

**PENGARUH APLIKASI *PLANT GROWTH PROMOTING
RHIZOBACTERIA* (PGPR) DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT
REBAH KECAMBAH YANG DISEBABKAN OLEH JAMUR *Sclerotium
rolfsii* PADA KEDELAI**

SKRIPSI

Oleh :

**MARIANA SOFIANI
MINAT HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**PENGARUH APLIKASI *PLANT GROWTH PROMOTING
RHIZOBACTERIA* (PGPR) DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT
REBAH KECAMBAH YANG DISEBABKAN OLEH JAMUR *Sclerotium
rolfsii* PADA KEDELAI**

Oleh :
MARIANA SOFIANI

**MINAT HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**PENGARUH APLIKASI *PLANT GROWTH PROMOTING
RHIZOBACTERIA* (PGPR) DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT
REBAH KECAMBAH YANG DISEBABKAN OLEH JAMUR *Sclerotium
rolfsii* PADA KEDELAI**

Oleh :
MARIANA SOFIANI
125040209111004

**MINAT HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana
Pertanian Strata Satu (S-1)**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**PENGARUH APLIKASI *PLANT GROWTH PROMOTING
RHIZOBACTERIA* (PGPR) DALAM MENGHAMBAT PENYAKIT
REBAH KECAMBAH YANG DISEBABKAN OLEH JAMUR *Sclerotium
rolfsii* PADA KEDELAI**

Oleh :
MARIANA SOFIANI
125040209111004

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saaya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Maret 2015

Mariana Sofiani



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Pengaruh Aplikasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*
(PGPR) Dalam Menghambat Penyakit Rebah Kecambah
Yang Disebabkan Oleh Jamur *Sclerotium rolfsii* Pada Kedelai

Nama Mahasiswa : Mariana Sofiani
NIM : 125040209111004
Jurusan : Hama Penyakit Tanaman
Program Studi : Agroekoteknologi
Laboratorium : Mikologi
Menyetujui : Dosen Pembimbing

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS
NIP. 19550522 198103 1 006

Luqman Qurata Aini, SP. M.Si, Ph.D
NIP.19720919 199802 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU
IP. 195504031983031003

Tanggal persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS
NIP. 19521028 197903 1 003

Penguji II

Fery Abdul Choliq, SP. M.Sc
NIK.86052304310020

Penguji III

Luqman Qurata Aini, SP. M.Si, Ph.D
NIP.19720919 199802 1 001

Penguji IV

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS
NIP. 19550522 198103 1 006

Tanggal persetujuan :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Skripsi ini kupersembahkan untuk
Kedua orang tua tercinta dan Adikku
tersayang

RINGKASAN

MARIANA SOFIANI. 125040209111004. Pengaruh Aplikasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) Dalam Menghambat Penyakit Rebah Kecambah yang Disebabkan oleh Jamur *Sclerotium rolfii* pada Kedelai. Di bawah bimbingan Syamsuddin Djauhari sebagai Pembimbing Utama dan Luqman Qurata Aini sebagai Pembimbing Pendamping.

Kedelai adalah salah satu komoditas pangan yang sangat penting di Indonesia. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2014, produksi kedelai sepanjang 2014 sebesar 921.336 ton atau produktifitasnya sebesar 15,06 kuintal/ha. Target produktifitas benih kedelai nasional sebesar 16,00 kuintal/ha sehingga Indonesia harus mengimpor kebutuhan dalam negeri. Salah satu kendala yang mempengaruhi produksi kedelai adalah gangguan penyakit. Penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfii* merupakan penyakit penting tanaman kedelai, terutama pada musim hujan atau pada lahan yang drainasenya buruk. Infeksi *S. rolfii* pada kedelai biasanya mulai terjadi di awal pertumbuhan tanaman dengan gejala busuk kecambah atau rebah kecambah. Pada tanaman kedelai berumur lebih dari 2-3 minggu, gejalanya berupa busuk pada pangkal batang dan layu pada bagian yang terinfeksi, terlihat bercak berwarna coklat pucat dan di bagian tersebut tumbuh miselia jamur berwarna putih. Pengendalian menggunakan fungisida memang efektif tetapi untuk menghindari dampak negatifnya diperlukan cara pengendalian lain yang ramah lingkungan. Teknologi yang memungkinkan untuk dikembangkan dan relatif aman adalah pemanfaatan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Bakteri *Bacillus* dan *Pseudomonas* sebagai kelompok PGPR yang merupakan genus paling banyak diteliti dan berpotensi tinggi sebagai agens pengendali penyakit tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi PGPR dalam menghambat penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh jamur *S. rolfii* pada kedelai.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2014 sampai Februari 2015 dan bertempat di laboratorium mikologi dan *screen house* Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian *in vitro* ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak empat kali ulangan. Penelitian *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali ulangan. Variabel pengamatan yang dilakukan secara *in vitro* adalah pengukuran daya hambat. Variabel pengamatan yang dilakukan secara *in vivo* adalah persentase perkecambahan benih kedelai, persentase kejadian penyakit rebah kecambah dan efikasi bakteri antagonis.

