

## Evaluasi Kestabilan *Xanthomonas oryzae phages* Hasil Isolasi dari Lahan Sawah Kelurahan Pulutan Kecamatan Sidorejo Salatiga pada Berbagai Kondisi pH

*(The Stability Evaluation of Xanthomonas oryzae phages Isolated from Paddy Field Pulutan Village Sidorejo Sub-District Salatiga City at Various pH Conditions)*

Eko Wahyu Widiyatmoko, Andree Wijaya Setiawan<sup>♥</sup>, Yoga Aji Handoko

Faculty of Agriculture and Business, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Indonesia

<sup>♥</sup>Corresponding author email: [fpb.andre@uksw.edu](mailto:fpb.andre@uksw.edu)

**Article history:** submitted: April 3, 2022; accepted: June 13, 2022; available online: June 29, 2022

**Abstract.** *Xanthomonas oryzae (Xo)* is a bacterial leaf blight (BLB) pathogen that significantly reduces paddy productivity. Farmers overcome *Xo* with synthetic bactericides and planting resistant varieties of paddy in the paddyfield, but not completely successful. Based on this problem, it is necessary to find a solution to control *Xo* by discovering the natural enemies such as a virus that infected bacteria named 'phages'. This study was to obtain *Xanthomonas oryzae phages* particle and stability test of *Xo phages* to pH. The method for obtaining *Xo phages* begins with soil sampling, isolation, purification, and propagation. The pH stability test aims to determine how much the *Xo phages* titer is responding to an acid and base stress. Treatment of pH 3 on samples P1, P2, and P3 low *Xo phages* resistance was shown to be  $8.10^{13}$  PFU/mL;  $10.10^{13}$  PFU/mL; and  $4.10^{13}$  PFU/mL. Treatment of pH 7 samples P1 and P2 showed stable *Xo phages* resistance at  $78.10^{13}$  PFU/mL and  $26.10^{13}$ , while P3 *Xo phages* stable at pH 9 showed  $38.10^{13}$  PFU/mL. Treatment pH 11 samples P1, P2, and P3 decreased gradually, showing  $58.10^{13}$  PFU/mL;  $12.10^{13}$  PFU/mL; and  $36.10^{13}$  PFU/mL. Lysate P1 and lysate P3 are quite resistant to alkaline pH, compared to P2 lysate samples. The application of ameliorants and fertilizers containing magnesium in paddy fields will be alkaline, so that P1 and P3 lysates are thought to have potential as synergistic biocontrols in conditions above pH 7.

**Keywords:** biocontrol; phages; phage stability; *Xanthomonas oryzae*; *Xanthomonas oryzae phages*

**Abstrak.** *Xanthomonas oryzae (Xo)* merupakan patogen penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang dapat mengurangi produktivitas padi secara nyata. Petani menanggulangi *Xo* dengan bakterisida sintetik dan penanaman padi varietas tahan di lapangan, namun belum sepenuhnya berhasil. Berdasarkan latar belakang tersebut perlu adanya solusi untuk mengendalikan *Xo* dengan mencari musuh alami yaitu virus yang menginfeksi bakteri. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan partikel *Xanthomonas oryzae phages* dan menguji stabilitas *Xo phages* terhadap pH. Metode untuk mendapatkan *Xo phages* dimulai dengan pengambilan sampel tanah, isolasi, purifikasi, dan propagasi. Pengujian stabilitas pH bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak titer *Xo phages* dalam merespon suatu cekaman asam dan basa. Perlakuan pH 3 pada sampel P1, P2, dan P3 ketahanan *Xo phages* rendah ditunjukkan  $8.10^{13}$  PFU/mL;  $10.10^{13}$  PFU/mL; dan  $4.10^{13}$  PFU/mL. Perlakuan pH 7 sampel P1 dan P2 ketahanan *Xo phages* stabil ditunjukkan  $78.10^{13}$  PFU/mL dan  $26.10^{13}$ , sedangkan P3 *Xo phages* stabil pada pH 9 ditunjukkan  $38.10^{13}$  PFU/mL. Perlakuan pH 11 sampel P1, P2, dan P3 turun bertahap ditunjukkan  $58.10^{13}$  PFU/mL;  $12.10^{13}$  PFU/mL; dan  $36.10^{13}$  PFU/mL. Lysate P1 dan lysate P3 cukup tahan terhadap pH basa, dibandingkan dengan sampel lysate P2. Pemberian amelioran dan pupuk yang mengandung unsur magnesium di lahan padi akan bersifat basa, sehingga lysate P1 dan P3 diduga memiliki potensi sebagai biokontrol yang sinergis pada kondisi diatas pH 7.

