

ISOLASI DAN PURIFIKASI BAKTERIOFAG SEBAGAI AGEN PENGENDALIAN HAYATI BUSUK HITAM PADA TANAMAN BROKOLI (*Brassica oleracea* var. *italica*)*Isolation and Purification of Bacteriophage as a Biological Control Agent for Black Rot in Broccoli Plants (*Brassica oleracea* var. *italica*)***Fransiska Mallisa¹ dan Yoga Aji Handoko^{2*}**^{1,2}*Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana
Jl.Diponegoro No.52-60, Kota Salatiga, 50711, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia*^{2*)}*yoga.handoko@uksw.edu***ABSTRAK**

Penyakit busuk hitam (*black rot*) yang disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) merupakan salah satu kendala utama dalam produksi brokoli. Keterbatasan efektivitas pestisida kimia serta risiko munculnya resistensi bakteri mendorong perlunya pengembangan agen pengendalian hayati, salah satunya bakteriofag. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan memurnikan bakteriofag yang memiliki kemampuan litik terhadap Xcc dari sampel tanah di lahan brokoli bergejala busuk hitam di Dusun Pasengan Ngisor, Desa Tejosari, Kecamatan Ngablak, Kabupaten Magelang. Proses isolasi dilakukan menggunakan metode *plaque assay* pada media nutrient agar. Tahap purifikasi dilakukan dengan infeksi ulang. Penelitian menunjukkan bahwa dari hasil isolasi ditemukan bakteriofag yang mampu melisis sel bakteri Xcc dan hasil purifikasi mengindikasikan kestabilan dan konsistensi aktivitas litik bakteriofag terhadap Xcc. Temuan ini menunjukkan bahwa bakteriofag Xcc berpotensi sebagai agen biokontrol penyakit busuk hitam.

Kata kunci: bakteriofag, isolasi, purifikasi, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *plaque assay*, busuk hitam, biokontrol

ABSTRACT

Black rot disease is caused by Xanthomonas campestris pv. *campestris* (Xcc) is one of the main obstacles in broccoli production. The limited effectiveness of chemical pesticides and the risk of bacterial resistance have prompted the need to develop biological control agents, one of which is bacteriophages. This study aims to isolate and purify bacteriophages that have lytic ability against Xcc from soil samples in broccoli fields with black rot symptoms in Pasengan Ngisor, Tejosari village, Ngablak Sub-district, Magelang District, Central Java. The isolation process was carried out using the plaque assay method on nutrient agar media. The purification stage was carried out by re-infection. The study showed that the isolation results found bacteriophages capable of lysing Xcc bacterial cells, and the purification results indicated the stability and consistency of the bacteriophage's lytic activity against Xcc. These findings indicate that Xcc bacteriophages have the potential to be used as a biocontrol agent for black rot disease.

Keywords: bacteriophage, isolation, purification, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *plaque assay*, black rot, biocontrol

PENDAHULUAN

Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) merupakan tanaman hortikultura penting dari famili *Brassicaceae* dengan kandungan gizi tinggi serta senyawa bioaktif seperti glukosinolat dan isotiosianat yang bersifat antibakteri dan antikanker (Syed *et al.*, 2023; Kaiser *et al.*, 2021). Namun, produksi brokoli mengalami penurunan baik secara nasional maupun

daerah, dipengaruhi oleh tingginya biaya produksi, terutama benih dan pupuk, serta adanya tekanan tenaga kerja yang menyebabkan menurunnya produktivitas tanaman (Mujabi, 2023; Rachman, 2020; Kusumawardani *et al.*, 2023). Faktor penting lainnya yang turut menurunkan hasil panen brokoli secara signifikan adalah penyakit busuk hitam (*black rot*) yang disebabkan oleh *Xanthomonas campestris*

pv. *campestris* (Xcc) (McKeen, 1981). Patogen ini menginfeksi tanaman secara sistemik dan menimbulkan gejala khas berupa lesi kuning berbentuk V dan penghitaman pembuluh daun (Greer *et al.*, 2023).