Perlakuan PGPR memberikan pengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan jamur *S. rolfii* secara *in vitro*. Tingkat persentase daya hambat tertinggi ditunjukkan Perlakuan E sebesar 90,55%. Penghambatan pertumbuhan jamur *S. rolfii* disebabkan oleh pertumbuhan hifa yang abnormal. Perlakuan PGPR memberikan pengaruh terhadap peningkatan perkecambahan benih kedelai yang diperoleh perlakuan C dengan nilai 93,33% pada 7 HST. Perlakuan yang mendapatkan nilai rerata kejadian penyakit terkecil didapatkan pada perlakuan E sebesar 5,33% dan nilai penekanan penyakit sebesar 93,34%.

SUMMARY

MARIANA SOFIANI. 125040209111004. Application Effect of *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) In Damping Sprouts Inhibits Disease Caused by the fungus *Sclerotium rolfsii* on soybean. Under the guidance of Shamsuddin Djauhari as Main Supervisor and Luqman Qurata Aini as Supervising Companion.

Soybean is one of the most important food commodities in Indonesia. Based on data from the Central Statistics Agency (BPS) in 2014, soybean production in 2014 amounted to 921.336 tons or productivity of 15.06 quintals / ha. Unfortunately national target soybean seed productivity were 16.00 quintals/ha so that Indonesia must import for domestic demand. One of the obstacles that affect soybean production is a disease. Damping-off disease caused by *Sclerotium rolfsii* is an important disease of soybean plants, especially during in rainy season or in poorly drained field. Infection *S. rolfsii* on soybean usually begin to occur in the early growth of plants with symptoms of seedling rot or damping-off. On soybean crop more than 2-3 weeks, symptoms is necrotic such as stem rot and wilt on the infected part, looks pale and brown spots in the fungal mycelia grew white. Using a fungicide control is affective but the negative ways are needed to avoid the impact of other control an environmentally friendly. Technology that allows it to be developed and relatively safe is the use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Bacillus* and *Pseudomonas* as a group of PGPR are genus of the most widely studied and have high potential as an agent controlling plant diseases. This research aims to determine the effect of inhibiting the application of PGPR in damping-off disease caused by the fungus *S. rolfsii* on soybean.

This research took place from October 2014 until February 2015 in mycology laboratory and screen house Faculty of Agriculture, University of Brawijaya, Malang. *In vitro* of research used a Completely Randomized Design (CRD), each treatment was repeated four times. *In vivo* of research used a Randomized Block Design (RBD), each treatment was repeated three times. Observation of *in vitro* was inhibition measurements. Observations of *in vivo* were soybean seed germination percentage, percentage of damping-off disease incidence and efficacy of antagonistic bacteria.

PGPR treatment with *in vitro* on inhibition of fungal growth *S. rolfsii* *in vitro*. The highest percentage level of inhibition shown by treatment E up to 90.55%. Inhibition of fungal growth of *S. rolfsii* indicated by abnormal growth of hyphae. PGPR treatment increasing in soybean seed germination treatment C with scores obtained 93.33% at 7 DAT. The lowest percentage of disease incidence on treatment E with percentage 5.33% and disease suppression was 93.34%.

KATA PENGANTAR

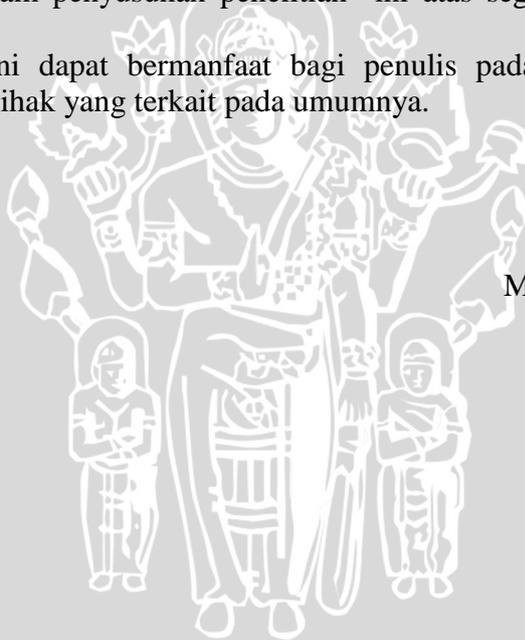
Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan pembuatan skripsi penelitian yang berjudul Pengaruh Aplikasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) Dalam Menghambat Penyakit Rebah Kecambah Yang Disebabkan Oleh Jamur *Sclerotium rolfsii* Pada Kedelai.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang terkait dalam penyusunan dan penyelesaian proposal penelitian ini, diantaranya kepada Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS. dan Luqman Qurata Aini, SP. M.Si, Ph.D selaku dosen pembimbing atas segala kesabaran, nasehat, arahan dan bimbingannya kepada penulis. Ucapan terima kasih juga penulia sampaikan kepada dosen penguji atas nasehat, arahan dan bimbingan kepada penulis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua Jurusan Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU atas segala nasehat dan bimbingannya kepada penulis. Tidak lupa juga untuk teman-teman mahasiswa dan mahasiswi HPT FP-UB, serta segenap pihak yang terkait dalam penyusunan penelitian ini atas segala dukungan dan kerjasamanya.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khusus-nya dan pembaca, serta pihak-pihak yang terkait pada umumnya.

