

ISOLASI BAKTERIOFAG *Xanthomonas oryzae* DARI LAHAN SAWAH DI KELURAHAN KECANDRAN, KECAMATAN SIDOMUKTI, SALATIGA DAN STABILITASNYA TERHADAP BERBAGAI pH

ISOLATION *Xanthomonas oryzae* bacteriophages FROM PADDY FIELDS AT KECANDRAN VILLAGE, SIDOMUKTI SUBDISTRICT, SALATIGA AND ITS STABILITY TOWARD VARIOUS pH

Christiani Yasmine, Andree Wijaya Setiawan, dan Yoga Aji Handoko*

Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana, Kota Salatiga, Indonesia

*Email: yoga.handoko@uksw.edu

* Corresponding Author, Diterima: 21 Mei 2022, Direvisi: 14 Mar. 2023, Disetujui: 1 Mei 2023

ABSTRACT

*Bacterial leaf blight (BLB) is a disease that attacks rice plants and is caused by the bacterium *Xanthomonas oryzae*. So far, farmers have been preventing this BLB disease by spraying bactericides, rotating pathogenic host-plant and planting disease-resistant varieties. However, this control has not given maximum results, due to the diversity of *Xanthomonas oryzae* strains. Giving the bactericides is still not able to suppress the growth of bacteria completely. Instead, it can only slow down the growth rate of *Xanthomonas oryzae* and may pose a risk of killing beneficial bacteria. Therefore, it is necessary to make efforts to control *Xanthomonas oryzae* by considering bacteriophages as biocontrol agents to infect *Xanthomonas oryzae*. The method to obtain *Xanthomonas oryzae* bacteriophages begins with taking soil samples in the rice field by transect sampling method, isolation, purification, and propagation of bacteriophages. The stability test serves to determine how the bacteriophage particles can withstand acidic and alkaline pH. The research result showed there are three samples of bacteriophages that were successfully isolated, named K1 (Kecandran 1), K2 (Kecandran 2), and K3 (Kecandran 3). The stability test on pH in 3 samples showed that the bacteriophage's titer was stable at pH 7 and pH 9, while at pH 2 and pH 5 the titer decreased. This indicated that the bacteriophages were unable to survive under acidic conditions. The three samples at pH 12 showed a titer decrease which resulted that the bacteriophages were not resistant to base conditions.*

Keywords : *Bacterial leaf blight, bacteriophage, pH stability, *Xanthomonas oryzae**

ABSTRAK

Hawar daun bakteri (HDB) merupakan penyakit yang menyerang tanaman padi dan disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae*. Selama ini petani menanggulangi penyakit HDB ini dengan cara menyemprotkan bakterisida, pengiliran tanaman yang bukan inang patogen, dan menanam varietas tahan penyakit. Akan tetapi, pengendalian tersebut belum memberikan hasil yang maksimal, karena keragaman strain bakteri *Xanthomonas oryzae*. Pemberian bakterisida ini masih belum bisa menekan pertumbuhan bakteri sepenuhnya melainkan, hanya bisa memperlambat laju pertumbuhan bakteri *Xanthomonas oryzae* dan kemungkinan beresiko membunuh bakteri yang menguntungkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya untuk mengendalikan bakteri *Xanthomonas oryzae* dengan mempertimbangkan bakteriophage sebagai agen biokontrol untuk menginfeksi bakteri *Xanthomonas oryzae*. Metode untuk mengisolasi bakteriophage *Xanthomonas oryzae* diawali dengan pengambilan sampel tanah di lahan sawah dengan cara transek sampling, isolasi, purifikasi, dan propagasi bakteriophage. Pengujian stabilitas bakteriophage berfungsi untuk mengetahui kekuatan partikel bakteriophage dapat bertahan terhadap pH asam dan basa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 3 sampel bakteriophage yang berhasil diisolasi yaitu K1 (Kecandran 1), K2 (Kecandran 2), dan K3 (Kecandran 3). Hasil uji stabilitas bakteriophage terhadap pH menunjukkan ketiga sampel diperoleh titer bakteriophage stabil pada pH 7 dan pH 9, sedangkan pada pH 2 dan pH 5 bakteriophage cenderung mengalami penurunan titer dan menunjukkan tidak mampu bertahan pada kondisi asam. Dari ketiga sampel tersebut, pada pH 12 menunjukkan adanya penurunan titer yang mengakibatkan sebagian besar partikel bakteriophage tidak tahan terhadap kondisi basa.