**Kata kunci:** biokontrol; phages; stabilitas phages; *Xanthomonas oryzae*; *Xanthomonas oryzae phages*

### PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman sereal yang mengandung karbohidrat cukup tinggi. Menurut (Ishaq dkk., 2017) padi merupakan sumber bahan pangan utama hampir dari setengah penduduk di dunia. Kebutuhan padi di Indonesia akan selalu meningkat, namun produktivitas padi cenderung menurun. Sari

(2014), menegaskan bahwa menurunnya produktivitas padi seiring meningkatnya jumlah penduduk dalam memenuhi kebutuhan padi dalam negeri. Faktor yang mempengaruhi menurunnya produktivitas padi disebabkan patogen penyakit (Kharisma dkk., 2013).

Patogen penyakit yang menginfeksi tanaman padi belum sepenuhnya tuntas

diatasi, termasuk hawar daun bakteri (HDB). *Xanthomonas oryzae* merupakan hawar daun bakteri yang dapat mengurangi produktivitas padi secara nyata. Infeksi *Xo* dapat ditularkan melalui benih (Swings *et al.*, 1990). Tanaman yang terinfeksi, sisa gulma dan air irigasi dapat menjadi sumber penyebaran *Xo* (Ranjani *et al.*, 2018). (Sudir & Sutaryo, 2011) menyatakan 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% (Shen & Ronald, 2002). Selama ini petani menanggulangi *Xo* dengan aplikasi bakterisida sintetis dan penanaman padi varietas tahan di lapangan untuk meningkatkan bobot hasil (Ji *et al.*, 2018), namun belum sepenuhnya berhasil. (Nugraha dkk., 2014) menyatakan bakterisida berbahan aktif *Chlorobromo isocyanuric acid* (CBIA) dengan konsentrasi  $1,0 \text{ g l}^{-1}$  dan  $1,5 \text{ g l}^{-1}$  dalam 8 minggu setelah tanam dapat menekan HDB, tanpa menimbulkan gejala fitotoksitas pada padi. Penggunaan bakterisida sintetis selama ini belum tuntas dan meninggalkan residu dalam tanah. (Serdani *et al.*, 2018), menjelaskan aplikasi bakteri endofit dari jaringan akar tanaman padi mampu menekan HDB dengan persentase sifat antagonisnya 37,50% lebih potensial, namun penggunaan bakteri endofit perlu diuji karakter dan potensinya yang diisolasi dari tanaman padi sehat.

Tujuan dari penelitian ini adalah perlu adanya solusi atau terobosan untuk mengendalikan patogen penyakit HDB, dengan mencari musuh alami yaitu virus yang menginfeksi bakteri. *Xo phages* telah dipertimbangkan sebagai biokontrol untuk menginfeksi *Xo* dengan tipe *Host Xo* di lapangan (Lee *et al.*, 2007). Batasan dari penelitian ini dimulai dari isolasi, purifikasi, propagasi dan pengujian stabilitas *Xo phages* terhadap pH. Pengujian stabilitas *Xo*

*phages* terhadap pH dilakukan untuk mengetahui seberapa tahan *Xo phages* menerima cekaman basa. Cekaman basa dapat dijumpai pada lahan salinitas dan pemberian pupuk magnesium yang bersifat alkalis, sehingga dengan harapan *Xo phages* menjadi biokontrol yang sinergis dan dapat diaplikasikan pada kondisi lahan salinitas tinggi.

## METODE

Penelitian ini telah dilakukan dari Agustus 2020 hingga Desember 2021 di laboratorium mikrobiologi pertanian, Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana. Metode percobaan ini bersifat eksploratif deskriptif karena menemukan suatu data yang diprediksi terdapat *phages* di sekitar (*rhizosfer*) perakaran tanaman padi. Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah sampel tanah sawah, *Xanthomonas oryzae* dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) dengan kode isolat B16, *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB) cair (*Hi-media*), *nutrient broth* (NB) *soft agar* (*Hi-media*), *buffer*, *microbiology agar* (*difco laboratories*), *syringe* (*jet bofil*) dan *pH indicator strips* (*MQuant*). Alat yang digunakan untuk penelitian adalah kulkas (*toshiba*), spektrofotometer (*shimadzu UV-Vis 1280*), entkas, *hot plate* (*thermolyne*), *autoclave* (*hirayama*), sentrifuse (*centrifuge PLC series*), *shaker* (*fine PCR*), *micropipet* (*transferpette*), *microtube* (*biologix*), *erlenmeyer* (*pyrex*), cawan petri (*herma*), botol falcon (*iwaki*), tabung reaksi (*pyrex*), *beaker glass* (*pyrex*), bunsen, *waterbath*, timbangan analitik (*mettle rpm 600*) dan inkubator (*memmert*). Berikut skema tahapan dan prosedur penelitian.