Terdapat beberapa penendalian yang telah dikembangkan untuk menekan penyakit busuk hitam seperti pengendalian kimia dengan perlakuan perendaman benih menggunakan slurry kalsium hipoklorit dengan konsentrasi 10-20 g/kg, terbukti efektif menurunkan populasi *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) (Schultz *et al.*, 1986). Namun, seiring berjalannya waktu, penggunaan bahan kimia secara intensif berpotensi menimbulkan dampak lingkungan, resistensi bakteri, serta gangguan terhadap mikroorganisme non patogen (Holtappels *et al.*, 2022). Oleh karena itu, dikembangkan pendekatan alternatif, baik secara fisik maupun biologis. Pengendalian fisik menggunakan nanopartikel Gly-Cu(OH)₂ pada konsentrasi 800 mg/L dengan diameter rata-rata 240 nm mampu meningkatkan resistensi terhadap Xcc pada kubis Cina (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*) dan menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan aplikasi Kocide 400-800 mg/L (Dong *et al.*, 2020). Sementara itu, pengendalian biologis melalui aplikasi biofertilizer dan produk berbasis susu, seperti *raw milk* dan *whey*, terbukti mampu menurunkan tingkat

keparahan penyakit busuk hitam sebesar 44-56% pada kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) (Nuñez *et al.*, 2018).

Seiring berkembangnya kebutuhan akan alternatif yang lebih efektif dan ramah lingkungan, bakteriofag mulai dikaji sebagai agen pengendalian hayati karena kemampuannya melisis bakteri secara spesifik tanpa menimbulkan dampak lingkungan, resistensi bakteri, dan gangguan mikroorganisme non-patogen. Berbagai penelitian menunjukkan potensi bakteriofag dalam menekan infeksi Xcc pada tanaman *Brassica* seperti bakteriofag litik pada tanaman kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) yang mampu mengurangi proliferasi Xcc yaitu terjadinya perubahan struktur biofilm serta memicu metabolisme pertahanan tanaman. Selain itu, penggunaan koktail fag secara preventif efektif mengurangi gejala busuk hitam (Papaianni *et al.*, 2020; Holtappels *et al.*, 2022). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan memurnikan bakteriofag yang efektif melisis *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) dari lahan tanaman brokoli yang berpotensi dalam pengendalian penyakit busuk hitam.

METODOLOGI PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Pengambilan sampel tanah dari lahan brokoli yang terindikasi terserang penyakit busuk hitam dilakukan di Dusun

Pasengan Ngisor, Desa Tejosari, Kecamatan Ngablak, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah dengan titik koordinat geografis - 7.417401, 110.3870. Tahapan isolasi dan purifikasi bakteriofag dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Kristen Satya Wacana (UKSW), Salatiga. Penelitian dilaksanakan pada Agustus-November 2025.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan meliputi: isolat bakteri Xcc dari InaCC (*Indonesian Culture Collection*), sampel tanah dari lahan sekitar tanaman brokoli (*rhizosfer*) yang menunjukkan gejala penyakit busuk hitam, air, akuades, alkohol 95% (Medika), *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth* (Himedia), plastik *polybag* hitam (TANDURI), agar (Swallow Globe Brand), membran filter 0,22 μ m, *microtube*, larutan HCl, larutan NaOH, *yellow tip* dan *blue tip* (Axygen), kuvet, *yeast extract* (Merck Millipore), larutan NaCl₂ 200 mM (Himedia), larutan MgSO₄ 10 mM (Emsure), minyak imersi, serta Tris-HCl 50 mM (Omnipur).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi: inkubator merek Memmert, *hotplate* tipe Cimarec 2, labu Erlenmeyer 50, 100, 250, dan 500 mL (Pyrex), rak tabung reaksi lokal, gelas beaker (Iwaki), cawan petri lokal, gelas ukur (Pyrex), timbangan analitik (Mettler PM600), refrigerator (Aqua), sentrifuge seri

PLC, *shaker* tipe FinePCR SH30 Orbital *Shaker*, *micropipet* (DragonLab), tabung *falcon* lokal, serta botol kaca berwarna hitam dan putih (lokal).

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan kualitatif eksploratif mulai dari isolasi hingga purifikasi dengan tujuan memperoleh bakteriofag yang mampu melisis secara konsisten bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc). Sampel tanah diambil menggunakan metode transek empat arah mata angin dari titik pusat lahan (Hidayat *et al.*, 2017), dengan kedalaman 1–5 cm pada zona perakaran.