Malang, Maret 2015

Penulis



RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bekasi pada tanggal 21 maret 1991 sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Syamsurizal (Alm) dan Ibu Elly Hendrawati.

Penulis bertempat tinggal di Jalan Raya Tapos RT 03/06 No 27 kelurahan Cimpaeun kecamatan Tapos kota Depok, Jawa Barat. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN IPK CIRIUNG 01 pada tahun 1997 sampai tahun 2003, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 3 Cibinong pada tahun 2003 dan selesai pada tahun 2006. Pada tahun 2006 sampai tahun 2009 penulis melanjutkan sekolah di Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Citeureup. Penulis melanjutkan ke Program Diploma dengan mengambil program keahlian Teknologi Industri Benih di Institut Pertanian Bogor (IPB) melalui jalur Undangan seleksi Masuk IPB (USMI) pada tahun 2009 sampai tahun 2012. Penulis melalui Seleksi Ahli Program melanjutkan program Sarjana (S1) di Universitas Brawijaya dengan mengambil Fakultas Pertanian, Program Agroekoteknologi, Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan pada tahun 2012.

Pengalaman kerja yang dimiliki penulis, Magang Kerja di Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok pada tahun 2012 dan Asisten Praktikum Ilmu Penyakit Tumbuhan pada tahun 2014.



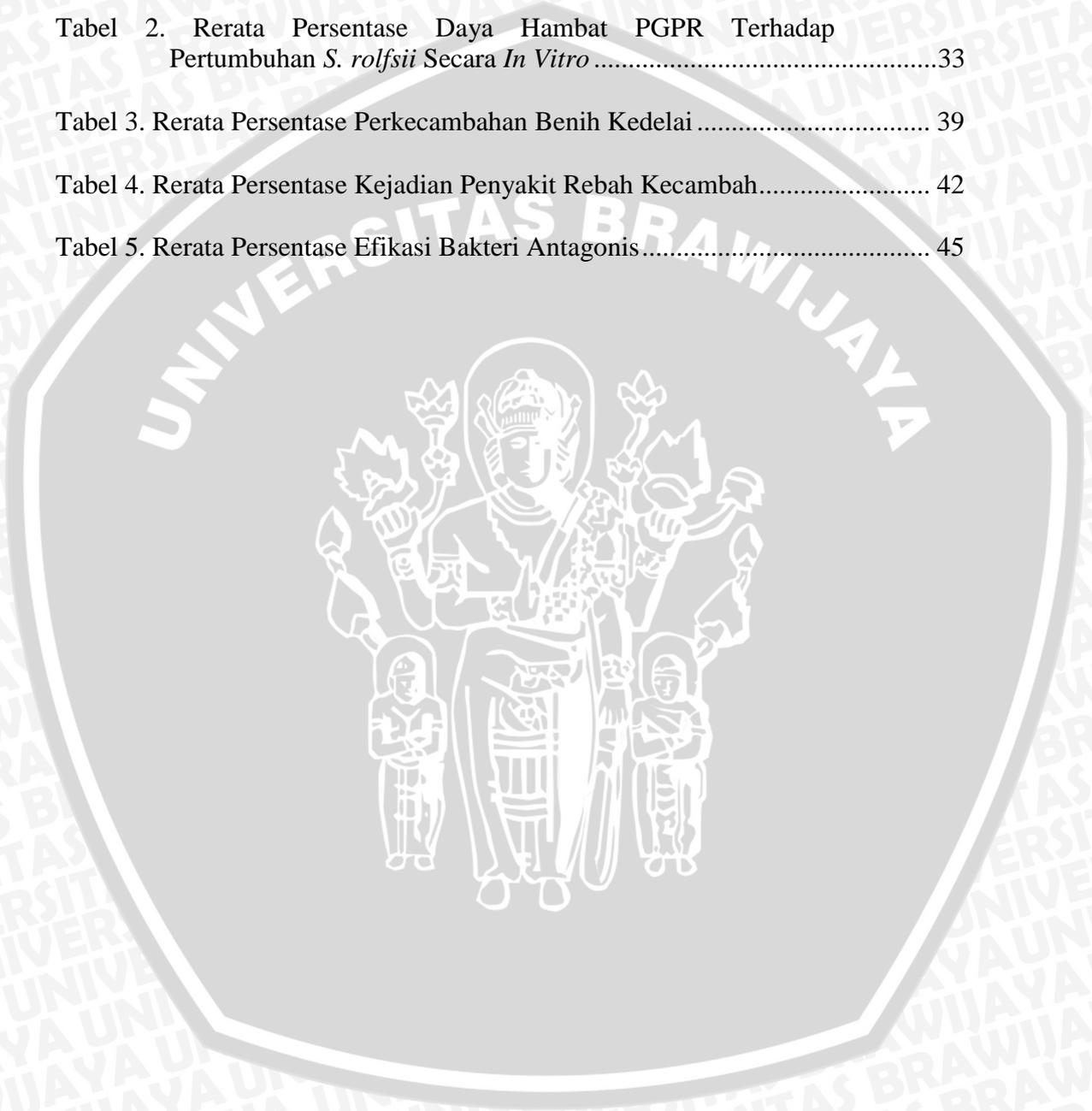
DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Kedelai	4
2.2 <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR)	5
2.2.1 Mekanisme PGPR	5
2.2.2 Manfaat PGPR	6
2.2.3 Macam-macam PGPR	6
2.3 <i>Bacillus sp.</i>	7
2.3.1 Klasifikasi <i>Bacillus subtilis</i>	7
2.3.2 Morfologi <i>Bacillus subtilis</i>	8
2.3.3 Siklus Hidup Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	9
2.3.4 Manfaat <i>Bacillus sp.</i>	9
2.4 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	10
2.4.1 Klasifikasi <i>Pseudomonas fluorescens</i>	10
2.4.2 Morfologi <i>Pseudomonas fluorescens</i>	11
2.4.3 Manfaat <i>Pseudomonas fluorescens</i>	11
2.5 Penggabungan <i>Pseudomonas fluorescens</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	13
2.6 Penyakit Tular Tanah	14
2.7 <i>Sclerotium rolfsii</i>	14
2.7.1 Klasifikasi <i>Sclerotium rolfsii</i>	15
2.7.2 Gejala Penyakit <i>Sclerotium rolfsii</i> Pada Kedelai	15
2.7.3 Morfologi <i>Sclerotium rolfsii</i>	17
2.7.4 Siklus Hidup <i>Sclerotium rolfsii</i>	19

