

Metode Penyimpanan Bakteri *Xanthomonas Oryzae* pv. *oryzae* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi Menggunakan Glycerol

Santi Sariasih^a, Fitri Widiyanti^a, Wiwin Widiawati^b

^aLaboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung
Corresponding Author E-mail : s.sariasih@unpad.ac.id

^bLaboratorium Fitopatologi Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung
E-mail : wiwin.widiawati@unpad.ac.id

Received: 22nd November 2019; Revised: 18th December 2019; Accepted: 9th January 2020;
Available online: 14th January 2020; Published regularly: January 2020

Abstract

The existence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the bacteria which causes Bacterial Leaf Blight of rice, is really necessary for the laboratory to support the research activities of the phytopathology experts. Long-term preservation by using glycerol under -20°C can be conducted to preserve the culture's availability to stay viable in the laboratory. This research aimed to determine the glycerol concentration that is able to preserve the viability and pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bacteria after being preserved for 3 and 6 months. This experiments were performed using Completely Randomized Design which comprised of six treatments and four replications, they were: glycerol 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, and control (without glycerol). The results of this study showed that viability of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* that was preserved within 20% glycerol solution for 6 months was different compared to control group. The number of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bacteria on 20% glycerol was $4,49 \times 10^9$ CFU/ml, while on control group was $1,76 \times 10^9$ CFU/ml. 20% glycerol concentration had significant effect on the Bacterial Leaf Blight symptoms' length after 6-months preservation that observed on the 7th day after incubation. The Bacterial Leaf Blight symptoms' length on 20% glycerol treatment group was 46,2 mm and 22,7 mm on control group. Meanwhile for the 3 months preservation, the administration of glycerol did not show any significant effect on the *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*'s viability and the Bacterial Leaf Blight symptoms' length.

Key Words : *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, bacterial leaf blight, glycerol

Abstrak

Ketersediaan kultur bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi di laboratorium sangat diperlukan untuk menunjang kegiatan riset para ahli fitopatologi. Penyimpanan jangka panjang menggunakan glycerol pada suhu -20°C dapat dilakukan untuk menjaga ketersediaan kultur di laboratorium tetap dalam keadaan viabel. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi glycerol yang mampu mempertahankan viabilitas dan patogenisitas bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* setelah penyimpanan selama 3 dan 6 bulan. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari enam perlakuan dan empat ulangan, yaitu glycerol 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, dan kontrol (tanpa glycerol). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa viabilitas *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* yang disimpan dalam larutan glycerol 20% selama 6 bulan berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Jumlah bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada glycerol 20% sebanyak $4,49 \times 10^9$ CFU/ml, sedangkan kontrol $1,76 \times 10^9$ CFU/ml. Konsentrasi glycerol 20% juga berpengaruh nyata terhadap panjang gejala penyakit hawar daun bakteri setelah penyimpanan selama 6 bulan yang diamati pada hari ke-7 setelah inkubasi. Panjang gejala penyakit hawar daun bakteri pada perlakuan glycerol 20% sebesar 46,2 mm, sedangkan kontrol sebesar 22,7 mm. Sedangkan pada penyimpanan selama 3 bulan,

pemberian glycerol tidak memberikan pengaruh yang nyata baik terhadap viabilitas Xanthomonas oryzae pv. oryzae maupun panjang gejala penyakit hawar daun bakteri.

Kata Kunci : *Xanthomonas oryzae pv. oryzae, hawar daun bakteri, glycerol*

PENDAHULUAN

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) merupakan bakteri Gram negatif yang menyebabkan penyakit hawar daun bakteri (HDB) pada tanaman padi. HDB tergolong penyakit penting di beberapa negara penghasil padi di dunia, termasuk di Indonesia (Suparyono dkk., 2004). Serangan HDB di Indonesia menyebabkan kerugian hasil panen sebesar 21-36% pada musim hujan dan sebesar 18-28% pada musim kemarau. Luas penularan penyakit HDB pada tahun 2006 mencapai lebih dari 74 ribu ha, 16 ha diantaranya menyebabkan tanaman puso (Wahyudi dkk., 2011). Para ahli fitopatologi saat ini sedang berupaya untuk dapat mengendalikan penyakit HDB, sehingga ketersediaan isolat bakteri *Xoo* di laboratorium riset harus dipersiapkan sebaik mungkin agar kegiatan riset dapat berjalan dengan baik.