Kata Kunci: Bakteriophage, hawar daun bakteri, stabilitas pH, *Xanthomonas oryzae*

1. PENDAHULUAN

Indonesia terdapat beberapa penyakit pada tanaman padi antara lain penyakit hawar pelelah daun, penyakit kerdl hampa, penyakit bercak daun, penyakit hawar daun bakteri (HDB), dan penyakit kerdl rumput (Semangun, 2008). Diantara sekian banyak penyakit yang menyerang tanaman padi, penyakit HDB merupakan salah satu masalah serius dalam penurunan produktivitas padi di Indonesia. Penyakit HDB disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* yang menyerang tanaman padi. Indikasi yang terjadi pada tanaman padi yang terserang bakteri ini dapat dilihat pada daun padi, yakni daun padi menjadi berwarna pucat, layu, dan lama kelamaan akan mati (Wahyudi *et al.*, 2011).

Ada beberapa cara mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *X. oryzae* diantaranya dengan menyemprotkan bakterisida, menanam varietas tahan penyakit, pergiliran tanaman yang bukan inang patogen, dan sanitasi lahan (Yanti *et al.*, 2018). Akan tetapi, pengendalian tersebut belum memberikan hasil yang maksimal, dikarenakan keragaman *strain* bakteri *X. oryzae*. Keragaman *strain* bakteri ini disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya lingkungan, mutasi gen, dan varietas yang digunakan. Lee *et al.*, (2007) melaporkan bahwa penggunaan bakteriofag dapat dipertimbangkan sebagai biokontrol (pengendali hidup) untuk menginfeksi *X. oryzae* yakni, dengan tipe inang *X. oryzae* pv. *oryzae*.

Lang *et al.*, (2010) juga menyatakan bahwa bakteriofag memiliki peran khusus dalam mengendalikan laju pertumbuhan bakteri, salah satu contohnya adalah bakteriofag *X. oryzae* yang mampu menginfeksi laju bakteri *X. oryzae* pada tanaman padi. Ranjani *et al.*, (2018) menemukan bahwa bahwa bakteriofag merupakan virus yang menginfeksi bakteri serta memiliki sifat spesifitas dan propagasi eksponensial yang menjadikan bakteriofag menjadi biokontrol yang baik. Bakteriofag sebagai agen kontrol biologis terhadap *X. oryzae* dalam perkembangannya dapat diaplikasikan sebagai “biopestisida atau predator” yang efektif untuk mengendalikan penyakit HDB. Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk mengisolasi dan menguji stabilitas bakteriofag *X. oryzae* dari lahan persawahan di Kelurahan Kecandran, Kecamatan Sidomukti, Kota Salatiga sebagai tahapan awal dalam menghasilkan agen biokontrol HDB.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada lahan sawah di Kelurahan Kecandran, Kecamatan Sidomukti, Kota Salatiga dan Laboratorium Mikrobiologi Pertanian, Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Agustus 2020 sampai dengan Desember 2021.

2.2 Prosedur Penelitian dan Parameter Pengamatan

Prosedur penelitian ini menggunakan metode eksploratif deskriptif, karena tidak adanya struktur tertentu untuk mendapatkan bakteriofag hingga diprediksi terdapat bakteriofag di sekitar tanaman padi.

2.3 Isolat *Xanthomonas oryzae*

Isolat bakteri *X. oryzae* diperoleh dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) dengan kode isolat InaCC B16. Untuk keperluan penyimpanan, *X. oryzae* dikulturkan pada medium NA (*Nutrient Agar*) miring, sedangkan untuk kebutuhan penelitian, *X. oryzae* dikulturkan pada medium NB (*Nutrient Broth*) selama semalam.

2.4 Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari sekitar perakaran (*rhizosfer*) tanaman padi di Kelurahan Kecandran, Kecamatan Sidomukti, Kota Salatiga yang dilakukan pada pagi hari pukul 05.30-06.30. Sampel tanah diambil dengan metode transek yaitu diambil 5 titik berjarak dan menarik garis lurus satu petak sawah (Hidayat, 2017). Sampel kemudian dimasukkan dalam plastik hitam dan dibawa ke laboratorium. Sampel kemudian diambil sebanyak 25 g serta dilarutkan dalam larutan *SM buffer* sebanyak 50 mL dan ditambahkan 5 mL kultur semalam *X. oryzae*. Sampel selanjutnya ditutup plastik hitam dan dihomogenkan dengan *shaker* pada kecepatan 200 rpm selama 3 jam. Setelah dihomogenkan, sampel diambil disentrifuse pada kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit dan diulang sebanyak 3 kali hingga diperoleh supernatant yang

jernih. Supernatan selanjutnya disaring menggunakan membran filter 0,22 μm dan supernatan sebagai *lysate* ditampung pada tabung *falcon* serta disimpan pada refrigerator.