Tahapan Penelitian

Tahapan pertama diawali dengan pengamatan morfologi tanaman brokoli sehat dan brokoli yang bergejala busuk hitam melalui observasi visual pada lahan brokoli. Selanjutnya pengamatan morfologi sel *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) dengan metode pewarnaan gram.

Tahap kedua merupakan pengambilan sampel sebanyak 25 g sampel tanah dari *rhizosfer* tanaman brokoli dan dimasukkan ke dalam campuran *SM buffer* dan *Nutrient Broth* (masing-masing 50 mL). Sampel kemudian ditambahkan 2 mL kultur semalam bakteri Xcc sebagai inang untuk memperkaya keberadaan bakteriofag (*metode enrichment*). Sampel kemudian diinkubasi dengan menggunakan orbital

shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 3 jam.

Tahap ketiga adalah isolasi bakteriofag yang mengacu pada Papaiani *et al.* (2020). Suspensi hasil inkubasi disentrifugasi secara bertahap hingga diperoleh supernatan, kemudian disaring menggunakan membran 0,22 μm untuk mendapatkan lisat (kandidat bakteriofag) yang bebas bakteri. Lisat selanjutnya diuji menggunakan teknik *double layer agar*, yaitu dengan mencampurkan 150 μL kultur Xcc dan 100 μL lisat ke dalam 5 mL *soft agar*, kemudian sampel dituang di atas media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Keberhasilan isolasi bakteriofag Xcc diindikasikan dengan terbentuknya *plaque* (zona bening atau zona lisis) diantara pertumbuhan sel bakteri Xcc pada permukaan agar.

Tahap keempat merupakan purifikasi bakteriofag Xcc yang dilakukan sebanyak tiga kali mengacu pada Choliq *et al.* (2020) untuk memperoleh *plaque* yang seragam dan menunjukkan kemurnian bakteriofag. *Plaque* hasil isolasi diambil menggunakan ujung tip steril yang telah dipotong, kemudian disuspensikan ke dalam 1.000 μL *Nutrient Broth* (NB) steril dan dihancurkan hingga homogen. Suspensi tersebut difiltrasi menggunakan *syringe filter* berpori 0,22 μm untuk memperoleh lisat bakteriofag bebas bakteri.

Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga seri 10^{-7} dengan memasukkan 100 μL lisat ke *microtube* 1 berisi 900 μL NB steril lalu dihomogenkan dan diambil sebanyak 100 μL untuk dipindahkan ke *microtube* ke 2, kemudian dilakukan pengenceran hingga seri 10^{-7} . Pada pengenceran 10^{-7} , sebanyak 100 μL larutan diambil dan dibuang untuk menyamakan volume akhir pada setiap *microtube*. Masing-masing hasil pengenceran ditambahkan 100 μL kultur Xcc dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, kemudian campuran ditambahkan dengan 5 mL *soft agar*, dihomogenkan, dan dituangkan ke atas media NA. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama semalam atau 24 jam, kemudian *plaque* diamati untuk menentukan tingkat kemurnian serta konsistensi kemunculan *plaque* cenderung sama pada setiap pengenceran.

Teknik Pengumpulan Data

Data diperoleh melalui pengamatan secara visual, yang meliputi: morfologi tanaman brokoli, morfologi sel Xcc, *plaque/* zona lisis pada media agar sebagai indikator keberhasilan isolasi dan purifikasi bakteriofag.

Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasikan dalam bentuk foto. Data kemudian diolah dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Brokoli Bergejala Busuk Hitam

Hasil pengamatan di lapangan untuk tanaman brokoli sehat dan yang bergejala busuk hitam (*black rot*) ditampilkan pada Gambar 1.