Ketersediaan isolat bakteri *Xoo* yang viabel dapat dipelihara dengan cara menyimpan kultur bakteri dalam media yang sesuai sehingga bakteri dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang. Metode penyimpanan yang tepat berguna untuk mengurangi laju metabolisme dari mikroorganisme agar dapat mempertahankan viabilitas (daya hidupnya), sehingga diperoleh angka perolehan (recovery) dan kehidupan (survival) yang tinggi dengan perubahan ciri-ciri minimum.

Penyimpanan jangka panjang mikroorganisme tersebut dapat dilakukan dengan cara menyimpan kultur mikroba di dalam *freezer* yang bersuhu -20°C dan -70°C . Akan tetapi, penyimpanan jangka panjang dengan pendinginan tersebut menimbulkan permasalahan. Salah satunya adalah pembentukan kristal es di dalam sel yang secara fisik dapat merobek atau memecahkan sel. Pembentukan kristal es juga dapat menyebabkan perubahan komposisi kimia pada bahan yang masih dalam fase cair, sehingga penyimpanan jangka panjang dengan pendinginan memerlukan *cryoprotectant agent*. Menurut Badjoeri (2010) *cryoprotectant agent* yang ditambahkan pada kultur sel akan menjaga sel selama penyimpanan dalam suhu ekstrim (sangat dingin) serta dapat meminimalisir kerusakan sel selama pembekuan.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi glycerol yang mampu mempertahankan viabilitas dan patogenisitas bakteri *Xoo* setelah penyimpanan selama 3 dan 6 bulan. Dengan penelitian ini, laboratorium dapat membuat koleksi kultur bakteri *Xoo* yang viabel untuk kegiatan praktikum dan penelitian mahasiswa serta dosen, sekaligus memenuhi permintaan masyarakat umum yang memerlukan kultur bakteri *Xoo*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran pada bulan Juli sampai Maret 2019.

Bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah isolat *Xoo* (koleksi Balai Besar Tanaman Padi, Sukamandi, Jawa Barat), glycerol, akuades, Wakimoto Agar (20 g sukrosa, 5 g pepton, 0,5 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1,82 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 18 g bakto agar, dan 1 L akuades), daun padi, tisu, alkohol 70%, dan spirtus. Alat yang digunakan pada percobaan ini adalah timbangan analitik, botol *schott*, petridish, autoclave, vortex mixer, laminar air flow, tabung reaksi, batang L, tabung krio, *cardbox freezer*, *freezer*, termometer *freezer*, jarum ose, jarum ent, bunsen, mikropipet, pipet tip, gunting, plastik wrap, aluminium foil, mikroskop, plastik mika, sedotan, dan label.

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari enam perlakuan dengan empat ulangan. Total percobaan terdiri dari 24 unit percobaan. Setiap unit percobaan dibuat tiga set. Perlakuan yang diujikan adalah konsentrasi glycerol 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, dan kontrol (tanpa glycerol). Pengamatan dilakukan terhadap viabilitas dan patogenisitas bakteri *Xoo* setelah penyimpanan selama 3 dan 6 bulan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varians. Jika

hasilnya terdapat perbedaan, maka dilakukan uji lanjutan dengan Uji Duncan pada taraf nyata 5%. Analisis data menggunakan program SPSS versi 17.0.

Penelitian dimulai dengan menyiapkan larutan glycerol berbagai konsentrasi sesuai perlakuan yang akan diujikan. Kemudian larutan glycerol disterilisasi pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah mencapai suhu ruangan, larutan glycerol dimasukkan ke dalam tabung krio sebanyak 1 ml. Kemudian satu ose bakteri *Xoo* dimasukkan ke dalam masing-masing tabung krio yang telah berisi larutan glycerol steril. Campuran bakteri *Xoo* dan larutan glycerol disimpan dalam freezer -20°C selama 3 dan 6 bulan menggunakan *cardbox freezer* dan diberi label.