BAB III BAHAN DAN METODE	21
3.1 Tempat dan Waktu	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.3 Metodologi	21
3.4 Penyiapan Penelitian	23
3.4.1 Penyiapan Inokulum Jamur <i>S. rolfsii</i>	24
3.4.2 Penyiapan Inokulum PGPR	25
3.4.3 Penyiapan Media Tanam <i>In Vivo</i>	26
3.4.4 Penyiapan Perlakuan Benih Kedelai Dengan PGPR.....	26
3.5 Pelaksanaan Penelitian	26
3.5.1 Uji Antagonis PGPR Terhadap Pertumbuhan <i>S. rolfsii</i> Secara <i>In Vitro</i>	27
3.5.2 Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Dengan PGPR Secara <i>In Vivo</i>	28
3.6 Variabel Yang Diamati	28
3.6.1 Pengukuran Daya Hambat Secara <i>In Vitro</i>	28
3.6.2 Persentase Perkecambahan Benih Kedelai.....	29
3.6.3 Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah	30
3.6.4 Efikasi Bakteri Antagonis	30
3.7 Analisis Data	30
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 31
4.1 Isolasi Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i>	31
4.2 Uji Antagonis PGPR Terhadap Pertumbuhan <i>S. rolfsii</i> Secara <i>In</i> <i>Vitro</i>	32
4.2.1 Interaksi PGPR Terhadap Pertumbuhan <i>S. rolfsii</i>	37
4.3 Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Dengan PGPR Secara <i>In Vivo</i>	38
4.3.1 Persentase Perkecambahan Benih Kedelai.....	38
4.3.2 Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah	41
4.3.3 Efikasi Bakteri Antagonis	44
4.4 Deskripsi Gejala Penyakit Rebah Kecambah Pada Tanaman Kedelai	46
 BAB V PENUTUP.....	 49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran.....	49
 DAFTAR PUSTAKA	 50
 LAMPIRAN.....	 57

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
Tabel 1.	Karakteristik Bakteri <i>B. subtilis</i>	8
Tabel 2.	Rerata Persentase Daya Hambat PGPR Terhadap Pertumbuhan <i>S. rolfsii</i> Secara <i>In Vitro</i>	33
Tabel 3.	Rerata Persentase Perkecambahan Benih Kedelai	39
Tabel 4.	Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah.....	42
Tabel 5.	Rerata Persentase Efikasi Bakteri Antagonis.....	45

