

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
INTISARI	xvii
<i>ABSTRACT</i>	xviii
 <b>I. PENDAHULUAN</b>	 1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	5
C. Manfaat Penelitian	6
 <b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Sejarah dan Arti Penting Penyakit HLB	7
B. Patogen, Gejala, Penularan, Deteksi dan Pengendalian Penyakit HLB	8
1. Patogen	8
2. Gejala penyakit HLB	9
3. Penularan penyakit HLB	11
4. Deteksi patogen penyebab penyakit HLB	13
5. Pengendalian penyakit HLB	15
C. Faktor yang Berperan Mempengaruhi Penyakit HLB dan Respon Tanaman terhadap Stres	18
D. Pupuk Hayati, Pupuk Organik dan <i>Plant Growth Promoting</i> <i>Rhizobacteria</i> (PGPR)	21
E. Komunitas Mikrobial pada Tanaman Jeruk	24
F. Kerangka Teori	25
G. Hipotesis	27

### III. BAHAN DAN METODE

A. Waktu dan Tempat Penelitian	28
B. Bahan dan Peralatan Penelitian	28
C. Pelaksanaan Penelitian	
1. Layout penelitian	29
2. Tahapan kegiatan	
a. Perlakuan kombinasi batang bawah/batang atas jeruk	31
b. Perlakuan pemupukan organik dan penyungkupan pada tanaman jeruk muda dan penyungkupan pada tanaman umur produktif	31
c. Perlakuan pupuk hayati cair di lapang	33
D. Metode Pengamatan Masing-masing Parameter	
1. Intensitas penyakit dan persentase penghambatan penyakit HLB	33
2. Deteksi infeksi penyakit HLB dengan metode <i>Polymerase Chain Reactions</i> (PCR)	
a. Ekstraksi DNA	35
b. Amplifikasi dan separasi DNA	36
c. Visualisasi DNA	36
3. Deteksi kerapatan sel bakteri <i>Ca. L. asiaticus</i> dengan <i>real-time</i> PCR	36
4. Profil komunitas bakteri dari pupuk hayati dan rizosfer tanaman dengan metode PCR	
a. Isolasi dan ekstraksi bakteri	37
b. Amplifikasi DNA	38
c. Skoring dan analisa dendogram	39
5. Karakterisasi bakteri endofitik dengan metode Rep-PCR menggunakan primer Box A1R dan identifikasi berdasarkan gen 16S rRNA	
a. Karakterisasi bakteri endofit dari tulang daun jeruk dengan Rep-PCR	39
b. Identifikasi bakteri endofit dari tulang daun jeruk berdasarkan gen 16S rRNA	40

6. Fisiologi tanaman: kandungan prolin, kadar klorofil, laju fotosintesis, CO <sub>2</sub> sel, dan transpirasi daun pada tanaman jeruk	
a. Kandungan prolin	40
b. Kadar klorofil	41
c. Laju fotosintesis, CO <sub>2</sub> sel dan transpirasi daun	41
7. Kadar Fe dan Zn pada daun, kadar N, P, K, bahan organik dan pH serta tekstur tanah	41
8. Parameter pertumbuhan: persentase tunas baru, tinggi tanaman, diameter kanopi, volume kanopi, diameter batang atas dan bawah	42

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### A. Perlakuan Kombinasi Batang Atas/ Bawah Jeruk

1. Pengaruh kombinasi batang atas/bawah jeruk terhadap intensitas penyakit HLB dan keragaman bakteri endofit	43
a. Insidensi penyakit HLB	43
b. Intensitas penyakit HLB	
a). Intensitas penyakit HLB berdasarkan gejala visual	43
b). Intensitas penyakit HLB berdasarkan keberadaan bakteri CLas	45
c. Keragaman komunitas bakteri endofit dari tulang daun tanaman hasil sambungan	
a). Karakterisasi bakteri endofit dari tulang daun jeruk dengan Rep-PCR	48
b). Identifikasi bakteri endofit dari tulang daun jeruk berdasarkan gen 16S rRNA	49
2. Pengaruh infeksi bakteri <i>Candidatus liberibacter asiaticus</i> (CLas) dan kombinasi batang atas/bawah terhadap pertumbuhan tanaman	
a. Tinggi tanaman	51
b. Diameter batang bawah, batang atas dan rasio batang atas/bawah	52