### Sampel Tanah dan Prekultur *Xo*

Pengambilan sampel tanah dilakukan di lahan sawah Kelurahan Pulutan Kecamatan Sidorejo Salatiga, pada pukul 05:00-06:00 pagi. Sampel tanah dalam kondisi padat tidak berlumpur, namun tergenang air. Kondisi cuaca cerah dan memasuki musim hujan. Sampel tidak dipaparkan cahaya

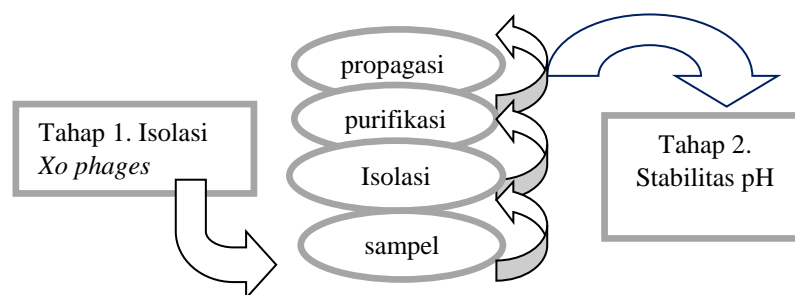
matahari langsung, agar DNA dan struktur protein *Xo phages* tidak rusak oleh sinar UV. Tanah diambil lima titik ditarik garis lurus pada pola *belt transect* (Fachrul, 2007) sepanjang 100 meter pada satu petak sawah sebanyak 25 g/sampel uji, kemudian dicampur dan dimasukkan ke dalam kantong plastik hitam.

Sampel tanah dibawa ke laboratorium kemudian ditimbang 25 g, ditambahkan pelarut sm *buffer* 50 mL dalam tabung erlenmeyer 200 mL. Tanah digojlok dengan kecepatan 20 rpm selama 2 jam agar agregat tanah dan *Xo phages* homogen, kemudian didiamkan sejenak.

Setelah itu diambil 10 mL sampel air dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse. Setelah itu sampel disentrifuse selama 20 menit dengan kecepatan 6.000 rpm. Diulangi tiga kali sentrifuse untuk

mendapatkan *lysate* yang jernih. Setelah itu *lysate* disaring dengan membran filter (0,2 µm) supaya partikel *Xo* dapat ditahan dan didapatkan *Xo phages* (Hardanti *et al.*, 2018). Sampel dimasukkan ke dalam tabung steril dan disimpan dalam *refrigerator* dengan suhu 4° C.

Prekultur *Xo* dilakukan dengan menggosokkan jarum ose pada isolat *Xo* yang dicampurkan dalam media 25 mL NB cair. Media *Xo* diinkubasi selama dua jam pada 37°C, kemudian media *Xo* diukur dengan panjang gelombang 600 nm pada spektrofotometer dan dapat diketahui tingkat kekeruhannya (*optical density*). Media *Xo* diharapkan dapat mencapai tingkat kekeruhan diantara 0,30 hingga 0,45 OD, sehingga media *Xo* dapat digunakan untuk *plating* pada pengujian *plaque*.



**Gambar 1.** Skema isolasi dan uji stabilitas *Xo phages* terhadap pH

### Isolasi *Xo phages*

*Lysate* yang diprediksi terdapat *Xo phages* dilakukan isolasi dengan metode *double layer agar* (Adams, 1959) yaitu media NA 6 mL dituang dalam cawan petri, setelah media padat dituang media NB *soft agar* 5 mL di lapisan kedua. Setelah memadat, *lysate* diteteskan sebanyak 50 µL menggunakan *micropipet*. Sampel diamati 1 x 15 jam hingga terbentuk zona bening (*plaque*). Modifikasi penelitian dari Chae *et al.*, (2014), digunakan sampel air irigasi sawah ditambahkan dengan beberapa tetes kloroform (ca. 2% (v/v)) dan disentrifuse pada suhu ruang 10.000 xg selama 10 menit.

### Purifikasi *Xo phages*

Purifikasi dilakukan dengan teknik lapisan atas (*overlay*), setelah lapisan dasar

dituang (Oliveira *et al.*, 2009). Purifikasi dilakukan dengan mencungkil *plaque* menggunakan ujung lubang *blue tip* yang dipotong. *Plaque* dimasukkan dalam *microtube* ditambahkan 100 µL media NB cair, kemudian *microtube* dibolak-balik supaya homogen. Setelah itu media NB cair diteteskan sebanyak 50 µL dengan *yellow tip* di atas permukaan media NA dan NB *soft agar* yang sudah padat. Petri diletakkan pada suhu ruang di dalam entkas dengan kondisi steril, kemudian diamati 1 x 15 jam hingga terbentuk *plaque*.