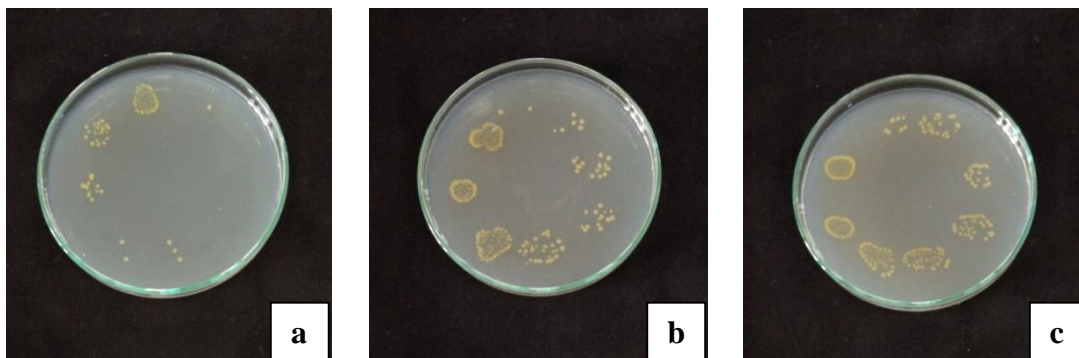
Uji viabilitas bakteri dilakukan dengan cara menghitung koloni bakteri *Xoo* yang tumbuh pada media Wakimoto Agar (WA) menggunakan modifikasi metode Miles & Milsra (1938). Sebelum ditumbuhkan pada media WA, suspensi *Xoo* dalam glycerol dicairkan terlebih dahulu pada suhu ruangan, kemudian dilakukan seri pengenceran dengan cara memipet 100 µl suspensi bakteri *Xoo* ke dalam 900 µl akuades steril secara berseri hingga pengenceran 10⁻¹¹. Setelah itu, masing-masing seri pengenceran diteteskan pada pola garis sebanyak 10 µl sesuai konsentrasi pengenceran. Inkubasi selama 48 jam pada suhu 27°C. Koloni yang tumbuh pada permukaan media WA diamati dan dihitung dalam satuan CFU per ml.

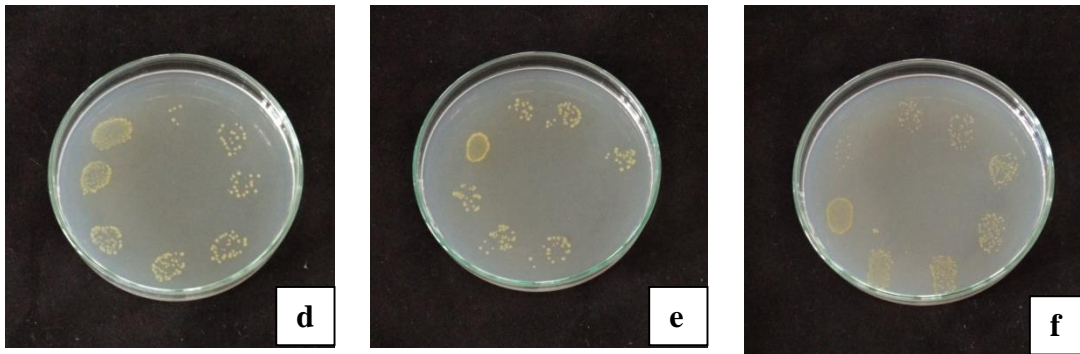
Uji Patogenisitas dilakukan dengan menggunakan metode *detached leaf assay*. Caranya adalah daun padi yang sehat dan tidak menunjukkan gejala terserang penyakit dipotong sepanjang 15 cm dan dibersihkan dengan cara menyelupkan daun ke dalam aquadest steril selama 30 detik, kemudian dikeringanginkan. Setelah kering, daun disimpan di dalam kotak mika plastik yang diberi alas tisu lembab. Daun disusun di atas potongan sedotan yang disimpan secara vertikal di atas tisu lembab. Daun dilukai menggunakan jarum steril sebanyak tiga tusukan pada setiap helaian daun. Masing-masing bekas tusukan kemudian ditetesi dengan suspensi bakteri *Xoo* sebanyak 10 µl dengan kerapatan 10⁹ CFU/mL. Kemudian pangkal daun ditutup dengan tisu lembab. Pengamatan dilakukan terhadap panjang gejala hawar daun bakteri pada 3 dan 7 HSI atau setelah gejala hawar daun bakteri muncul (Akhtar *et al.*, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Viabilitas bakteri *Xoo* dapat dihitung dari jumlah koloni bakteri *Xoo* yang tumbuh pada media Wakimoto Agar. Viabilitas bakteri *Xoo* setelah penyimpanan memiliki kisaran kerapatan antara 1,26 x 10⁹ CFU/ml sampai dengan 4,49 x 10⁹ CFU/ml. Jumlah tersebut sudah sesuai dengan syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas, yaitu 10⁵ sampai dengan 10⁸ CFU/ml (Hermawaan dkk., 2007). Data jumlah koloni bakteri *Xoo* setelah 3 dan 6 bulan penyimpanan disajikan pada Tabel 1. Pertumbuhan bakteri *Xoo* pada media WA dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1. Viabilitas bakteri *Xoo* pada media Wakimoto Agar: a. Kontrol, b. Glycerol 10%, c. Glycerol 20%, d. Glycerol 30%, e. Glycerol 40%, dan f. Glycerol 50%.