<b>B. Perlakuan Pemupukan Organik dan Penyungkupan pada Tanaman Muda serta Penyungkupan pada Tanaman Umur Produktif</b>	
1. Kondisi tanaman perlakuan dan kandungan unsur pada media perlakuan	55
2. Suhu, kelembaban dan intensitas cahaya pada perlakuan	56
3. Intensitas penyakit HLB berdasarkan gejala visual	57
4. Deteksi keberadaan bakteri <i>Candidatus liberibacter asiaticus</i> (CLas) secara molekuler	60
5. Perubahan fisiologi tanaman setelah perlakuan	
a. Kandungan prolin pada daun jeruk	64
b. Kandungan klorofil pada daun	66
c. Laju fotosintesis dan CO <sub>2</sub> sel pada tanaman perlakuan	69
d. Transpirasi daun	69
6. Kandungan Fe dan Zn total pada daun	72
7. Komunitas bakteri endofit pada tulang daun jeruk	77
8. Pertumbuhan tanaman setelah perlakuan:	
a. Pertumbuhan tunas baru pada tanaman umur muda dan tanaman umur produktif	78
b. Tinggi tanaman pada tanaman jeruk umur muda	79
c. Diameter kanopi pada tanaman jeruk umur muda	81
d. Jumlah cabang pada tanaman jeruk umur muda	83
e. Diameter batang bawah dan batang atas tanaman jeruk serta kompatibilitas batang pada tanaman jeruk umur muda	84
f. Berat basah dan berat kering tanaman pada tanaman jeruk umur muda	85
<b>C. Perlakuan Pupuk Hayati Cair di Lapang</b>	
1. Kondisi lokasi dan serangan HLB	87
2. Intensitas penyakit HLB berdasarkan gejala visual	88
3. Deteksi keberadaan bakteri <i>Candidatus liberibacter asiaticus</i> (CLas) secara molekuler	90

4. Komunitas bakteri dari pupuk hayati dan rizosfer tanaman	94
5. Pertumbuhan tanaman	
a. Pertumbuhan tunas baru	99
b. Tinggi tanaman	99
c. Diameter kanopi	100
d. Volume kanopi	101
<b>V. PEMBAHASAN UMUM</b>	103
<b>VI. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan	107
B. Saran	108
<b>RINGKASAN</b>	109
<b>SUMMARY</b>	116
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	123
<b>LAMPIRAN</b>	140

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Layout tiga kegiatan penelitian	29
Tabel 2. Skor intensitas penyakit HLB yang digunakan untuk pengamatan gejala pada tanaman muda	35
Tabel 3. Persentase tanaman terinfeksi penyakit HLB berdasarkan nilai batas ambang (Ct) metode <i>real-time</i> PCR pada 8 dan 12 bulan setelah inokulasi	45
Tabel 4. Keberadaan <i>Candidatus</i> Liberibacter asiaticus (CLas) pada enam kombinasi batang atas/bawah yang diinokulasi CLas dan penularan alami oleh vektor pada 8 dan 12 bulan setelah inokulasi berdasarkan nilai batas ambang (Ct) metode <i>real-time</i> PCR	46
Tabel 5. Pengelompokan isolat bakteri endofit dari tulang daun jeruk berdasarkan hasil Rep-PCR dengan primer Box A1R	48
Tabel 6. Homologi isolat bakteri endofit dari tulang daun jeruk dengan isolat pembandingan koleksi GenBank	49
Tabel 7. Tinggi tanaman (cm) pada enam kombinasi batang atas/bawah yang diinokulasi bakteri CLas dan penularan alami oleh vektor 4, 8 dan 12 bulan setelah inokulasi	52
Tabel 8. Diameter batang bawah (mm) pada enam kombinasi batang atas/bawah yang diinokulasi bakteri CLas dan penularan alami oleh vektor 4, 8 dan 12 bulan setelah inokulasi	53
Tabel 9. Diameter batang atas (mm) pada enam kombinasi batang atas/bawah yang diinokulasi bakteri CLas dan penularan alami oleh vektor 4, 8 dan 12 bulan setelah inokulasi	53
Tabel 10. Rasio diameter batang atas/bawah pada enam kombinasi batang bawah/batang atas yang diinokulasi bakteri CLas dan penularan alami oleh vektor 4, 8 dan 12 bulan setelah inokulasi	54
Tabel 11. Kadar N, P, K, bahan organik dan pH pada media tanam yang menggunakan ketiga jenis pupuk organik	55
Tabel 12. Keberadaan <i>Candidatus</i> Liberibacter asiaticus (CLas) berdasarkan nilai batas ambang (Ct) metode <i>real-time</i> PCR pada 4 bulan di media <i>replanting</i> dan setelah penyungkupan tanaman	61