### Propagasi *Xo phages*

*Plaque* dengan ukuran sama diambil menggunakan ujung lubang *bluetip* yang dipotong. Cuplikan *plaque* dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* berisi 25 µL NB cair yang

sudah dicampur 2  $\mu\text{L}$  kultur *Xo* kemudian digojlok 2 x 24 jam supaya homogen, setelah itu *Xo phages* dapat dipanen. Kemudian *Xo phages* disentrifuse dan disaring dengan membran filter 0,22  $\mu\text{m}$ (*syringe*), kemudian dimasukkan ke dalam tabung falcon. *Xo phages* dapat dihitung dengan mengetahui jumlah titernya. Hatfull (2020), menjelaskan perhitungan *Xo phages titer* dituangkan dalam rumus.

$$Xo\ phages\ (PFU/mL) = \left( \frac{\Sigma plaque}{50\ \mu L} \right) \times 10^3 \mu L / 1\ mL \times (dilution\ factor) \dots\dots(1)$$

Diketahui (PFU/mL) = jumlah dalam satuan titer *Xo phages*,  $\Sigma\ plaque$  = jumlah *plaque* yang lisis dari *Xo phages*, 50  $\mu\text{L}$  = banyaknya *lysate* yang diuji.

### Pengujian Stabilitas pH *Xo phages*

Pengujian stabilitas *Xo phages* terhadap pH dilakukan dengan mengambil *lysate* 250  $\mu\text{L}$  sebanyak lima *lysate* dalam *microtube*. *Lysate* berjumlah dua ditambahkan HCl 0,1 M ke dalam *microtube* hingga *lysate* menunjukkan pH 3 dan pH 5. *Lysate* berjumlah dua ditambahkan NaOH 0,1 M hingga *lysate* menunjukkan pH 9 dan pH 11. Penetapan pH 7 tidak ditambahkan kedua larutan. Kelima perlakuan pH dilakukan pengecekan dengan *pH indicator strips*. Setelah itu dihomogenkan dan

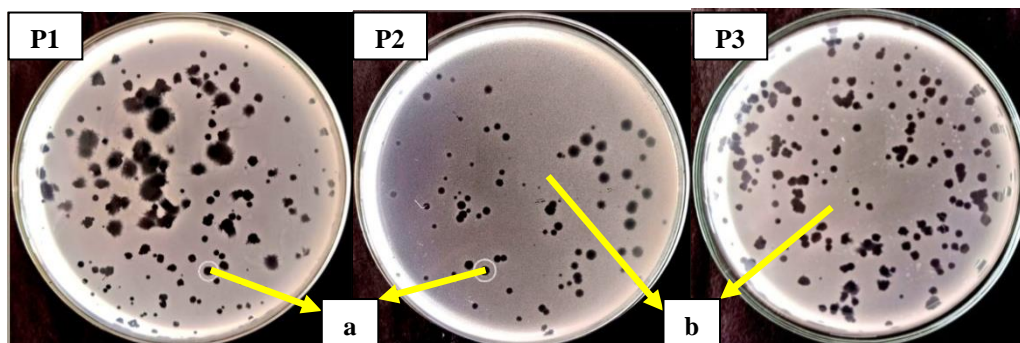
didiamkan selama satu jam. Selanjutnya sampel dilakukan *plating* dengan seri pengenceran  $10^1$  hingga  $10^{12}$ . *Plating* diamati 1 x 15 jam hingga muncul *plaque*. Pengujian stabilitas *Xo phages* terhadap pH dilakukan dua hingga tiga kali supaya konsisten munculnya *Xo phages*. Sampel diamati pada 12 petri, kemudian diharapkan *plaque* dapat konsisten muncul diatas pH 7 pada petri 10 hingga petri 12.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

*Lysate* yang diambil dari tanah sawah sebanyak 3 sampel. *Lysate* ditandai dengan pengkodean P1, P2, dan P3. Ketiga sampel tersebut dilakukan *plating*, dan konsisten munculnya *plaque*. *Lysate* selanjutnya dilakukan pengujian isolasi, purifikasi, dan stabilitas terhadap pH sebagai berikut.

### Isolasi *Xo phages*

Proses isolasi merupakan tahap awal keberhasilan untuk mendapatkan *Xo phages* yang ditunjukkan zona bening (*plaque*). *Plaque* menunjukkan indikator bahwa agen virus dapat melisiskan *Xo*. Pengujian tahap isolasi ipositif *Xo phages* sebagai berikut.



**Gambar 2.** Isolasi *Xo phages* (P1) sampel Pulutan 1 (P2) sampel Pulutan 2 (P3) sampel Pulutan 3 (a) indikator *Xo* lisis oleh *Xo phages* (b) zona pertumbuhan *Xo*

Gambar P1, P2, dan P3 positif *Xo phages*, ditandai munculnya zona bening (*plaque*) pada media agar (Guttman & Kutter, 2002). *Xo* terinfeksi, sehingga sel bakteri lisis dan diikuti replikasi sebagai hasil infeksi dari satu sel bakteri per satu virus. Selama siklus lisis (litik) tidak terjadi penggabungan DNA