2.5 Isolasi bakteriofag (adaptasi Ranjani, 2018)

Isolasi bakteriofag ini menggunakan metode *spot test*. Prosedurnya ialah menyiapkan *lysate* dari sampel, kultur semalam *X. oryzae* dalam medium NB (*Nutrient Broth*), medium NA (*Nutrient Agar*), NA soft agar 5,5%, *microtube*, *bluetip*, *yellowtip*, *micropipet* 100 μL dan 1000 μL , tabung reaksi, kertas label, bunsen, dan alkohol. Setelah alat dan bahan telah disteril, medium NA (*Nutrient Agar*) dituang dalam cawan petri hingga memadat. Proses selanjutnya kultur *X. oryzae* semalam sebanyak 100 μL dan 5000 μL NA soft agar dicampur dan dituang pada cawan petri yang sudah berisi NA (*Nutrient Agar*) yang memadat (metode *double layer agar*). Selanjutnya, *lysate* diteteskan sebanyak 100 μL dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30 °C. Sampel kemudian diamati terbentuknya *plaque* (zona bening/ zona lisis) sebagai indikator berhasilnya isolasi bakteriofag.

2.6 Purifikasi Bakteriofag (adaptasi Ranjani, 2018)

Pemurnian bakteriofag *X. oryzae* dilakukan dengan cara mengambil *plaque* tunggal yang tampak diperlukaan medium NA (*Nutrient Agar*). *Plaque* diambil menggunakan *micropipet* sebanyak 2 kali dan dimasukkan pada larutan *SM buffer* 200 μL dalam *microtube* steril. *Plaque* yang sudah diambil kemudian ditambahkan suspensi bakteri *X. oryzae* umur semalam sebanyak 100 μL dan didiamkan selama 45 menit. Selanjutnya *plaque* diuji menggunakan metode *plaque assay* dengan cara menuangkan medium NA (*Nutrient Agar*) 5 mL pada cawan petri steril hingga memadat. Suspensi *X. oryzae* dan *plaque* tersebut kemudian ditambahkan medium NA soft agar sebanyak 5 mL dan dituangkan pada cawan petri yang berisi medium NA (*Nutrient Agar*). Sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Hasil purifikasi diamati dengan terbentuknya *plaque* yang ukurannya sama.

2.7 Propagasi Bakteriofag (adaptasi Ranjani, 2018)

Untuk proses propagasi bakteriofag *X. oryzae* dimulai dengan pengambilan *plaque* hasil purifikasi