Tabel 13.	Keberadaan bakteri <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> (CLas) berdasarkan deteksi dengan PCR konvensional dan <i>real-time</i> PCR dengan status infeksi patogen, penyungkupan tanaman dan kultivar jeruk yang berbeda	62
Tabel 14.	Kandungan klorofil a daun jeruk ( $\text{mg g}^{-1}$ ) pada interaksi antara penyungkupan tanaman dan kerapatan sel CLas yang berbeda	67
Tabel 15.	Kandungan klorofil ( $\text{mg g}^{-1}$ ) pada daun muda dan daun dewasa setelah perlakuan dengan status infeksi patogen, kultivar jeruk dan penyungkupan tanaman yang berbeda	67
Tabel 16.	Kandungan klorofil ( $\text{mg g}^{-1}$ ) pada daun jeruk enam bulan setelah perlakuan dengan status infeksi patogen, kultivar jeruk dan penyungkupan tanaman yang berbeda	68
Tabel 17.	Laju fotosintesis dan $\text{CO}_2$ sel tanaman ( $\text{mm detik}^{-1}$ ) pada saat perlakuan	69
Tabel 18.	Transpirasi daun jeruk ( $\text{mm detik}^{-1}$ ) pada interaksi antara kerapatan sel CLas dan penyungkupan tanaman yang berbeda	70
Tabel 19.	Transpirasi daun jeruk ( $\text{mm detik}^{-1}$ ) pada interaksi antara jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	70
Tabel 20.	Transpirasi daun jeruk ( $\text{mm detik}^{-1}$ ) pada interaksi antara jenis pupuk organik dan kerapatan sel CLas yang berbeda	71
Tabel 21.	Transpirasi daun jeruk ( $\text{mm detik}^{-1}$ ) pada interaksi antara kerapatan sel CLas, jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	71
Tabel 22.	Kandungan Fe total daun jeruk (ppm) pada interaksi antara penyungkupan tanaman dan kerapatan sel CLas yang berbeda	72
Tabel 23.	Kandungan Zn total daun jeruk (ppm) pada interaksi antara penyungkupan tanaman dan kerapatan sel CLas yang berbeda	73
Tabel 24.	Kandungan Fe dan Zn total pada daun jeruk (mm) setelah perlakuan dan enam bulan setelah perlakuan	73
Tabel 25.	Kandungan Fe total daun jeruk (ppm) enam bulan setelah perlakuan pada interaksi antara status infeksi patogen dan penyungkupan tanaman yang berbeda	75
Tabel 26.	Kandungan Fe total daun jeruk (ppm) enam bulan setelah perlakuan pada interaksi antara jenis jeruk dan penyungkupan tanaman yang berbeda	75

Tabel 27.	Kandungan Zn total daun jeruk (ppm) enam bulan setelah perlakuan pada interaksi antara status infeksi patogen dan penyungkupan tanaman yang berbeda	76
Tabel 28.	Pertumbuhan tunas baru (%) tanaman jeruk pada interaksi antara penyungkupan tanaman dan kerapatan sel CLas yang berbeda	79
Tabel 29.	Pertambahan diameter kanopi (cm) tanaman jeruk pada interaksi antara jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	81
Tabel 30.	Pertambahan diameter kanopi (cm) tanaman jeruk pada interaksi antara jenis pupuk organik dan kerapatan sel CLas yang berbeda	82
Tabel 31.	Pertambahan diameter kanopi (cm) pada interaksi antara jenis pupuk organik, penyungkupan tanaman dan kerapatan sel CLas yang berbeda	83
Tabel 32.	Pertambahan jumlah cabang tanaman jeruk pada interaksi antara jenis pupuk organik dan kerapatan sel CLas yang berbeda	83
Tabel 33.	Diameter batang bawah dan batang atas tanaman jeruk muda (mm) setelah perlakuan	84
Tabel 34.	Kompatibilitas batang atas dan bawah tanaman jeruk pada interaksi antara jenis pupuk organik dan kerapatan sel CLas yang berbeda	85
Tabel 35.	Berat basah dan berat kering akar, batang dan daun jeruk (g) setelah perlakuan dengan kerapatan sel CLas, jenis pupuk organik dan penyungkupan yang berbeda	86
Tabel 36.	Berat basah daun jeruk (g) pada interaksi antara jenis pupuk organik dan penyungkupan yang berbeda	87
Tabel 37.	Keberadaan bakteri <i>Candidatus</i> Liberibacter asiaticus (CLas) berdasarkan deteksi menggunakan metode PCR pada perlakuan pupuk hayati	91
Tabel 38.	Kerapatan sel <i>Candidatus</i> Liberibacter asiaticus (CLas) berdasarkan nilai batas ambang ( <i>cycle threshold</i> ) metode <i>real-time</i> PCR pada perlakuan pupuk hayati	92