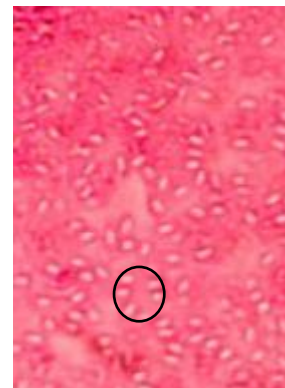
Gambar 1. Tanaman brokoli sehat (A) dan tanaman brokoli yang terserang bakteri Xcc (B)

Menurut Sahetapy (2015); Trihaditia *et al.* (2021); Sitompul dan Barunawati (2024), tanaman brokoli sehat dicirikan dengan daun berwarna hijau seragam, jaringan yang tidak mengalami kerusakan, serta pertumbuhan yang normal (Gambar 1A). Sedangkan, menurut Lumoly *et al.*, (2016), tanaman yang terserang busuk hitam ditandai dengan tampak lesi berbentuk “V” yang muncul dari tepi daun, disertai klorosis yang meluas ke arah tulang daun serta penggelapan pada jaringan pembuluh (Gambar 1B). Kondisi dari tanaman brokoli tidak sehat tersebut memiliki potensi menurunkan hasil panen brokoli secara signifikan. Gejala tersebut sejalan dengan hasil penelitian Greer *et al.*, (2023) yang menjelaskan bahwa infeksi

Xcc menyebabkan kolonisasi pada jaringan vascular, sehingga memicu nekrosis dan perubahan warna. Perbedaan ini mengindikasikan bahwa tanah di sekitar tanaman bergejala berpotensi mengandung bakteriofag yang secara alami berinteraksi dengan Xcc.

Morfologi Sel Bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc)

Morfologi bakteri Xcc dicirikan dengan dengan sel yang berbentuk batang pendek (*short, straight-rod*), motil dengan satu flagel polar tunggal (Yang *et al.*, 2009; Qi *et al.*, 2020). Hasil pengamatan sel bakteri Xcc pada perbesaran 1000x ditampilkan Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri Xcc pada mikroskop dengan perbesaran 1000x

Xanthomonas campestris pv. *campestris* (Xcc) merupakan bakteri gram negatif yang menyerang tanaman dari famili *Brassicaceae* termasuk brokoli dan menyebabkan penyakit busuk hitam (*black rot*). Pewarnaan gram memperlihatkan sel-sel berwarna merah muda (safranin), mengonfirmasi sifat gram negatif pada Xcc (Nawangsih dan Giyanto, 2023). Secara

struktural, sel bakteri Xcc memiliki dinding sel yang tersusun atas lapisan peptidoglikan tipis dan terletak di ruang periplasma, diapit oleh dua lapisan membran, yaitu membran sitoplasma (*inner membrane*) dan membran luar (*outer membrane*). Peptidoglikan tersebut tersusun atas rantai polisakarida yang berikatan silang dengan peptida, sehingga berfungsi menjaga bentuk sel dan memberikan ketahanan mekanik pada bakteri (Lu *et al.*, 2011; Silhavy *et al.*, 2010).

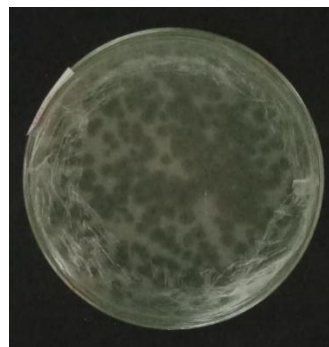
Membran sel Xcc tersusun atas fosfolipid bilayer yang kompleks. Membran menunjukkan bahwa membran Xcc didominasi oleh fosfolipid bakteri tipikal, yaitu fosfatidiletanolamin (PE) sekitar $\pm 50\%$, kardioplin (CL) $\pm 33\%$, dan fosfatidilgliserol (PG) $\pm 13\%$, serta sejumlah kecil monomethyl-PE (MMPE) (Aktas & Narberhaus, 2015). Selain itu, Xcc mampu mensintesis fosfatidilkolin (PC) dalam jumlah kecil ketika ditumbuhkan pada medium kompleks, suatu karakter yang relatif jarang ditemukan pada bakteri gram negatif (Moser *et al.*, 2014a; Moser *et al.*, 2014b).

Keberadaan membran luar pada Xcc mengandung lipopolisakarida (LSP) yang berperan penting dalam perlindungan sel, interaksi dengan inang, serta berkontribusi terhadap virulensi dan ketahanan terhadap stres lingkungan. Kompleksitas komposisi lipid membran ini menunjukkan bahwa Xcc

tidak hanya memiliki ciri khas morfologi gram negatif secara umum, tetapi menunjukkan strategi biosintesis membran yang unik dan adaptif, yang mendukung kelangsungan hidup serta patogenesinya pada jaringan tanaman inang (Aktas & Narberhaus, 2015).