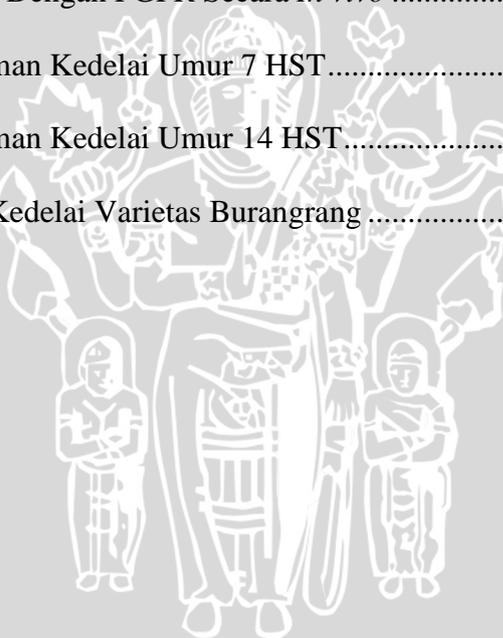


DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
Gambar 1.	Layu <i>S. rolfsii</i> Pada Tanaman Kedelai	16
Gambar 2.	Sklerotia <i>S. rolfsii</i> Pada Media Buatan (a) Dari Jarak Dekat (b)	18
Gambar 3.	Denah Tray	23
Gambar 4.	Teknik Pengenceran Berseri	25
Gambar 5.	Suspensi Perlakuan	26
Gambar 6.	Uji Antagonis Secara <i>In Vitro</i>	27
Gambar 7.	Tanaman Kedelai Terserang Penyakit Rebah Kecambah	31
Gambar 8.	Hasil Purifikasi Jamur <i>S. rolfsii</i>	32
Gambar 9.	Grafik Rerata Persentase Daya Hambat	34
Gambar 10.	Interaksi Terhadap Hifa <i>S. rolfsii</i>	37
Gambar 11.	Daya Berkecambah Pada Tanaman Kedelai	40
Gambar 12.	Grafik Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah	43
Gambar 13.	Efikasi Baktari Antagonis	46
Gambar 14.	Deskripsi Gejala Penyakit Rebah Kecambah	48

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
Lampiran 1.	Tabel Analisa Ragam Pada Persentase Daya Hambat PGPR Terhadap Pertumbuhan <i>S. rolfsii</i> Secara <i>In Vitro</i>	58
Lampiran 2.	Tabel Analisa Ragam Terhadap Persentase Daya Berkecambah Benih Kedelai 7 HST	59
Lampiran 3.	Tabel Analisa Ragam Terhadap Kejadian Penyakit Rebah Kecambah	59
Lampiran 4.	Foto Uji Antagonis PGPR Terhadap Pertumbuhan <i>S. rolfsii</i> Secara <i>In Vitro</i>	62
Lampiran 5.	Foto Persiapan Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Dengan PGPR Secara <i>In vivo</i>	68
Lampiran 6.	Foto Tanaman Kedelai Umur 7 HST	70
Lampiran 7.	Foto Tanaman Kedelai Umur 14 HST	72
Lampiran 8.	Deskripsi Kedelai Varietas Burangrang	74



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max* Linn.) adalah salah satu komoditas pangan yang sangat penting di Indonesia (Adisarwanto, 2008). Kedelai merupakan salah satu sumber protein. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2014, produksi kedelai sepanjang 2014 sebesar 921.336 ton atau produktifitasnya sebesar 15,06 kuintal/ha. Target produktifitas benih kedelai nasional sebesar 16,00 kuintal/ha sehingga Indonesia harus mengimpor kebutuhan dalam negeri.

Suatu produksi tanaman, khususnya kedelai, idealnya memiliki produktifitas yang tinggi jika dikaitkan dengan penggunaan benih yang berkualitas. Bibit yang tumbuh dari benih berkualitas dapat diperoleh dari benih varietas unggul yang memiliki karakter terbaik dan sudah diakui atau benih yang diberi perlakuan tertentu, seperti perlakuan benih yang mendukung pertumbuhan. Perlakuan benih merupakan metode yang efisien untuk menyediakan manfaat kimia dan kebutuhan mikroorganisme bagi tanaman karena perlakuan tersebut mudah dan dapat meminimalisasi kontaminan dari lingkungan.

Salah satu kendala yang mempengaruhi produksi kedelai adalah gangguan penyakit. Penyakit yang umum menyerang adalah rebah kecambah. Rebah kecambah yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii* merupakan penyakit penting tanaman kedelai, terutama pada musim hujan atau pada lahan yang drainasenya buruk. Infeksi *S. rolfsii* pada kedelai biasanya mulai terjadi di awal pertumbuhan tanaman dengan gejala busuk kecambah atau rebah kecambah. Pada tanaman kedelai berumur lebih dari 2-3 minggu, gejalanya berupa busuk pangkal batang dan layu pada bagian yang terinfeksi, terlihat bercak berwarna coklat pucat dan di bagian tersebut tumbuh miselia jamur berwarna putih (Semangun, 1993).