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa jumlah koloni bakteri *Xoo* setelah 3 bulan penyimpanan tidak menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan. Akan tetapi perlakuan penyimpanan menggunakan glycerol 20% memiliki jumlah bakteri yang cenderung lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada penyimpanan selama 6 bulan, perlakuan penyimpanan menggunakan glycerol 20% berbeda nyata dengan perlakuan glycerol 10%, 40%, dan kontrol, tetapi tidak berbeda dengan perlakuan glycerol 30% dan 50%. Hal ini sejalan dengan penelitian Setiaji (2015) yang melaporkan bahwa konsentrasi glycerol 15-20% merupakan konsentrasi yang paling efektif untuk menyimpan biakan *Aeromonas hydrophila* pada suhu -20°C selama 56 hari.

Tabel 1: Jumlah koloni bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* setelah penyimpanan

Perlakuan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/ml)	
	3 Bulan	6 Bulan
Glycerol 50 %	$1,51 \times 10^9$ a	$2,74 \times 10^9$ ab
Glycerol 40 %	$1,40 \times 10^9$ a	$2,16 \times 10^9$ a
Glycerol 30 %	$1,26 \times 10^9$ a	$2,90 \times 10^9$ ab
Glycerol 20 %	$2,48 \times 10^9$ a	$4,49 \times 10^9$ b
Glycerol 10 %	$1,74 \times 10^9$ a	$1,69 \times 10^9$ a
Tanpa Glycerol	$1,97 \times 10^9$ a	$1,76 \times 10^9$ a

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Penelitian Hermawan dkk. (2008) juga melaporkan bahwa bakteri *Streptococcus* sp. dapat bertahan selama 3 bulan pada suhu -20°C apabila disimpan dalam media TSB yang dicampur dengan glycerol 15-20%. Hal tersebut diduga karena konsentrasi krioprotektan 15-20% diduga isotonis dengan cairan pada sitoplasma. Kondisi isotonis memungkinkan terjadinya pertukaran antara cairan dari sitoplasma dengan glycerol, sehingga cairan di dalam sel bakteri dapat digantikan oleh glycerol. Oleh sebab itu, selama proses penyimpanan dalam suhu -20°C tidak terjadi kristalisasi air di dalam sel yang menyebabkan pembengkakan dan kerusakan sel. Akibatnya daya tumbuh bakteri lebih tinggi.

Pada tabel 1 juga dapat dilihat bahwa jumlah koloni bakteri *Xoo* pada perlakuan kontrol tanpa glycerol cenderung mengalami penurunan setelah penyimpanan selama 6 bulan dibandingkan dengan perlakuan lain yang menggunakan glycerol, kecuali perlakuan glycerol 10%. Hal tersebut disebabkan karena proses pendinginan di bawah suhu titik beku air (0°C) tanpa glycerol menyebabkan terbentuknya kristal es di luar

dan di dalam sel yang berakibat rusaknya dinding sel mikroba serta keluarnya cairan intra sel akibat peningkatan konsentrasi garam dalam larutan (Najmiyati & Dominikus, 2012).