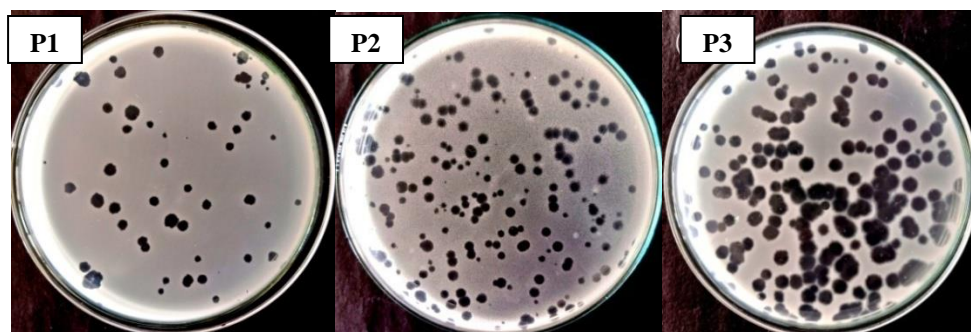
dengan kromosom inang (Orlova, 2012). Ukuran *Xo phages* berbeda-beda karena rendahnya laju absorpsi dan visibilitas semakin menurun, sehingga *plaque* yang dihasilkan kecil dan sebaliknya (Gallet *et al.*, 2011).



### Purifikasi *Xo phages*

Teknik purifikasi dilakukan dengan pengambilan satu *plaque* yang mewakili *Xo phages* dari spesies dan bentuk yang sama. Menurut (Haq *et al.*, 2012), tujuan dilakukannya purifikasi adalah meminimalisir terjadinya kontaminasi, dan

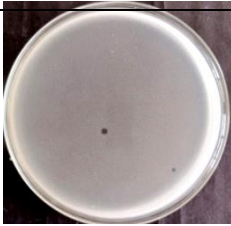


dilakukan *plating* kembali untuk memastikan *Xo phages* murni dengan mengatur komposisi media pertumbuhan. Berikut pengujian purifikasi *Xo phages* yang dilakukan dengan metode tuang sebagai berikut.



Gambar 3. Purifikasi *Xo phages*

Berdasarkan penelitian uji purifikasi, ketiga sampel menunjukkan *single plaque* dan sudah murni. Menurut Adams (1959), *plaque* yang terbentuk kemudian dimurnikan dengan teknik *single plaque* dari isolasi menggunakan rumus standar *Plaque Form Units* (PFU/mL). Dilihat dari gambar di atas, ukuran *plaque* berbeda-beda dengan sampel yang lain. Ukuran *single plaque* berbeda-beda karena dipengaruhi morfologi *phage virion* dan lamanya waktu produksi *phages* dalam fase intraseluler sebelum sel lisis (Bayat *et al.*, 2021).

Tabel 1. Perhitungan jumlah titer *Xo phages* (PFU/mL)

sampel	(10 <sup>8</sup> ) DF	jumlah <i>plaque</i>	<i>plaque titer</i> (PFU/mL)
P1		2	4.10 <sup>9</sup>
P2		4	8.10 <sup>9</sup>
P3		3	6.10 <sup>9</sup>

Keterangan: P1 (Pulutan 1), P2 (Puluan 2), P3 (Pulutan 3), DF (*dilution factor*)

**Propagasi *Xo phages***

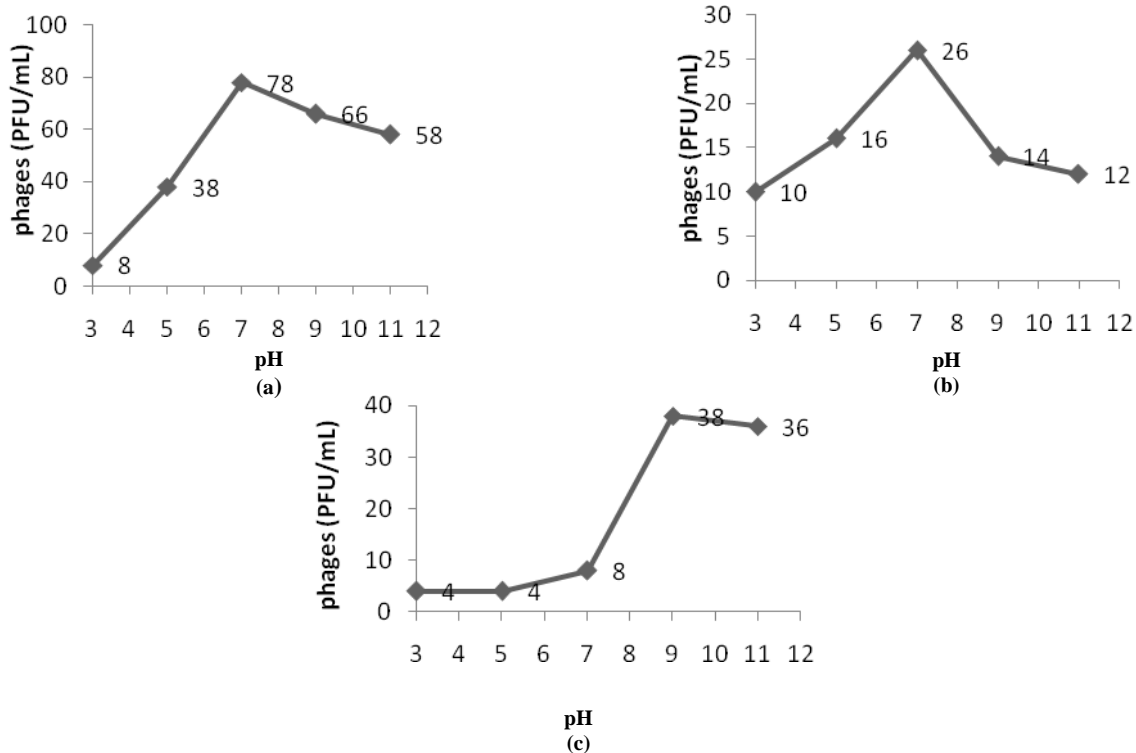
Propagasi bertujuan untuk meningkatkan jumlah titer *Xo phages*. Propagasi dikatakan berhasil apabila *lysate* yang diuji muncul *plaque* lebih banyak hingga seluruh permukaan media terlihat banyak *plaque*. Pengujian hasil propagasi dibuat *dilution factor* pada  $10^8$  dari hasil propagasi disajikan pada Tabel 1.