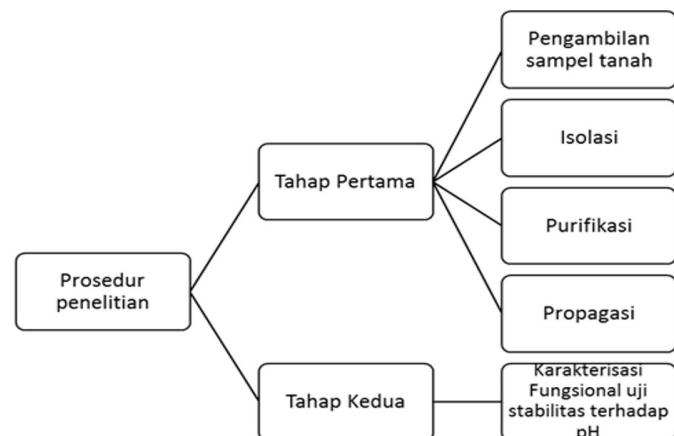
dengan ukuran yang sama menggunakan *blue tip* yang sudah dipotong pada bagian ujungnya, *Plaque* kemudian diambil akan dicampurkan ke dalam medium NB (*Nutrient Broth*) cair sebanyak 25 mL serta ditambahkan kultur bakteri *X. oryzae* sebanyak 2 mL dan ditutup dengan kapas dan dilapisi aluminium foil. Sampel selanjutnya dihomogenkan menggunakan *shaker* pada kecepatan 100 rpm selama 48 jam. Setelah 48 jam, sampel disentrifuse pada kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit hingga memperoleh supernatan yang jernih sebagai *stock lysate* hasil propagasi dan disimpan pada tabung *falcon* steril. *Lysate* tersebut kemudian dilakukan pengujian *plaque assay* melalui seri pengenceran 10⁻¹ s.d. 10⁻¹⁰ dalam menggunakan medium NB (*Nutrient Broth*) cair. *Lysate* dalam setiap seri pengenceran diambil sebanyak 50 μL dan dimasukkan dalam tabung yang berlabel 10⁻¹ dan dilakukan pengulangan hingga seri pengenceran 10⁻¹⁰. Selanjutnya kultur bakteri *Xo* ($\text{OD}_{600\text{nm}} = 0,30$) sebanyak 500 μL dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan yang telah ditambahkan sebanyak 50 μL *lysate* pada setiap seri pengenceran. Setiap sampel kemudian ditambahkan medium NA soft agar sebanyak 5 mL dan dituang dalam *petridish* yang berisi medium NA (*Nutrient Agar*) yang memadat. Setiap sampel selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Terbentuknya *plaque* dari seri pengenceran dihitung untuk memperoleh titer bakteriofag. Rumus perhitungan titer bakteriofag ditentukan dengan rumus (Hatfull, 2020):

bakteriofag titer =

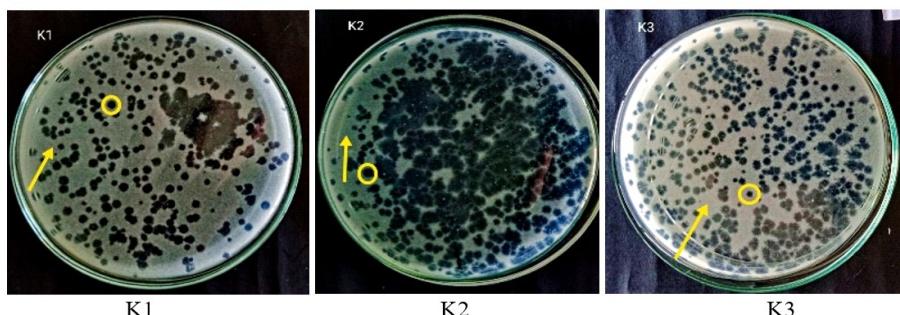
$$\frac{\text{jumlah plaque} \times 1000\mu\text{L}}{50\mu\text{L}} \times \frac{\text{faktor pengenceran}}{1\text{mL}}$$

2.8 Uji Stabilitas Bakteriofag terhadap pH (adaptasi Czajkowski, 2014)

Pengaruh pH terhadap stabilitas partikel bakteriofag diuji dengan mengambil 250 μL *lysate* bakteriofag *X. oryzae* hasil propagasi dan dimasukkan pada *microtube*. Selanjutnya, sebanyak 3 sampel *lysate* bakteriofag *X. oryzae* dilakukan pengecekan pH menggunakan pH *strip*. Penambahan larutan HCl 0,1 M diteteskan pada sampel hingga mencapai pH 2 dan 5 untuk menguji bakteriofag terhadap kondisi asam, sedangkan penambahan larutan NaOH 0,1 M diteteskan pada sampel hingga mencapai pH 9 dan 12 untuk menguji ketahanan bakteriofag pada kondisi basa. Sampel kemudian diinkubasi selama 60 menit. Selanjutnya



Gambar 1. Prosedur Isolasi dan Uji Stabilitas Bakteriofag terhadap pH



Gambar 2. Hasil Isolasi Bakteriofag *Xanthomonas oryzae* K1, K2, K3. Tanda panah merepresentasikan zona pertumbuhan bakteri *Xo* dan tanda dalam lingkaran dengan latar belakang warna hitam merepresentasikan *plaque*.

stabilitas bakteriofag terhadap pH diamati respon pembentukan *plaque* dengan menggunakan metode *double layer agar*. Pengujian ini diulang sebanyak 3 kali. Berikut alur penelitian isolasi dan uji stabilitas bakteriofag *Xanthomonas oryzae* terhadap pH (Gambar 1.).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Isolasi Bakteriofag *Xanthomonas oryzae*