Patogenisitas Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Patogenisitas bakteri *Xoo* dapat diukur dari panjang gejala penyakit Hawar Daun Bakteri (HDB) yang muncul pada daun padi sehat yang diinokulasikan bakteri *Xoo*. Gejala bercak penyakit HDB yang muncul pada daun padi sehat diamati dibawah mikroskop lalu panjangnya diukur menggunakan jangka sorong. Gejala penyakit HDB dapat dilihat pada Gambar 2. Data pengaruh perlakuan penyimpanan bakteri *Xoo* pada larutan glycerol terhadap panjang gejala penyakit HDB ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2: Panjang gejala hawar daun bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Xoo* setelah penyimpanan

Perlakuan	Panjang Gejala (mm)			
	3 Bulan		6 Bulan	
	3 HSI	7 HSI	3 HIS	7 HSI
Glycerol 50 %	2,175 a	12,200 a	4,200 a	32,475 ab
Glycerol 40 %	2,225 a	13,900 a	1,025 a	30,025 ab
Glycerol 30 %	1,175 a	8,243 a	5,975 a	34,625 ab
Glycerol 20 %	5,100 a	14,583 a	2,875 a	46,200 b
Glycerol 10 %	1,450 a	10,633 a	4,875 a	44,475 ab
Tanpa Glycerol	2,000 a	9,750 a	2,050 a	22,700 a

Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf nyata 5%. HSI : Hari Setelah Inokulasi.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa gejala penyakit HDB sudah muncul sejak pengamatan hari ke-3 setelah inokulasi baik oleh *Xoo* yang telah disimpan selama 3 bulan maupun 6 bulan. Hal tersebut sejalan dengan Djatmiko & Prakoso (2010) yang melaporkan bahwa masa inkubasi penyakit hawar daun bakteri adalah 3-5 hari. Pada penyimpanan *Xoo* 3 bulan, panjang gejala yang muncul tidak berbeda antar perlakuan. Namun, pada pengamatan 6 bulan penyimpanan, perlakuan glycerol 20% berpengaruh nyata terhadap panjang gejala penyakit HDB dibandingkan dengan kontrol pada 7 HSI. Panjang gejala penyakit HDB pada perlakuan glycerol 20% mencapai 46,2 mm sedangkan pada kontrol 22,7 mm. Masa inkubasi tersebut bergantung pada varietas padi, patotipe *Xoo*, dan kondisi lingkungannya (Sudir, 2011). Gejala penyakit HDB pada padi dimulai saat fase vegetatif umur 1-4 minggu setelah tanam. Awalnya muncul pada bagian daun yang terluka berupa bercak kebasahan lalu berkembang meluas menjadi berwarna hijau keabu-abuan dan daun menjadi keriput, akhirnya layu seperti tersiram air panas.

Panjang gejala yang disebabkan oleh *Xoo* setelah penyimpanan 3 dan 6 bulan mengalami perbedaan. Hal tersebut disebabkan karena penyimpanan dalam glycerol selama 3 bulan tidak cukup lama untuk memengaruhi virulensi. Bakteri menimbulkan penyakit salah satunya karena mempunyai faktor patogenesitas dan tingkat patogenesitas dipengaruhi oleh faktor virulensi (Joko *et al.*, 2014). Beberapa faktor penentu patogenesitas bakteri patogen tanaman antara lain sistem sekresi tipe I-VI (Rakhashiya *et al.*, 2016), eksopolisakarida (EPS) dan lipopolisakarida (LPS) (Arwiyanto, 2015). T3SS merupakan mekanisme penting dalam patogenesitas bakteri Gram negatif patogen tanaman (Rakhashiya *et al.*, 2016). Keberadaan salah satu atau beberapa faktor penentu patogenesitas dapat menyebabkan bakteri bersifat patogen atau *deleterious* terhadap inang.

Pada tabel 2 juga dapat dilihat bahwa panjang gejala penyakit HDB pada perlakuan kontrol tanpa glycerol cenderung lebih pendek dibandingkan dengan perlakuan lain yang menggunakan glycerol, baik setelah penyimpanan selama 3 dan 6 bulan. Hal tersebut disebabkan karena viabilitas pada perlakuan kontrol paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lain yang menggunakan glycerol sehingga memungkinkan bakteri pada perlakuan kontrol sudah terganggu tingkat patogenesitasnya. Sedangkan pada perlakuan

glycerol 20% menunjukkan hasil yang baik disebabkan karena viabilitas pada perlakuan tersebut masih baik sehingga memungkinkan tingkat patogenisitasnya masih terjaga selama proses penyimpanan.