Dilihat dari tabel di atas P1, P2, dan P3 menunjukkan positif *plaque* (Ranjani, 2018). *Plaque* muncul dalam bentuk *single plaque*, sehingga titer *Xo phages* dengan mudah dapat dihitung. Efektivitas *plaque* terdapat pada ketiga sampel DF  $10^8$ . (Madigan *et al.*, 2012) menjelaskan kemunculan *plaque* dapat dipengaruhi oleh sistem pertahanan bakteri yang diinfeksi

oleh *phages*. Sampel P1 dihasilkan *plaque titer* sebanyak  $4.10^9$  PFU/mL, P2 dihasilkan *plaque titer* sebanyak  $8.10^9$ PFU/mL, dan P3 dihasilkan *plaque titer* sebanyak  $6.10^9$  PFU/mL.

**Uji Stabilitas pH**

Pengujian stabilitas *Xo phages* terhadap pH bertujuan untuk mengetahui seberapa efektifitasnya partikel *Xo phages* menerima suatu cekaman asam dan basa. Sampel P1, P2, dan P3 dilakukan pengujian seri pengenceran dan dilakukan *plating* kembali pada perlakuan pH. Pengujian dilakukan dua hingga tiga kali supaya konsistensi munculnya *Xo phages*. Pengujian stabilitas *Xo phages* terhadap pH ketiga sampel disajikan dalam bentuk grafik sebagai berikut.



**Gambar 4.** Pengujian stabilitas pH *Xo phages* PFU/mL (a) uji pH sampel P1 (b) uji pH sampel P2 (c) uji pH sampel P3

Gambar 4 menunjukkan pengujian stabilitas pH 3 hingga pH 11 pada sampel P1, P2, dan P3. Stabilitas pH 3 ditunjukkan titer *Xo phages* rendah. Sampel P1 dan P2 *Xo phages* optimum pada pH 7 dan pH 9, hingga pH 11 *Xo phages* titernya menurun

perlahan. Perlakuan pH 3 pada sampel P1, P2, dan P3 titer *Xo phages* rendah ditunjukkan  $8.10^{13}$  PFU/ml;  $10.10^{13}$  PFU/ml; dan  $4.10^{13}$  PFU/ml. Perlakuan pH 7 sampai P1 dan P2 pH titer *Xo phages* stabil ditunjukkan  $78.10^{13}$  PFU/mL dan

26.10<sup>13</sup>. Sedangkan P3 titer *Xo phages* stabil pada pH 9 ditunjukkan 38.10<sup>13</sup> PFU/mL. Perlakuan pH 11 sampel P1, P2, dan P3 titer *Xo phages* turun bertahap ditunjukkan 58.10<sup>13</sup> PFU/mL; 12.10<sup>13</sup> PFU/mL; dan 36.10<sup>13</sup> PFU/mL. *Xo phages* pada sampel P1 mengalami perbanyakan namun minimum pada pH 3, *Xo phages* optimum pada pH 7, hingga pada pH 11 *Xo phages* mengalami penurunan efektivitas namun lambat. Sampel P2, dari pH 3 hingga pH 7, efektivitas *Xo phages* menuju optimum, namun perlahan naik efektivitasnya, hingga menuju pH 11 penurunan efektivitas *Xo phages* menurun cukup cepat. Sampel P3, dari pH 3 hingga pH 7, *Xo phages* efektivitasnya menurun. *Xo phages* optimum pada pH 9, hingga pada pH 11, *Xo phages* mengalami penurunan efektivitas namun lambat. Pengaruh munculnya *Xo phages* dalam kestabilan pH basa diprediksi terdapat enzim endolisin yang berperan dalam pelisisan bakteri *Xo*. Penelitian ini sejalan dengan Haq *et al.*, (2012), bahwa beberapa *phages* dapat melisis sel inang bakteri dengan menghasilkan enzim endolisin pada kondisi diatas pH 7. Selain itu *plaque* akan muncul pada kondisi pH optimum karena pengaruh titer *phages* yang cukup kuat pada kondisi pertahanan *Xo* yang lemah (Madigan *et al.*, 2012).

