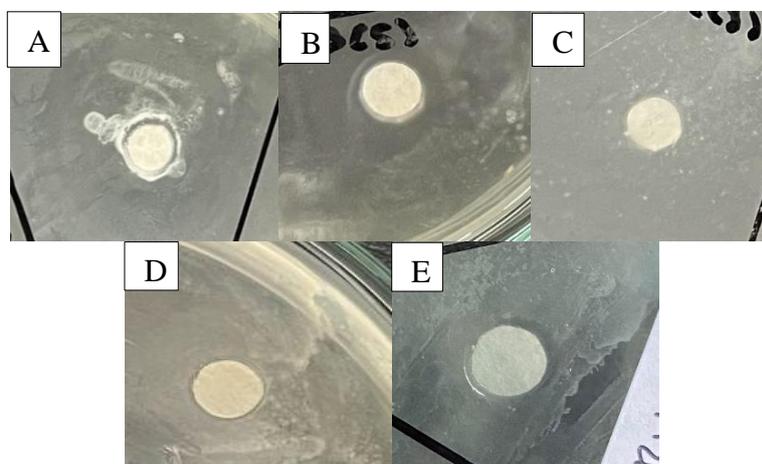
### 3.4. Uji antagonis bakteri endofit dari ciplukan terhadap *X. oryzae*

Pada uji antagonis ini, beberapa isolat menunjukkan zona penghambatan terhadap patogen *X. oryzae*. Penghambatan yang terbentuk antara bakteri endofit terhadap patogen *X. oryzae* ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Kertas cakram digunakan sebagai media untuk menyerap senyawa atau metabolit yang dihasilkan dari bakteri endofit. Rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

**Tabel 3.** Diameter zona hambat bakteri endofit terhadap patogen *X.oryzae*

Isolat	Rata rata $\pm$ SD(mm)
BA2(3)	0 $\pm$ 0
BU3(5)	0,65 $\pm$ 0,51
BU2(4)	0,25 $\pm$ 0,19
Kontrol +	19,61 $\pm$ 2,34
Kontrol -	0 $\pm$ 0

Berdasarkan hasil pengujian antagonis yang ditunjukkan pada Tabel 3, sebanyak 2 isolat yaitu BU3(5) dan BU2(4) mampu menghambat bakteri patogen *X. oryzae* dengan menghasilkan zona bening. Indeks penghambatan yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit masih lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Kontrol positif dapat menghasilkan zona bening tinggi karena kloramfenikol memiliki sifat bakteristatik (Pattipeilohy dkk., 2022). Sementara itu, pada isolat BA2(3) tidak menghasilkan zona bening.



**Gambar 3.** Uji antagonis isolat bakteri endofit terhadap isolat bakteri patogen *X.oryzae* jam ke-120 (a) kontrol positif, (b) BU3(5), (c) BA2(3), (d) Kontrol negatif, dan (e) BU2(4)

Berdasarkan Gambar 3, diketahui bahwa BU3(5) mempunyai rata rata diameter zona hambat sebesar 0,65 mm dengan kategori daya hambat lemah. Sedangkan pada isolat bakteri BU2(4) mempunyai rata rata diameter zona hambat sebesar 0,25 mm dengan kategori daya hambat lemah. Kontrol positif membentuk zona bening rata-rata sebesar 19,61 mm dengan kategori daya hambat kuat. Penggunaan kloramfenikol juga dapat menghambat pertumbuhan dari *X. oryzae* ditandai dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh di sekitar kertas cakram. Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan akuades steril.

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan tingkat kekuatan antibakteri yang bervariasi, yaitu lemah jika zona hambat kurang dari 5 mm, sedang jika berukuran 5- 10 mm, kuat dengan ukuran 10-20 mm, dan sangat kuat jika lebih dari 20 mm. Berdasarkan hasil uji antagonis, kontrol negatif tidak dapat membentuk zona hambat pada patogen *X. oryzae*. Hal ini menunjukkan bahwa patogen *X. oryzae* tumbuh dengan baik tanpa ada hambatan. Zona bening terbentuk karena adanya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit. Menurut Arimbawa dkk., (2019) terbentuknya zona hambat menandakan bahwa bakteri antagonis tersebut menghasilkan senyawa anti mikroba.