Isolasi Bakteriofag

Hasil isolasi bakteriofag Xcc dari lahan tanaman brokoli dengan indikasi gejala busuk hitam ditampilkan Gambar 3.



Gambar 3. Hasil isolasi bakteriofag *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Tahap awal dalam memperoleh bakteriofag yang spesifik terhadap *Xanthomonas campestris* yaitu tahapan isolasi. Indikator keberhasilannya ditandai dengan terbentuknya *plaque* atau zona lisis sebagai indikasi keberadaan bakteriofag yang berbentuk bulat di sekitar inokulasi yang menandakan bahwa bakteriofag mampu menginfeksi dan melisis sel-sel Xcc pada permukaan media agar yang semula telah ditumbuhi *lawn* bakteri inang. Gambar 3. menunjukkan hasil isolasi bakteriofag dari sampel tanah di lahan brokoli daerah Dusun Pasengan Ngisor,

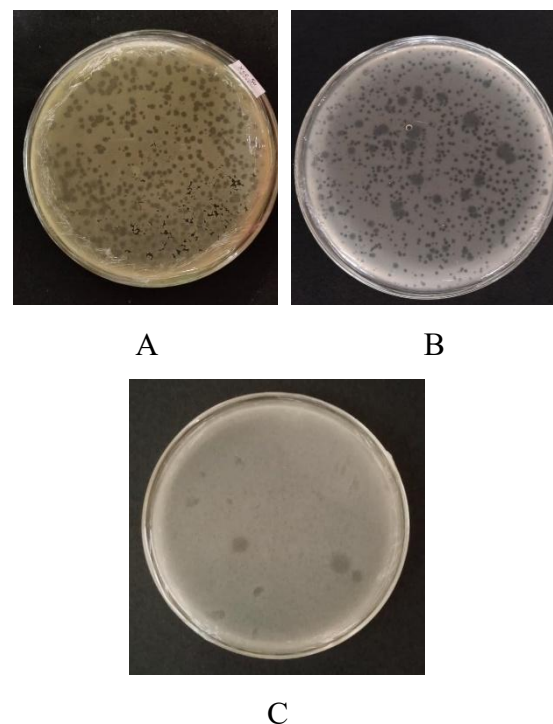
Desa Tejosari, Kecamatan Ngablak. *Plaque* yang terbentuk cukup banyak karena sampel diambil pagi hari sebelum matahari terbit. Pengambilan sampel pagi hari memberikan peluang untuk mendapatkan *plaque* positif. Hal ini selaras dengan hasil penelitian Wommack *et al.*, (1996) yang menyatakan bahwa sinar matahari yang kuat akan memengaruhi viabilitas bakteriofag di permukaan perairan maupun tanah.

Bakteriofag dimanfaatkan dalam menghancurkan atau membunuh bakteri patogen dan juga tidak berbahaya bagi sel inang (Wittebole *et al.*, 2014). Siklus hidup bakteriofag terbagi menjadi dua jenis utama, yaitu siklus litik dan siklus lisogenik. Pada siklus litik, bakteriofag melisis sel bakteri Xcc. Siklus litik bakteriofag diawali dengan mengenali dan menempel secara spesifik pada reseptor di permukaan bakteri inang, kemudian menyuntikkan materi genetiknya ke dalam sel. Di dalam sel inang, DNA bakteriofag mengalami replikasi dan digunakan untuk mensintesis komponen-komponen bakteriofag baru dengan memanfaatkan enzim serta sumber daya seluler inang. Setelah partikel bakteriofag baru terbentuk melalui proses perakitan, enzim seperti holin dan endolisin yang dikodekan oleh bakteriofag akan melisis dinding sel bakteri dari dalam. Holin berfungsi membuat pori pada membran inang,

memungkinkan endolisin untuk menghancurkan peptidoglikan dinding sel, sehingga bakteriofag keturunan dapat dilepaskan. Siklus ini menghasilkan lisis sel inang dan penyebaran bakteriofag ke lingkungan untuk menginfeksi bakteri lain (Doss *et al.*, 2017).