Isolasi bakteriofag merupakan tahap pertama dalam mendapatkan bakteriofag *Xanthomonas oryzae*, dengan ditunjukkan adanya zona transparan (*plaque*) dalam lingkaran yang berlatar belakang warna hitam. Zona transparan (*plaque*) yang terbentuk memperlihatkan bakteri *Xanthomonas oryzae* diinfeksi oleh bakteriofag. Bitton (2002) menyatakan bahwa terbentuknya *plaque* dengan ukuran dan morfologi yang beragam pada jenis bakteriofag diakibatkan infeksi oleh fag pada bakteri sebagai *host*. Pada Gambar 2, hasil isolasi bakteriofag dari sampel tanah sawah di

Kelurahan Kecandran memiliki potensi cukup besar dengan dihasilkan 3 sampel, yaitu: K1 (Kecandran 1), K2 (Kecandran 2), dan K3 (Kecandran 3) yang positif adanya bakteriofag *Xanthomonas oryzae* dengan ukuran beragam. Jumlah *plaque* yang terbentuk sangat banyak, karena pada saat proses pengambilan sampel kondisi tanah memiliki tekstur padat dan tidak banyak mengandung air. Selain itu, sampel diambil pada pagi hari yang tidak terkena matahari secara langsung. Sampel ditemukan bakteriofag yang beragam karena diambil pada saat musim penghujan. Shende *et al.*, (2017) menyatakan bahwa keberadaan bakteriofag di alam sangat tersebar luas. Lingkungan yang ditinggali oleh bakteri inang adalah sumber keberadaan berbagai jenis bakteriofag yang bisa diisolasi untuk berbagai tujuan.

3.2 Purifikasi Bakteriofag *Xanthomonas oryzae*

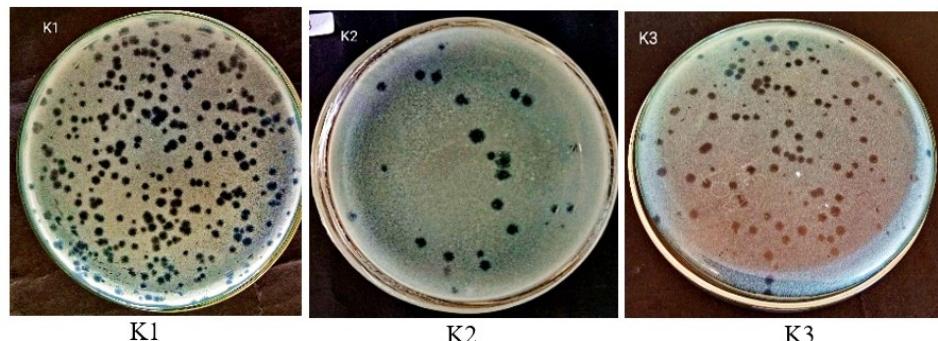
Purifikasi merupakan proses untuk memisahkan bakteriofag *Xanthomonas oryzae* yang beragam hingga memperoleh partikel

bakteriofag tunggal. Hasil purifikasi ditandai dengan munculnya *plaque-plaque* dengan ukuran yang sama (Dabrowska et al., 2005). Ul Haq et al., (2012) menyatakan bahwa tujuan dilakukan purifikasi ialah untuk menghindari terjadinya kontaminasi serta memastikan bahwa bakteriofag *X. oryzae* yang dihasilkan murni. Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa hasil purifikasi sampel K1 (Kecandran 1) dan K3 (Kecandran 3) memiliki ukuran *plaque* yang cenderung sama, sedangkan pada sampel K2 (Kecandran 2) memiliki ukuran *plaque* yang lebih besar. Perbedaan ini karena kemungkinan ukuran *plaque* yang berbeda diakibatkan oleh waktu lisis serta morfologi virion

bakteriofag (Hardanti et al., 2018). Nindita (2013) menyatakan bahwa purifikasi atau pemurnian bakteriofag tunggal merupakan proses penting yang dilakukan sebelum perbanyak partikel bakteriofag.

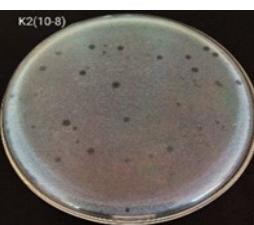
3.3 Propagasi Bakteriofag *Xanthomonas oryzae*

Perbanyak atau propagasi bakteriofag bertujuan untuk meningkatkan titer bakteriofag *Xanthomonas oryzae*. Metode yang digunakan dalam proses propagasi ini menggunakan *plaque assay*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel K1, K2, dan K3 dapat dipropagasi yang ditampilkan melalui Tabel 1.