Mekanisme penghambatan patogen dilakukan melalui produksi antibiotik, toksin, kompetisi ruang dan nutrisi (Putri dkk., 2020). Zona hambat yang terbentuk antara bakteri endofit terhadap *X. oryzae* di sekitar kertas cakram, terjadi karena adanya mekanisme antibiosis. Mekanisme antibiosis dapat terjadi karena mikroba menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan mikroba untuk bertahan hidup atau berkompetisi sehingga patogen tidak dapat tumbuh di area tersebut (Widiantini dkk., 2022). Zona hambat yang terbentuk pada isolat BU3(5), BU2(4), dan BA2(3) kurang optimal dimungkinkan karena tidak dilakukan pelisisan sel untuk mengeluarkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa dari 4 kandidat isolat bakteri endofit, 3 isolat bakteri endofit menunjukkan reaksi negatif hipersensitifitas pada uji hipersensitifitas yaitu BU3(5), BU2(4), dan BA2(3). Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa bakteri endofit dengan kode isolat BU3(5), dan BU2(4) dapat menghambat pertumbuhan *X. oryzae* secara *in vitro* dengan rerata luas penghambatan sebesar 0,65 mm dan 0,25 mm dengan waktu inkubasi dari hari ke- 0, 24, 48, 72, 96, sampai hari ke-120. Saran jika dilakukan penelitian selanjutnya pada uji antagonis bakteri endofit dari tanaman ciplukan terhadap patogen *X. oryzae* penyebab hawar daun bakteri pada padi secara *in vitro*, sebaiknya dilakukan pelisisan pada sel untuk menghasilkan zona hambat yang maksimal.

#### Daftar Pustaka

- A'yun. Q. S. (2023). Optimasi aktivitas antibakteri metabolit sekunder dari bakteri endofit asal tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
- Amanah. Q. (2024). Potensi Bakteri Endofit Sebagai Pengendali Hayati Terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Tanaman Tomat Secara *In vivo*. *Unpublished data*
- Aqlinia, M., Sri, P., & Wijanarka. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) dan Uji Antibakteri Supernatan *Crude* Metabolit Sekunder Isolat Potensial Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Akademika Biologi*, 9(1): 23–31
- Arimbawa. M.I., Wirya. S. A. N.G., Sudana. M.I., dan Winantara. M. I. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Antagonis untuk Pengendalian Penyakit Busuk Batang Panili (*Vanilla planifolia Andrews*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 8(2):192-193
- Badan Pusat Statistik. (2022). Luas Panen dan Produksi Padi di Indonesia 2021 (Angka Tetap). *Bps*, 2021(21), 1–20
- Cappuccino, J.G., Sherman, N. (2001), "*Microbiology: A Laboratory Manual*". New York: Addison-Wesley Publishing Company
- Djarmiko. A. H., Kurniawan. W. D., & Prihatiningsih. N. (2022). Potential of *Bacillus subtilis* potato isolate as biocontrol agent of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and candidate for nanosuspension formula. *Journal Biodiversity*, 23(7): 3313-3317
- Eryah. P. H., Telnoni. P. S., Costa. D. Y. 2023. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penyakit Hawar Daun Di Desa Naibonat Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. *Flobamora Biological Jurnal*, 2(1): 8-17
- Fitri. E., Widiantini. F., dan Yulia. E. (2023). Kejadian dan Uji Hipersensitivitas Bakteri yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Batang Jagung di Sumbawa Nusa Tenggara Barat. *Jurnal Agrikultura* 2023, 34(2): 210-217
- Furqonita.A., Aritonang. B.A., & Wibowo. A. M. (2021). Sintesis TiO<sub>2</sub> Terdoping Bi<sup>3+</sup> Dan Uji Aktivitas Fotokatalisis Antibakteri *E.coli* Dengan Bantuan Sinar Tampak. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(2): 69-80
- Halim. A. R., Hasan. A. N., & Ramachandran. K. (2020). Screening of Endophytic Bacteria as Biocontrol Agents Against Bacteria Leaf Blight (*Xanthomonas oryzae*). *Journal of Biosciences*, 27(3): 215-220
- Husain. A., Naqqash. T., Aslam. K., Hussain. B. S., Shah. M. S., & Shabir. G. (2021). Anti-bacterial Effect of Aqueous and Ethanolic Extracts of Onion, Garlic and Cinnamon on *Xanthomonas* Species. *Biotechnology Journal International*, 25(4): 45-53