Purifikasi Bakteriofag

Hasil purifikasi atau pemurnian bakteriofag ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil purifikasi pertama (A), kedua (B), ketiga (C).

Tahapan purifikasi merupakan tahapan pemurnian bakteriofag yang telah diisolasi. Pemurnian dilakukan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan bakteriofag murni dan tunggal (*single fag*) yang mampu menginfeksi serta melisis sel-sel Xcc dengan efektif. Keberhasilan purifikasi dinyatakan dengan terbentuk *plaque/ zona*

bening pada cawan petri yang berisi bakteri inang. Pada gambar 4(A) merupakan hasil purifikasi pertama yang memiliki ukuran *plaque* yang cenderung seragam. Gambar 4(B) yang merupakan hasil purifikasi kedua menunjukkan hasil *plaque* yang berbeda. Terdapat *plaque* yang ukurannya lebih kecil dan terdapat ukuran *plaque* yang besar. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada tahap purifikasi kedua diduga masih terdapat keberagaman morfologi bakteriofag dengan terbentuk *plaque* yang berbeda, sehingga isolat belum sepenuhnya murni dan masih terdiri dari lebih dari satu tipe/ varian bakteriofag. Menurut Hardanti *et al.*, (2018), perbedaan ukuran *plaque* yang terbentuk dipengaruhi oleh morfologi virion bakteriofag dan waktu lisis yang optimal. Tahapan purifikasi ke 3 pada gambar 4(C) menunjukkan *plaque* dengan bulatan besar yang lebih seragam yang berarti bahwa bakteriofag yang didapatkan adalah bakteriofag murni. Lebih lanjut Hardanti *et al.*, (2018) melaporkan bahwa *plaque* terbesar akan terbentuk saat bakteriofag memiliki waktu lisis yang sedang/ optimal. Hasil purifikasi ini dapat menjadi indikator potensi bakteriofag terhadap pengendalian penyakit busuk hitam.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Sampel tanah dari lahan brokoli di Dusun Pasengan Ngisor, Desa Tejosari, Kecamatan Ngablak, Kabupaten Magelang

ditemukan bakteriofag. Bakteriofag tersebut berhasil diisolasi yang ditandai dengan *plaque* sebagai indikator kemampuan aktivitas litiknya terhadap bakteri Xcc. Tahapan purifikasi menunjukkan morfologi *plaque* yang lebih seragam serta mempertahankan aktivitas litik, sehingga mengindikasikan kemurnian serta spesifitas bakteriofag terhadap bakteri Xcc.

Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan propagasi, *MoI (multiple of infection)*, *burst size experiment*, pengujian stabilitas terhadap faktor lingkungan, identifikasi morfologi, *whole genome sequence*, uji kisaran inang, serta uji efektivitas bakteriofag Xcc secara *in vivo* pada tanaman brokoli di lapangan guna mengetahui potensi aplikatifnya dalam kondisi lingkungan yang lebih kompleks.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Kristen Satya Wacana atas hibah pendanaan penelitian dengan nomor: 188/SPK-RBDMS/RIK/8/2025 tanggal 26 Agustus 2025. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Ibu Wamilia Yulianingsih selaku Staf Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Kristen Satya Wacana yang telah memfasilitasi dan mendukung penulis selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aktas, M., & Narberhaus, F. (2015). Unconventional membrane lipid biosynthesis in *Xanthomonas campestris*. *Environmental Microbiology*, 17(9), 3116–3124. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12956>.
- Cholih, F. A., Martosudiro, M., Istiqomah, I., & Nijami, M. F. (2020). Isolasi dan uji kemampuan bakteriofag sebagai agens pengendali penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tanaman tomat. *VIABEL: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian*, 14(1), 8–20. DOI: <https://doi.org/10.35457/viabel.v14i1.996>
- Dong, H., Xiong, R., Liang, Y., Tang, G., Yang, J., Tang, J., Niu, J., Gao, Y., Zhou, Z., & Cao, Y. (2020). Development of glycine-copper (ii) hydroxide nanoparticles with improved biosafety for sustainable plant disease management. *RSC advances*, 10(36), 21222–21227. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0RA02050H>.
- Doss, J., Culbertson, K., Hahn, D., Camacho, J., & Barekzi, N. (2017). A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms. *Viruses*, 9(3), 50. DOI: <https://doi.org/10.3390/v9030050>.
- Greer, S. F., Surendran, A., Grant, M., & Lillywhite, R. (2023). The current status, challenges, and future perspectives for managing diseases of brassicas. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1209258. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1209258>.
- Hardanti, S., Wardani, A. K., & Rukmi, W. D. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteriofag spesifik *Salmonella typhi* dari kulit ayam. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 19(2), 107–116. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2018.019.02.5>.
- Hidayat, Muslich., Laiyanah., Nanda, S., Yenni, A. P., & Nurul, M. (2017). Analisis vegetasi tumbuhan menggunakan metode transek garis (*Line Transek*) di Hutan Seulawah Agam Desa Pulo Kemukiman Lamteuba Kabupaten Aceh Besar. *Prosiding Seminar Nasional Biotik* 5(1): 85–91. DOI: <https://doi.org/10.22373/pbio.v5i1.2198>.
- Holtappels, D., Fortuna, K. J., Moons, L., Broeckaert, N., Bäcker, L. E., Venneman, S., Rombouts, S., Lippens, L., Baeyen, S., Pollet, S., Noben, J. P., Oechslin, F., Vallino, M., Aertsen, A., Maes, M., van Vaerenbergh, J., Lavigne, R., & Wagemans, J. (2022). The potential of bacteriophages to control *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* at different stages of disease development. *Microbial Biotechnology*, 15(6), 1762–1782. DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14004>.
- Kaiser, A. E., Baniasadi, M., Giansiracusa, D., Giansiracusa, M., Garcia, M., Fryda, Z., Wong, T. L., & Bishayee, A. (2021). Sulforaphane: A broccoli bioactive phytochemical with cancer preventive potential. *Cancers*, 13(19), 4796. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13194796>
- Kusumawardani, N., Tarore, D., & Sofwani, A. (2023). Struktur biaya dan pendapatan usahatani brokoli. *Jurnal Green House*, 2(1), 6–13. DOI: <https://doi.org/10.63296/jgh.v2i1.24>.
- Lu, Y. H., Guan, Z., Zhao, J., & Raetz, C. R. (2011). Three phosphatidylglycerol-phosphate phosphatases in the inner membrane of *Escherichia coli*. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(7), 5506–5518. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.199265>.
- Lumoly, F. S., Senewe, E., & Manengkey, G. S. (2016). Insidensi penyakit busuk hitam pada tanaman brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) di Tomohon. *Cocos* 7(4). DOI: <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/cocos/article/view/12868>
- McKeen, W. E. (1981). Black rot of rutabaga in Ontario and its control. *Canadian*