Pengendalian menggunakan fungisida memang efektif tetapi untuk menghindari dampak negatifnya diperlukan cara pengendalian lain yang ramah lingkungan (Rahayu, 2008; Hardaningsih, 2011). Pengendalian hayati jamur penyakit tanaman sering menggunakan mikroorganisme seperti jamur dan bakteri (Suryanto, 2009).

Perlakuan benih dengan metode perendaman diidentifikasi efektif dengan menggunakan agens biokontrol (Fernando *et al.*, 2005). Bakteri kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) telah intensif diteliti sebagai agens biokontrol, selain mampu memacu pertumbuhan tanaman juga mampu menekan perkembangan patogen penyebab penyakit (Tenuta, 2003). Perlakuan benih dengan PGPR akan menghasilkan pembentukan koloni PGPR sedini mungkin sehingga dapat mencegah pembentukan koloni patogen pada akar (Khalimi, 2009).

Berbagai teknik pengendalian telah diupayakan untuk menekan perkembangan penyakit-penyakit ini, diantaranya penggunaan fungisida sintetis. Adanya dampak negatif dari fungisida maka dibutuhkan teknologi alternatif untuk meningkatkan produksi pertanian yang lebih aman. Teknologi yang memungkinkan untuk dikembangkan dan relatif aman adalah pemanfaatan PGPR. PGPR adalah bakteri pengkoloni akar yang memberikan efek menguntungkan terhadap pertumbuhan tanaman.

Penggunaan PGPR di Indonesia sebagai *biostimulants* dan *bioprotectants* untuk meningkatkan produksi pertanian masih sangat sedikit. Berbagai artikel luar negeri menunjukkan bahwa PGPR berpotensi sangat besar dalam meningkatkan produksi pertanian. Penelitian mengenai pemanfaatan PGPR sebagai *biostimulants* dan *bioprotectants* sangat penting dilakukan dalam usaha untuk meningkatkan produksi pertanian yang ramah lingkungan. PGPR dapat diaplikasikan ketanaman sayuran, padi maupun palawija dan tanaman tahunan. Beberapa komoditas sayuran yang telah dicoba dengan hasil yang memuaskan, seperti bawang merah dan cabai merah (Widodo, 2006).

1.2 Tujuan

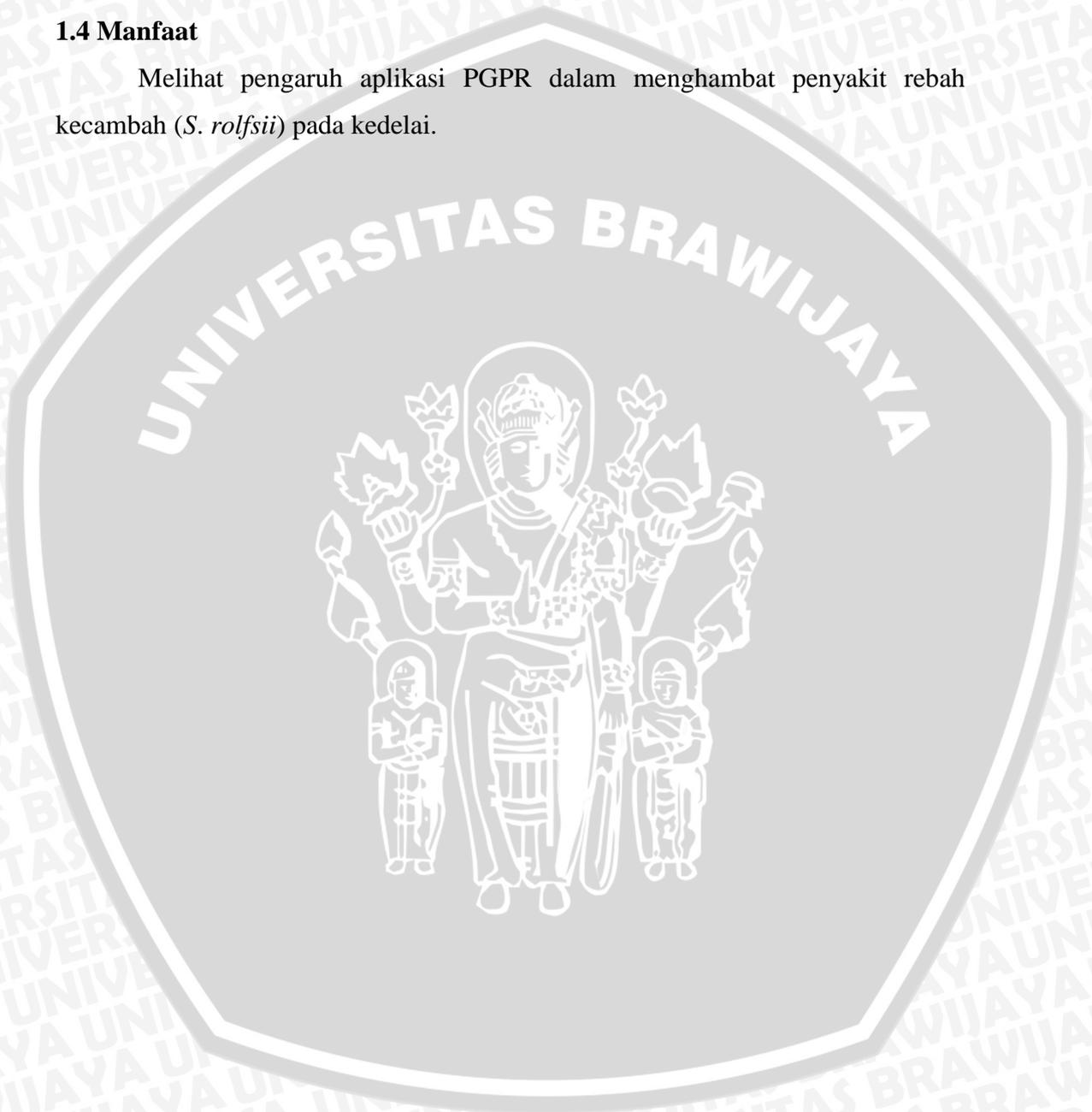
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi PGPR dalam menghambat penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh jamur *S. rolfii* pada kedelai.