- Imron, M.F., dan Purwanti, I.F., (2016), Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter* S8 dan *Bacillus subtilis* untuk Menyisihkan *Trivalent Chromium* (Cr<sup>3+</sup>) pada Limbah Cair, *Jurnal Teknik ITS*, 5 (1): 4-10.
- Indrawati. A., Hartih. A. N., & Muyassara. (2019). Isolasi dan Uji Potensi Fungi Endofit Kulit Batang Langsung (*Lansium domesticum* Corr.) Penghasil Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Media Farmasi*, XV(1): 1-7
- Iqlima. D., Ardiningsih. P., dan Wibowo. A. M. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2D Dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (POEPP. & Endl.) H. ROB.). *JKK*, 7(1); 36-42
- Jannah. M., Marlina., Hakim. L. (2023). Potensi Bakteri Endofit *Paenibacillus polymyxa* dalam Menghambat Beberapa Patogen Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(4): 953-963
- Kurniawan. E. S., Mahyarudin., dan Rialita. A. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1): 14-29
- Larasaty. S., Mukarlina., & Kurniatuhadi. R. (2019). Uji Antagonis *Pseudomonas fluorescens* spp. Terhadap Isolat Bakteri *Xanthomonas* (SL3) dari Daun Padi Bergejala Hawar di Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Bios Logos*, 11(1): 13:18
- Marwan. H., Nusifera. S., & Mulyati. S. (2021). Potensi Bakteri Endofit sebagai Agens Hayati untuk Mengendalikan Penyakit Blas pada Tanaman Padi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(3): 328-333
- Mata. H. M. (2021). Akumulasi  $\alpha$ -Tokoferol pada Organ Tanaman dan Kultur Suspensi Sel *Jatropha gossypifolia* Linn dari Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Saintek Lahan Kering*, 4(1): 12-15
- Mulyasari, H. (2018). Eksplorasi Jamur Endofit Dan Khamir Pada Tanaman Padi Serta Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Jamur *Pyricularia* sp. Penyebab Penyakit Blas. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Nurkholis. A., Muhaqiqin. M., & Susanto. T. (2020). Analisis Kesesuaian Lahan Padi Gogo Berbasis Sifat Tanah dan Cuaca Menggunakan ID3 Spasial. *Jurnal Informatika*, 235-244
- Nursanti. W. O., Astuti. W., & Ruga. R. (2022). Skrining Amilase, Lipase Dan Protease Dari Bakteri Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Jurnal Akademika Biologi*, 8(2): 1-5
- Pattipeilohy. J. A., Umar. P. B. C., dan Pattilouw. T. M. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus*) Di Desa Lisabata Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Menggunakan Metode Difusi Agar. *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1): 80-88
- Pratista. R. D. (2019). Potensi Bakteri Filosfer Tumbuhan Rumput Gajah Di UB Forest Dalam Menekan Patogen Hawar Daun Padi (*Xanthomonas oryzae*). *Skripsi*: Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya
- Prihatiningsih. N., Djatmiko. A. H., Lestari. P. (2021). Mekanisme Bakteri Endofit Akar Padi Sebagai Pengendali Patogen Hawar Daun Bakteri Padi. *Prosiding Seminar Nasional LPPM Unsoed*, Purwokerto. 30-37
- Putriani. P., Fitri. L., dan Ismail. S.Y. (2019). The Potential Endophytic Bacteria Isolated from Rice (*Oryza sativa*) as Biofertilizer. *Journal of Biology & Biology Education*, 11(2): 178-185
- Putri. A., Rusli. R., dan Rahma. (2020). Uji Antagonis Bakteri Endofit Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Curvularia lunata* Secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional*, Yogyakarta. 229-236
- Putriani., Fitri. L., Ismail. S. Y. 2019. The Potential Endophytic Bacteria Isolated from Rice (*Oryza sativa*) as Biofertilizer. *Journal of Biology & Biology Education*, 11(2): 178-185
- Ranjani, P., Gowthami, Y., Gnanamanickam, S. S., & Palani, P. (2018). Bacteriophages: A new weapon for the control of bacterial blight disease in rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 46(4), 346–359.
- Resti. Z., Liswarni. Y., & Martinius. (2020). Endophytic Bacterial Consortia As Biological Control Of Bacterial Leaf Blight And Plant Growth Promoter Of Rice (*Oryza Sativa* L). *Journal Of Applied Agricultur Science And Technology*, 4(2): 134-145