- Journal of Plant Pathology*, 3(4), 244-246. DOI: <https://doi.org/10.1080/07060668109501358>.
- Moser, R., Aktas, M., & Narberhaus, F. (2014)a. Phosphatidylcholine biosynthesis in *Xanthomonas campestris* via a yeast-like acylation pathway. *Molecular Microbiology*, 91(4), 736–750. DOI: <https://doi.org/10.1111/mmi.12492>.
- Moser, R., Aktas, M., Fritz, C., & Narberhaus, F. (2014)b. Discovery of a bifunctional cardiolipin/phosphatidylethanolamine synthase in bacteria. *Molecular Microbiology*, 92(5), 959–972. DOI: <https://doi.org/10.1111/mmi.12603>.
- Mujabi, G. T. (2023). *Pertumbuhan dan Hasil Brokoli (Brassica oleracea L.) pada Berbagai Konsentrasi Pupuk Organik Cair*. [Skripsi], Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta, Yogyakarta. <http://eprints.upnyk.ac.id/34497/2/COVER.pdf>.
- Nawangsih, A. A., & Giyanto. (2023). Keanekaragaman Karakter Galur-Galur Bakteri Penyebab Busuk Hitam (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) pada Kubis terhadap Campuran Bahan Aktif Azoksistrobin dan Difenokonazol. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 19(2), 45–56. DOI: 10.14692/jfi.19.2.45-56.
- Núñez, A. M., Rodríguez, G. A., Monteiro, F. P., Faria, A. F., Silva, J. C., Monteiro, A. C. A., Carvalho, C. V., Gomes, L. A. A., Souza, R. M., de Souza, J. T., & Medeiros, F. H. V. (2018). Bio-based products control black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) and increase the nutraceutical and antioxidant components in kale. *Scientific Reports*, 8(1), 10199. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28086-6>.
- Papaïanni, M., Paris, D., Woo, S. L., Fulgione, A., Rigano, M. M., Parrilli, E., Tutino, M. L., Marra, R., Manganiello, G., Casillo, A., Limone, A., Zoina, A., Motta, A., Lorito, M., & Capparelli, R. (2020). Plant dynamic metabolic response to bacteriophage treatment after *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Infection. *Front. Microbiol.* 11:732. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00732>.
- Qi, Y. H., Huang, L., Liu, G. F., Leng, M., & Lu, G. T. (2020). PilG and PilH antagonistically control flagellum-dependent and pili-dependent motility in the phytopathogen *Xanthomonas campestris* *campestris*. *BMC Microbiology*, 20(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1712-3>.
- Rachman, Y. Y. N. (2020). *Analisis efisiensi Pemasaran Brokoli di Desa Sidomukti, Kecamatan Getasan, Kabupaten Semarang*. [Skripsi], Universitas Diponegoro, Semarang. https://eprints.undip.ac.id/82226/1/COVER_SAMPAI_DAFTAR_LAMPIRAN_YUDHA_YANA_NOER_RACHMAN_23040116140043.pdf.
- Sahetapy, M. (2015). Induksi Kalus Hipokotil Brokoli pada Media MS yang Diberi 2, 4-D. *JIU (Jurnal Ilmiah Unklab)*, 19(1), 1–11. <https://ejournal.unklab.ac.id/index.php/jiu/article/view/260>.
- Schultz, T., Gabrielson, R. L., & Olson, S. (1986). Control of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in crucifer seed with slurry treatments of calcium hypochlorite. *Plant Dis.* 70, 1027–1030. DOI: 10.1094/PD-70-1027.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>.
- Sitompul, P. P., & Barunawati, N. (2024). Respon pertumbuhan brokoli (*Brassica oleracea* L.) varietas green magic terhadap pemberian berbagai sumber N dan dosis pupuk organik. *Jurnal Produksi Tanaman*, 2(10), 492–500. DOI: <https://doi.org/10.21776/>.
- Syed, R. U., Moni, S. S., Break, M. K. B., Khojali, W. M., Jafar, M., Alshammari, M. D., Abdelsalam, K., Taymour, S.,

- Alreshidi, K. S. M., Elhassan Taha, M. M., & Mohan, S. (2023). Broccoli: A multi-faceted vegetable for health: An in-depth review of its nutritional attributes, antimicrobial abilities, and anti-inflammatory properties. *Antibiotics*, 12(7), 1157. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071157>.
- Trihaditia, R., Sari, W., & Adha, M. H. (2021). Pengaruh beberapa media tanam terhadap pertumbuhan microgreens brokoli (*Brassica oleracea* L.) dan kubis merah (*Brassica oleracea* var *capitata* L.). *Jurnal Pro-STek*, 3(1), 11–16. doi: <https://doi.org/10.35194/prs.v3i1.1493>.
- Wittebole, X., De Roock, S., & Opal, S. M. (2014). A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*, 5(1), 226–235. DOI: <https://doi.org/10.4161/viru.25991>.
- Wommack, K. E., Hill, R. T., Muller, T. A., & Colwell, R. R. (1996). Effects of sunlight on bacteriophage viability and structure. *Applied and environmental microbiology*, 62(4), 1336–1341. <https://doi.org/10.1128/aem.62.4.1336-1341.1996>.
- Yang, T. C., Leu, Y. W., Chang-Chien, H. C., & Hu, R. M. (2009). Flagellar biogenesis of *Xanthomonas campestris* requires the alternative sigma factors RpoN2 and FliA and is temporally regulated by FlhA, FlhB, and FlgM. *Journal of Bacteriology*, 191(7), 2266–2275. <https://doi.org/10.1128/JB.01152-08>.