1.3 Hipotesis

Aplikasi PGPR dapat menghambat penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh *S. rolfii* pada kedelai.

1.4 Manfaat

Melihat pengaruh aplikasi PGPR dalam menghambat penyakit rebah kecambah (*S. rolfii*) pada kedelai.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Kedelai

Tanaman kedelai tergolong dalam Kerajaan Animalia, Divisi Spermatophyta, Kelas Dicotyledonae, Ordo Rosales, Famili leguminosae, Genus *Glycine*, Spesies *Glycine max* (L) Merrill (Adisarwanto, 2008).

Menurut Hidayat (1985), tanaman kedelai merupakan tanaman semusim. Bentuk tanaman kedelai adalah semak, berdaun lebat dengan morfologi beragam, tinggi tanaman antara 10-200 cm, dapat bercabang sedikit atau banyak tergantung kultivar dan lingkungan hidupnya. Susunan tubuh tanaman kedelai terdiri dari dua macam alat (organ) utama yaitu organ vegetatif meliputi : akar, batang, daun yang berfungsi sebagai alat pengambil, penyangkut, pengolah, pengedar dan penyimpanan makanan. Organ generatif meliputi bunga, buah, dan biji sebagai alat perkembangbiakan.

Akar kedelai terdiri dari akar tunggang dan serabut yang panjangnya antara 20-50 cm, tergantung pada kondisi tanah, jenis tanah, pengolahan tanah dan sebagainya. Batang kedelai pada umumnya bercabang dan berbuku-buku antara 15-30 bahu. Daun kedelai mempunyai dua bentuk, yaitu bulat (*oval*) dan lancip (*lanceolate*) yang tergantung dari genetisnya. Tanaman kacang-kacangan, termasuk tanaman kedelai, mempunyai dua stadia tumbuh, yaitu stadia vegetatif dan stadia reproduktif. Stadia vegetatif mulai dari berkecambah sampai saat berbunga, sedangkan stadia generatif mulai dari pembentukan bunga sampai pemasakan biji. Pembentukan polong terjadi setelah 7-10 hari munculnya bunga. Polong berisi 2-3 biji dan warnanya berubah menjadi kecoklatan ketika masak.

Tahapan budidaya kedelai menurut Adisarwanto (2008), meliputi : pemilihan varietas yang sesuai, penyiapan lahan, pengolahan tanah, penanaman, pemupukan, pengairan, dan penyiangan gulma.

2.2 Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

PGPR adalah bakteri pengkoloni akar yang memberikan efek menguntungkan terhadap pertumbuhan tanaman. PGPR merupakan rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman. Bakteri tersebut mampu mengkoloni perakaran tanaman dengan baik, sehingga akar dapat menyerap sekresi mikroba yang bermanfaat bagi pertumbuhan akar dan mempengaruhi invasi patogen (Soesanto, 2008).

Widodo (2006), menyatakan bahwa pada prinsipnya ketahanan tanaman sudah terbentuk sebelum patogen menyerang tanaman (*pre existing*) atau ketahanan tanaman terinduksi oleh suatu agens (*induced resistance*). Ketahanan *pre existing* akan patah ketika terinfeksi oleh patogen yang bersifat virulen, karena patogen mampu mengatasi reaksi ketahanan tanaman. Namun apabila mekanisme pertahanan dipacu oleh agens stimulan (PGPR) sebelum terjadi infeksi oleh patogen, maka keparahan serangan penyakit akan menurun.

Bacillus dan *Pseudomonas* sebagai kelompok PGPR merupakan genus yang paling banyak diteliti dan berpotensi tinggi sebagai agens pengendali penyakit tanaman. Keduanya dilaporkan mampu menekan patogen secara langsung dengan mengeluarkan senyawa antibiotik dan induksi ketahanan sistemik pada tanaman (Wardanah, 2007).