Uji stabilitas *Xo phages* terhadap pH bertujuan untuk mengetahui seberapa efektivitasnya partikel *Xo phages* beradaptasi pada cekaman asam dan basa. Efektivitas partikel *Xo phages* dalam evaluasi kestabilan *Xo phages* terhadap pH cukup berbeda-beda. *Xo phages* optimum pada pH 7 hingga pH 10 yang ditunjukkan dari ketiga sampel yang telah diuji. Hasil perlakuan stabilitas terhadap pH pernah dilakukan oleh Jurczak-Kurek *et al.*, (2016) bahwa 80 dari 83 sampel *lysate* optimum pada pH 10, sementara banyaknya titer *phages* cukup tinggi pada pH 12 berjumlah 48 sampel dari 83 sampel *lysate* yang diinfeksi pada *Escherichia coli*. Menurut penelitian Czajkowski *et al.*, (2014) sembilan sampel *lysate* yang diinfeksi *Dickeya*

*solani* spp. optimum pada pH 7, dan pertumbuhannya tinggi pada pH 9.

Kondisi lingkungan pengambilan sampel tanah berpengaruh terhadap kestabilan pH *Xo phages* terhadap pH. *Lysate* P1 dan P3 efektivitasnya cukup tahan terhadap pH basa, dibandingkan dengan sampel *lysate* P2. *Xo phages* mampu bertahan tanpa kehilangan efektivitasnya terhadap sifat kimia tanah yang bersifat basa. Hasil penelitian oleh Banjarnahor *et al.*, (2019) menjelaskan pemberian amelioran terhadap sifat kimia tanah gambut pada lahan padi dapat meningkatkan pH tanah, seperti air laut dan terak baja. Ketahanan *Xo phages* terhadap basa dapat dikaitkan dengan pemberian pupuk yang mengandung unsur magnesium. Menurut Hardjowigeno (2002) magnesium merupakan komponen zat klorofil, yang memainkan suatu peranan dalam beberapa reaksi enzim. Pemberian amelioran dan pupuk yang mengandung unsur magnesium di lahan padi akan bersifat basa, sehingga *lysate* P1 dan P3 diharapkan memiliki potensi sebagai biokontrol yang sinergis pada kondisi diatas pH 7.