Gambar 2. Gejala penyakit hawar daun bakteri pada daun padi metode *detached leaf assay*: a. Kontrol, b. Glycerol 10%, c. Glycerol 20%, d. Glycerol 30%, e. Glycerol 40%, dan f. Glycerol 50%

KESIMPULAN

Glycerol dapat digunakan sebagai *cryoprotectant agent* untuk penyimpanan bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* sampai dengan 6 bulan. Konsentrasi glycerol 20% memberikan hasil terbaik dalam mempertahankan viabilitas dan patogenisitas bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* setelah penyimpanan selama 6 bulan. Jumlah bakteri *Xoo* pada glycerol 20% setelah 6 bulan penyimpanan sebanyak $4,49 \times 10^9$ CFU/ml, sedangkan kontrol (tanpa glycerol) sebanyak $1,76 \times 10^9$ CFU/ml. Konsentrasi glycerol 20% juga berpengaruh nyata terhadap panjang gejala penyakit HDB yang ditimbulkan oleh bakteri *Xoo* setelah 6 bulan penyimpanan, yang diamati pada hari ke-7 setelah inkubasi. Panjang gejala penyakit HDB pada perlakuan glycerol 20% sebesar 46,2 mm, sedangkan kontrol tanpa glycerol sebesar 22,7 mm. Sedangkan pada penyimpanan selama 3 bulan, pemberian glycerol tidak memberikan pengaruh yang nyata baik terhadap viabilitas *Xoo* maupun panjang gejala penyakit HDB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana atas pendanaan yang disediakan oleh Direktorat Riset, Pengabdian Kepada Masyarakat, dan Inovasi Universitas Padjadjaran Bandung melalui skema Hibah Internal Riset Tenaga Kependidikan Unpad tahun anggaran 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, M. A., A. Rafi, dan A. Hameed. 2008. Comparison of Methods of Inoculation of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Rice Cultivars. *J. Bot.* 40 (5) : 2171-2151.
- Arwiyanto, T. 2015. *Ralstonia solanacearum*: Biologi, Penyakit yang Ditimbulkan dan Pengelolaannya. Gadjah Mada University Press.

- Badjoeri, M. 2010. Preservasi Mikroba untuk Pelestarian dan Stabilitas Plasma Nutfah. Warta Limnologi no.45 tahun xiii, Desember 2010.
- Djarmiko, H.A. dan B. Prakoso, 2010. Keragaman Patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada Tanaman Padi di Tiga Ketinggian Tempat Berdasarkan Pola RAPD. AGRIVITA Vol. 32(2) : 155 – 162.
- Hermawan, A., W. Hana dan T. Wiwiek. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Erlangga.
- Hermawan, T., A. Syarief, M.H. Arisandi, M.D. Saptono, N. Destiana dan M. Atmomarsono. 2008. Viabilitas *Streptococcus* sp. Menggunakan Konsentrasi Gliserol yang Berbeda dalam TSB Selama Empat Bulan Preservasi Beku. Prosiding Hasil Uji Coba Preservasi Vol 3. Pusat Karantina Ikan. Jakarta.
- Joko T, Subandi A, Kusumandari N, Wibowo A, and Priyatmojo A. 2014. Activities of Plant Cell Walldegrading Enzymes by Bacterial Soft Rot Of Orchid. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 47(10): 1239– 1250.
- Miles, A. A. and Misra S. S. 1938. The Estimation of The Bactericidal Activity of Blood. Journal Of Hygiene 38:732-749.
- Najmiyati, E. dan Dominikus A. H. 2012 Viabilitas Konsorsium Mikroba Pendegradasi Hidrokarbon Setelah Penyimpanan dalam Pendingin dan Penyimpanan Beku. Ecolab 6(2): 61-104.
- Rakhashiya P.M., Patel P.P., Sheth B.P., Tank J.G., and Thaker V.S. 2016. Detection of Virulence and Pathogenicity Genes in Selected Phytopathovars. Arch. of Phytopathology Plant Protect. 49(1 - 4): 64–73.
- Setiaji, J. 2015. Pengaruh Gliserol pada Media Tryptic Soy Broth (TSB) terhadap Viabilitas Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Dinamika Pertanian Vol.30(1):83-91.
- Sudir. 2011. Pengaruh Varietas, Populasi Tanaman dan Waktu Pemberian Pupuk N terhadap Penyakit Padi. Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Padi Nasional 2010. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi: 393-604.
- Suparyono, Sudir, dan Suprihanto. 2004. Pathotype Profile of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, Isolates from The Rice Ecosystem in Java. Indonesian Journal of Agricultural Science 5(2): 63-69.
- Wahyudi, A. T., S. Meliah, dan A. A. Nawangsih. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, dan Telaah Mutagenesis dengan Transposon. Makara Sains 15(1): 89-96.