Gambar 3. Hasil Purifikasi Bakteriofag *Xanthomonas oryzae* K1, K2, K3

Tabel 1. Propagasi Bakteriofag *Xanthomonas oryzae* K1, K2, K3

Sampel	Hasil plating	Jumlah plaque	Titer bakteriofag (PFU/mL)
K1(Kecandran 1)		15	$3,0 \cdot 10^{10}$
K2 (Kecandran 2)		25	$5,0 \cdot 10^{10}$
K3 (Kecandran 3)		8	$1,6 \cdot 10^{10}$

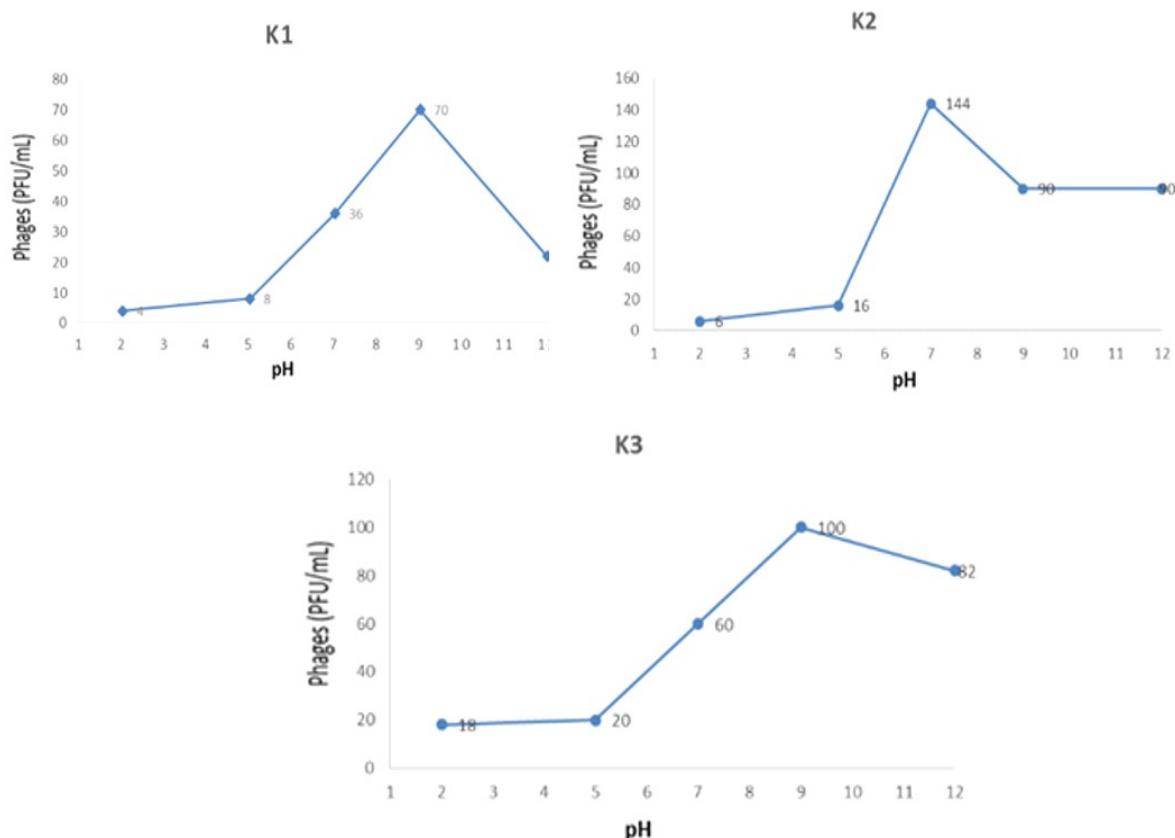
Pada Tabel 1, sampel K1 diketahui jumlah titer *plaque* yaitu 3×10^{10} PFU/mL, K2 jumlah titer fag yaitu 5×10^{10} PFU/mL, sedangkan pada sampel K3 dengan jumlah titer *plaque* $1,6 \times 10^{10}$ PFU/mL. Zona transparan (*plaque*) dengan latar belakang warna hitam yang terbentuk dapat dihitung dengan satuan *Plaque Form Units* (PFU/mL) (Hayati *et al.*, 2016). Data tersebut menunjukkan bahwa bakteriofag *X. oryzae* dapat dipropagasi dan titer bakteriofag tertinggi terlihat pada sampel K2 dan titer bakteriofag terendah pada sampel K3. Madigan (2012) menyatakan bahwa variasi dari titer bakteriofag disebabkan oleh sistem pertahanan bakteri yang diinfeksi oleh bakteriofag. Lisis dari inang bakteri merupakan proses terakhir didalam infeksi siklus bakteriofag litik (Taj *et al.*, 2014). Hasil propagasi dapat digunakan dalam karakterisasi morfologi, molekuler, dan fungsional bakteriofag sebelum diaplikasikan sebagai biokontrol bakteri *Xanthomonas oryzae* di lapangan.