- Rosmania., dan Yanuar. (2021). Pengaruh waktu penyimpanan inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada suhu dingin terhadap jumlah sel bakteri di Laboratorium Mikrobiologi. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(3): 117-124
- Sadikin. N. A. N., Bintari. H. S., Widiatningrum. T., dan Dewi. P. (2021). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science Journal*, 10(2): 109-119
- Sanjaya. W.P. N.G.I., Wirya. S. A.N.G., Phabiola. A. T., dan Winantara. M. I. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Antagonis Sebagai Alternatif Pengendalian Penyakit Layu Stroberi. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 8(2): 252-262
- Serdani, A. D., Aini, L. Q., & Abadi, A. L. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari tanaman padi (*Oryza sativa*) sebagai pengendali penyakit hawar daun bakteri akibat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Jurnal Viabel Pertanian*, 12(1), 18–26
- Setianah, H., Nugraheni, I. A., & Wibowo, D. S. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Asal Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Health Studies*, 5(1), 50–61
- Setyati. A. W., Martani. E., Triyanto, Subagiyo., dan Zainuddin. M. (2015). Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 20(3): 163-169
- Sudewi, S., Ala, A., Baharuddin, & Farid, M. (2020). The isolation, characterization endophytic bacteria from roots of local rice plant kamba in, central sulawesi, indonesia. *Biodiversitas*, 21(4), 1614–1624
- Sumarno. M., Budiharjo. A., dan Pujiyanto. S., (2015). Potensi Rizobakteri Pembentuk Endospora Dari Tanaman Padi Sebagai Biokontrol Fitopatogen *Xanthomonas oryzae*. *Jurnal Biologi*, 3(3): 7-17
- Syamsia. (2023). Potensi Cendawan Endofit Sebagai Pengendali Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. *Jurnal Galung Tropika*, 12(1): 1-8
- Wahyuni. S., Fauziyah. R., Aziz. A. M., Eris. D. D., Prakosos. T. H., Priyono., dan Siswanto. (2021). Sintesis Komposit Kitosan berbasis Selongsong Black Soldier Fly (BSF) dengan Ekstrak Daun Kipahit dan Uji Penghambatannya terhadap *Xanthomonas oryzae*. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan*, 5(2): 16-23
- Wang. J., Shao. X., Zhang. Y., Zhu. Y., Yang. P., Yuan. J., Wang. T., Yin. C., Wang. W., Chen. S, Liang. H., & Deng. X. (2018). HrpS Is a Global Regulator on Type III Secretion System (T3SS) and Non-T3SS Genes in *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*, 31(12): 1232-1243
- Widiantini. F., Yulia. E., dan Fiko. S. D. (2022). Penghambatan Pertumbuhan *Rhizoctonia solani* dan Penekanan Serangannya pada Perkecambah Tanaman Padi oleh Bakteri Endofit Padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 18(2): 75-84
- Widiyatmoko, E. W., Setiawan, A. W., & Handoko, Y. A. (2022). Evaluasi Kestabilan *Xanthomonas oryzae* phages Hasil Isolasi dari Lahan Sawah Kelurahan Pulutan Kecamatan Sidorejo Salatiga pada Berbagai Kondisi pH. *Agricultural Journal*, 5(2), 289–297
- Widjyanti. T. Kusuma. R. R., Aini. Q. L., Fitriani. A. D. C., Sektiono. W. A., Hadi. S. M., dan Setiawan. Y. (2023). Screening of phyllospheric and endophytic bacteria as biocontrol agents of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Jurnal Biodiversitas*, 24(4): 2072-2079
- Winastri. P.A.L.N., Muliastari. H., dan Hidayati. E. (2020). Aktivitas Antibakteri Air Perasan dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corniculata* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, 19(2): 223-230
- Wondal. B., Ginting. L. E., Warouw. V., Wullur. S., Tilaar. O. S., & Tilaar. F. F. (2019). Isolasi Bakteri Laut Dari Perairan Malalayang Sulawesi Utara. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 7(3): 184-189
- Yanuar. A., Nurcahyati. D. S., dan Addy. S. H. (2016). Potensi Agens Hayati dalam Menekan Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* Pv. *Oryzae*) pada Padi. *Jurnal Agrotekknologi Tropika*, 5(2): 70-76
- Yuliani. D., & Rohaeni. R. W. (2017). Heritabilitas, Sumber Gen, Dan Durabilitas Ketahanan Varietas Padi Terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri. *Jurnal Litbang Pertanian*, 36(2): 99-108