## SIMPULAN

Berdasarkan tujuan dan hasil penelitian, *Xo phages* telah berhasil diisolasi, dipurifikasi, dan dipropagasi dengan mendapatkan partikel *Xo phages* yang dinyatakan dengan kode P1 (Pulutan 1), kode P2 (Pulutan 2), dan kode P3 (Pulutan 3). Pengujian stabilitas *Xo phages* terhadap pH dapat diketahui sifat karakteristik fungsionalnya. Ketiga sampel dapat diketahui bahwa P1 dan P3 konsisten muncul *Xo phages* terhadap pH 9, namun efektivitasnya cenderung menurun pada pH 3. Sebaliknya P2, *Xo phages* konsisten muncul pada pH 3, namun efektivitas *Xo phages* cenderung menurun pada pH 9. *Lysate* P1 dan P3 cukup tahan terhadap pH basa, dibandingkan dengan sampel *lysate* P2 yang efektivitasnya minimum pada pH basa.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Pihak Universitas Kristen Satya Wacana yang telah memberikan dana penelitian melalui program hibah dana penelitian internal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M. H. (1959). *Bacteriophage*. Interscience Publishers, Inc.
- Banjarnahor, B. J., Sarifuddin., & Lubis, K. S. (2019). *Pengaruh Pemberian Beberapa Amelioran Terhadap Sifat Kimia Tanah Gambut Dataran Tinggi Toba dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Padi (Oryza Sativa L.)*. 6(1), 146–152. <https://doi.org/10.51747/agrotechbiz.v6i1.443>
- Bayat, F., Didar, T. F., & Hosseinidoust, Z. (2021). Emerging investigator series: bacteriophages as nano engineering tools for quality monitoring and pathogen detection in water and wastewater. *Environmental Science: Nano*, 8(2), 367–389. <https://doi.org/10.1039/d0en00962h>
- Chae, J. C., Hung, N. B., Yu, S. M., Lee, H. K., & Lee, Y. H. (2014). Diversity of bacteriophages infecting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in paddy fields and its potential to control bacterial leaf blight of rice. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(6), 740–747. <https://doi.org/10.4014/jmb.1402.02013>
- Czajkowski, R., Ozymko, Z., & Lojkowska, E. (2014). Isolation and characterization of novel soilborne lytic bacteriophages infecting *Dickeya* spp. biovar 3 ('D. solani'). *Plant Pathology*, 63(4), 758–772. <https://doi.org/10.1111/ppa.12157>
- Fachrul, M. F. (2007). *Metode Sampling Bioekologi*. Bumi Aksara.
- Gallet, R., Kannoly, S., & W. I. (2011). Effects of bacteriophage traits on plaque formation. *BMC Microbiology*, 11(181), 1–16. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-181>
- Guttman, B. S., & Kutter, E. M. (2002). *Bacteriophage Genetics. Modern Microbial Genetics* (Second Edn). <https://doi.org/10.1002/047122197X.ch4>
- Haq, I. U., Chaudhry, W. N., Akhtar, M. N., Andleeb, S., & Qadri, I. (2012). Bacteriophages and their implications on future biotechnology: A review. *Virology Journal*, 9, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-9>
- Hardanti, S., Wardani, A. K., & R. W. D. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteriofag spesifik *Salmonella typhi* dari kulit ayam. *Journal of Infection in Developing Countries*, 19(2), 107–116. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2018.019.02.5>
- Hardjowigeno, S. (2002). *Ilmu Tanah*. Mediatama Sarana Perkasa. Jakarta.
- Hatfull, G. (2020). *Procedure for the isolation and purification of a phage*. Phagehunting program. <https://phagesdb.org>
- Ishaq, M., Rumiati, A. T., & Permatasari, E. O. (2017). Analisis Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Padi di Provinsi Jawa Timur Menggunakan Regresi Semiparametrik Spline. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(1), 420–425. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v6i1.22451>
- Ji, Z., Wang, C., & Zhao, K. (2018). Rice routes of countering *Xanthomonas oryzae*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms19103008>
- Jurczak-Kurek, A., Gasior, T., Nejman-Faleńczyk, B., Bloch, S., Dydecka, A., Topka, G., Necel, A., Jakubowska-Deredas, M., Narajczyk, M., Richert, M., Mieszkowska, A., Wróbel, B., Węgrzyn, G., & Węgrzyn, A. (2016). Biodiversity of bacteriophages: Morphological and biological properties of a large group of phages isolated from urban sewage. *Scientific Reports*, 6, 1–17.



- <https://doi.org/10.1038/srep34338>  
Kharisma, S. D., Cholil, A., & Aini, L. Q. (2013). Ketahanan Beberapa Genotipe Padi Hibrida (*Oryza Sativa* L.) Terhadap *Pyricularia oryzae* Cav. Penyebab Penyakit Blas Daun Padi. *Jurnal HPT*, 1(2), 19–27.
- Lee, C. N., Hu, R. M., Chow, T. Y., Lin, J. W., Chen, H. Y., Tseng, Y. H., & Weng, S. F. (2007). Comparison of genomes of three *Xanthomonas oryzae* bacteriophages. *BMC Genomics*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-442>
- Madigan, M. T., John, M. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2012). *BrockBiology of Microorganism. 13th ed. Pearson.*
- Nugraha, D. B. A. R., Aeny, T. N., & Maryono, T. (2014). Pengaruh aplikasi bakterisida berbahan aktif asam kloro bromo isosianurik 50% terhadap intensitas penyakit hawar daun bakteri dan produksi pada tanaman padi. *Jurnal Agrotek Tropika*, 2(1), 139–143. <https://doi.org/10.23960/jat.v2i1.1945>
- Oliveira, A., Sillankorva, S., Quinta R., Henriques, A., Serono, R., Azeredo, J. (2009). Isolation dan characterization of bacteriophages for avian pathogen *Escherichia coli* strains. *J. Appl Microbiol*, 106, 1919–1927. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04145.x>
- Orlova, E. V. (2012). *Bacteriophages and their Structural Organisation acteriophages and their Structural Organisation.* <https://doi.org/10.5772/34642>
- 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. <https://doi.org/10.4014/mbl.1807.07009>
- Sari, R. K. (2014). Analisis impor beras di Indonesia. *Economics Development Analysis Journal*, 3(2), 320–325.
- 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. <https://doi.org/10.35457/viabel.v12i1.422>
- Shen, Y., & Ronald, P. (2002). Molecular determinants of disease and resistance in interaction of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and rice. *Journal Microbe and Infection*, 4(1), 1361–1367. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(02\)00004-7](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(02)00004-7)
- Sudir, S., & S. B. (2011). Reaksi padi hibrida terhadap penyakit hawar daun bakteri dan hubungannya dengan hasil gabah. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman*, 30(2), 88-(2), 88–94.
- Swings, J., Mooter, V. D., Vauterin, L., Hoste, B., Gillis, M., Mew, T. W., & Kertters, K. (1990). Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40(3), 301–311. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-3-309>