3.4 Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas bertujuan untuk mengetahui karakterisasi fungsional bakteriofag. Sampel dari

K1, K2 dan K3 telah diuji ketahanannya terhadap pH asam, netral, maupun basa. Hasilnya ditampilkan pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan bakteriofag K1, K2, K3 stabil pada pH 7. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian Jurczak-Kurek *et al.*, (2016) yang dilaporkan bahwa bakteriofag relatif stabil pada rentang pH 7-10. Pengaruh pH 2 dan 5 terhadap sampel K1, K2, dan K3 menunjukkan penurunan titer bakteriofag. Penurunan partikel bakteriofag tertinggi pada pH 2 menunjukkan bahwa bakteriofag tidak mampu bertahan pada kondisi asam, karena kemungkinan partikelnya mengalami denaturasi protein (Thung *et al.*, 2017). Sampel K1 dan K3 mengalami penurunan titer pada pH 12. Hal ini dikarenakan kemungkinan disosiasi protein kapsid, yang disebabkan oleh konsentrasi ion hidrogen dan hidroksil (Litt *et al.*, 2017). Sampel K2 menunjukkan adanya kestabilan titernya pada pH 9 dan pH 12. Penurunan titer tertinggi pada sampel K1 menunjukkan bahwa K1 merupakan partikel bakteriofag yang tidak stabil pada kondisi asam maupun kondisi basa. Karakteristik bakteriofag stabilitas pH serta temperatur panas merupakan sifat penting yang dapat menjadi



Gambar 4. Hasil Uji Stabilitas Bakteriofag *Xanthomonas oryzae* K1, K2, K3 terhadap pH

signifikan di dalam berbagai aspek pada terapi bakteriofag (Jamal *et al.*, 2015).