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Intensitas penyakit HLB pada masing-masing kombinasi varietas batang atas/bawah 8 bulan dan 12 bulan setelah inokulasi	44
Gambar 2. Persentase ketidaksesuaian antara jumlah bakteri <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> (CLas) dengan kemunculan gejala penyakit HLB pada 8 bulan dan 12 bulan setelah inokulasi	47
Gambar 3. Hubungan kekerabatan bakteri endofit dari tulang daun jeruk berdasarkan urutan basa nitrogen gen 16S rRNA	50
Gambar 4. Kondisi pertumbuhan tanaman jeruk setelah perlakuan penyungkupan	56
Gambar 5. Kondisi suhu, kelembaban relatif dan intensitas penyinaran pada perlakuan penyungkupan dan tanpa penyungkupan.	57
Gambar 6. Intensitas penyakit HLB dengan kerapatan sel CLas, jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	58
Gambar 7. Intensitas penyakit HLB berdasarkan skoring gejala pada daun dan kanopi	59
Gambar 8. Nilai <i>Area Under Disease Progress Curve</i> (AUDPC) pada masing-masing perlakuan	60
Gambar 9. Kandungan prolin pada daun jeruk setelah perlakuan dengan kerapatan sel CLas, jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	64
Gambar 10. Kandungan prolin pada daun muda dan daun dewasa setelah perlakuan dengan status infeksi patogen, kulivar jeruk dan penyungkupan tanaman yang berbeda	65
Gambar 11. Kadar klorofil a, klorofil b, klorofil total dan rasio klorofil a/b pada daun jeruk dengan kerapatan sel CLas, jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	66
Gambar 12. Populasi bakteri endofit tulang daun jeruk pada daun muda dan daun dewasa setelah perlakuan	77
Gambar 13. Keragaman bakteri endofit pada daun muda (atas) dan daun dewasa (bawah) berdasarkan visualisasi hasil elektroforesis DNA rizobakteri dengan PCR-RISA pada masa perlakuan	78

Gambar 14.	Pertumbuhan tunas baru tanaman jeruk (%) setelah perlakuan dengan status infeksi patogen, kulivar jeruk dan penyungkupan tanaman yang berbeda	80
Gambar 15.	Tinggi tanaman jeruk pada kerapatan sel CLas, jenis pupuk organik dan penyungkupan tanaman yang berbeda	81
Gambar 16.	Perkembangan penyakit HLB pada tanaman perlakuan aplikasi pupuk hayati	88
Gambar 17.	Intensitas penyakit (%) berdasarkan skor gejala pada daun dan berdasarkan skor gejala pada kanopi	89
Gambar 18.	Nilai <i>Area Under Disease Progress Curve</i> (AUDPC) pada masing-masing perlakuan	90
Gambar 19.	Keragaman rizobakteri tanaman jeruk berdasarkan visualisasi hasil elektroforesis DNA rizobakteri dengan PCR-RISA dan dendogram indeks kemiripan koloni rizobakteri berdasarkan metode UPGMA	94
Gambar 20.	Keragaman bakteri pupuk hayati berdasarkan visualisasi hasil elektroforesis DNA bakteri dan dendogram indeks kemiripan koloni pupuk hayati dengan PCR-RISA berdasarkan metode UPGMA	95
Gambar 21.	Populasi struktural rizobakteri pada perlakuan aplikasi pupuk hayati	96
Gambar 22.	Keragaman rizobakteri berdasarkan visualisasi hasil elektroforesis DNA rizobakteri dengan PCR-RISA pada perlakuan pupuk hayati	97
Gambar 23.	Persentase pertumbuhan tunas baru tanaman jeruk pada perlakuan pupuk hayati	99
Gambar 24.	Tinggi tanaman pada perlakuan pupuk hayati	100
Gambar 25.	Diameter kanopi pada perlakuan pupuk hayati	101
Gambar 26.	Volume kanopi pada perlakuan pupuk hayati	101

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Komposisi pupuk hayati cair	140
Lampiran 2. Kondisi tanaman jeruk setelah perlakuan selama 1 bulan dan 1 bulan setelah perlakuan dan kondisi akar tanaman 1 bulan setelah perlakuan	141
Lampiran 3. Kondisi tanaman jeruk tanpa penyungkupan	142