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian disimpulkan bahwa ditemukan 3 partikel bakteriofag, yakni: K1 (Kecandran 1), K2 (Kecandran 2), dan K3 (Kecandran 3) yang diisolasi dari lahan persawahan di Kelurahan Kecandran, Kecamatan Sidomukti, Kota Salatiga. Hasil karakterisasi fungsional melalui uji stabilitas pH dari ketiga bakteriofag menunjukkan bahwa ketiga bakteriofag stabil pada pH 7 dan pH 9. Sedangkan pada kondisi lingkungan asam sampel bakteriofag tidak stabil, sehingga mengalami penurunan titer secara signifikan. Pada pH 12, ketiga sampel mengalami penurunan titer dan penurunan tertinggi terdapat pada sampel K1 yang mengindikasikan ketidakstabilan partikelnya terhadap kondisi basa.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Kristen Satya Wacana yang mendukung penelitian ini melalui hibah dana penelitian internal.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Bitton, G. 2002. *Encyclopedia of environmental microbiology*. <https://www.worldcat.org/title/encyclopedia-of-environmental-microbiology/oclc/47136460>. Diakses pada Desember 2021.
- Dabrowska, K., K. Switała-Jelen, A. Opolski, B. Weber-Dabrowska, & A. Gorski. 2005. A review: Bacteriophage penetration in vertebrates. *Journal of Applied Microbiology*. 98 (1): 7–13.
- Hardanti, S., K. W. Agustin, & D. R. P. Widya. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag Spesifik *Salmonella typhi* dari Kulit Ayam. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 19 (2): 107-116.
- Hatfull, G. 2020. Prosedure for The Isolation and Purification of A Phage. Phagehunting program. University of Pittsburgh. Pittsburgh.
- Hayati, Z., N. J. Siti, & S. Agung. 2016. Isolasi Bakteriofag Spesifik *Pseudomonas* sp. DA1 Dari Biofilm pada Sistem Pengisian Air Minum Isi Ulang. *Jurnal Biologi*. 5 (3): 29–35.
- Hidayat, M. 2017. *Pengolahan Sampah di Lamteuba*. 85–91.
- Jamal, M., H. Tahir, R. D. Chyntanya, & A. Saadia. 2015. Isolation and Characterization of a Myoviridae MJ1 Bacteriophage Against Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* 3. *J Microbiol*. 8 (11): e325917
- Jurczak-Kurek, A., T. Gasior, B. Nejman-Faleńczyk, S. Bloch, A. Dydecka, G. Topka, A. Necel, M. Jakubowska-Deredas, M. Narajczyk, M. Richert, A. Mieszkowska, B. Wróbel, G. W. Grzyn, & A. W. Grzyn. 2016. Biodiversity of Bacteriophages: Morphological and Biological Properties of A Large Group of Phages Isolated from Urban Sewage. *Scientific Reports*. 6: 1–17.
- Lang, J. M., J. P. Hamilton, M. G. Q. Diaz, M. A. Van Sluys, M. R. G. Burgos, C. M. Vera Cruz, C. R. Buell, N. A. Tisserat, & J. E. Leach. 2010. Genomics-based Diagnostic Marker Development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant Disease*. 94 (3): 311–319.
- Lee, C. N., R. M. Hu, T. Y. Chow, J. W. Lin, H. Y. Chen, Y. H. Tseng & S. F. Weng. 2007. Comparison of Genomes of Three *Xanthomonas oryzae* Bacteriophages. *BMC Genomics*. 8: 1–11.
- Nindita, L.O., & A. K. Wardani. 2013. Purifikasi Phage Cocktail serta Spektrum Penghambatannya terhadap Bakteri Penyebab *Foodborne Disease*. 14 (1): 47–56.
- Litt, P.K., & J. Divya. 2017. Isolation and Physiomorphological Characterization of *Escherichia coli* O157: H7- Infecting Bacteriophages Recovered from Beef Cattle Operations. *International of Journam Microbiology*. 2017: 3-11.
- Madigan, M. T. 2012. *Brock Biology of Microorganisms* (13th ed.). https://www.amazon.com/Brock-Biology-Microorganisms-Michael-Madigan/dp/032164963X/dp/032164963X/ref=mt_other?_encoding=UTF8&me=&qid=. Diakses pada Desember 2021.
- Ranjani, P., Y. Gowthami, S. Gnanamanickam, & P. Palani. 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.
- Semangun, H. 2008. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. <https://ugmpress>.

- ugm.ac.id/id/product/pertanian/penyakit-penyakit-tanaman-pangan-di-indonesia. Diakses pada Desember 2021.
- Shende, R. K., S. D. Hirpurkar, C. Sannat, N. Rawat, & V. Pandey. 2017. Isolation and Characterization of Bacteriophages With Lytic Activity Against Common Bacterial Pathogens. *Veterinary World*. 10 (8): 973-978.
- Taj, M. K., J. X. Ling, L. L. Bing, Z. Qi, I. Taj, T. M. Hassani, Z. Samreen, & W. Yunlin. 2014. Effect of Dilution, Temperature and pH on The Lysis Activity of T4 Phage Against *E. coli* BL21. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 24 (4): 1252–1255.
- Thung, T. Y., K. J. K. Premarathne, W. S. Chang, Y. Y. Loo, Y. Z. Chin, C. H. Kuan, C. W. Tan, D. F. Basri, J. W. M. Radzi, & S. Radu. 2017. Use of A Lytic Bacteriophage to Control *Salmonella enteritidis* in Retail Food. *LWT - Food Science and Technology*. 78: 222–225.
- Ul Haq, I., W. N. Chaudhry, M. N. Akhtar, S. Andleeb, & I. Qadri. 2012. Bacteriophages and their Implications on Future Biotechnology: A review. *Virology Journal*. 9: 1–8.
- Wahyudi, A. T., S. Meliah, & 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.
- Yanti, S., Marlina, & Fikrinda. 2018. Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Padi Sawah Menggunakan Fungi Mikoriza. *Jurnal Agroecotania*. 1 (2): 14–21.