2.2.1 Mekanisme PGPR

Secara umum, Mekanisme PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman adalah (1) *biostimulants*, PGPR mampu menghasilkan atau mengubah konsentrasi hormon tanaman seperti asam indolasetat (indoleacetic acid = IAA), asam giberelat, sitokinin, dan etilen atau prekursornya (1-aminosiklopropena-1-karboksilat deaminase) di dalam tanaman, tidak bersimbiotik dalam fiksasi N₂, melarutkan fosfat mineral, memengaruhi pembintilan atau menguasai bintil akar; (2) *bioprotectants*, PGPR memberi efek antagonis terhadap patogen tanaman melalui beberapa cara yaitu produksi antibiotik, siderofore, enzim kitinase, β -1,3-glucanase, sianida, parasitisme, kompetisi sumber nutrisi dan relung ekologi, menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik (Fernando *et al.*, 2005). (3)

biofertilizer, PGPR dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman, seperti penyerapan nitrogen dari nitrogen lemas bakteri yang berasosiasi dengan akar (*Azospirillum*), penyerapan zat besi melalui siderophore yang diproduksi oleh bakteri (*Pseudomonas*), penyerapan sulfur bakteri (*Thiobacillus*), dan penyerapan pospor dari mineral pospat yang dilarutkan bakteri (*Bacillus* dan *Pseudomonas*) (Tenuta, 2005).

2.2.2 Manfaat PGPR

Ketahanan sistemik terinduksi bergantung pada kolonisasi sistem perakaran oleh PGPR yang mengkoloni permukaan akar dan dapat masuk ke dalam jaringan akar (endofit). Aplikasi PGPR dapat dilakukan melalui perendaman benih dalam suspensi dan penyiraman (pengocoran) suspensi PGPR ke dalam tanah pada saat tanaman (bibit) pindah tanam. Beberapa hasil penelitian tentang PGPR sudah banyak dicoba oleh petani di tingkat lapang melalui pengolahan tanaman, antara lain rotasi, pengolahan tanah, dan pemupukan (Masyhar, 2009).

PGPR memberikan pengaruh tertentu pada benih yang diberi perlakuan. Ada perbedaan yang nyata antara benih kedelai yang diberi perlakuan PGPR dengan benih yang tidak diberi perlakuan menunjukkan bahwa aplikasi PGPR dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan PGPR menghasilkan pertumbuhan tanaman kedelai yang lebih cepat dan lebih besar. PGPR juga secara signifikan meningkatkan tinggi tanaman maksimum, jumlah cabang maksimum, jumlah daun maksimum, bobot basah dan kering akar, dan bobot kering polong (Khalimi, 2009).

2.2.3 Macam-macam PGPR

Diantara keanekaragaman hayati genetik yang luas dari prokariota, pertumbuhan tanaman mempromosikan rhizobakteri (PGPR) yang memiliki peran penting dalam pengelolaan penyakit tanaman untuk meningkatkan produktivitas tanaman melalui berbagai mekanisme (Fernando *et al.*, 2005).

Pertumbuhan tanaman mempromosikan rhizobakteri (PGPR) merupakan bakteri menguntungkan yang memiliki kemampuan untuk menjajah akar dan baik mendorong pertumbuhan tanaman melalui tindakan langsung atau melalui kontrol biologis penyakit tanaman (Kloepper, 1978). PGPR terkait dengan banyak spesies tanaman dan biasa hadir di lingkungan yang bervariasi. Strain dengan aktivitas PGPR, milik marga *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, dan *Serratia* (Hurek, 2003). Spesies *Pseudomonas* dan *Bacillus* adalah yang paling ekstensif dipelajari. Bakteri ini kompetitif menjajah akar tanaman dan dapat bertindak sebagai pupuk hayati dan / atau antagonis (*biopestisida*) atau secara simultan keduanya (Maheshwari, 2011).

2.3 *Bacillus sp*

Bacillus sp. merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, beberapa spesies bersifat aerob obligat dan beberapa bersifat anaerobik fakultatif, dan memiliki endospora sebagai struktur bertahan saat kondisi lingkungan tidak mendukung. *Bacillus sp.* telah dilaporkan termasuk kelompok bakteri penghasil antibiotik potensial sebagai agen bio-kontrol. Kelompok bakteri ini selain menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menekan pertumbuhan patogen, juga menghasilkan hormon pengatur tumbuh (Backman *et al.*, 1994). Bakteri ini pada umumnya diaktivasikan pada benih untuk mencegah patogen tular tanah seperti *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinera*, *Phytium sp.* dan *Sclerotium rolfsii* (Baker, 1974).

2.3.1 Klasifikasi *Bacillus subtilis*

Menurut Agrios (1998) *Bacillus sp.* Dalam sistematika taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryotea
Division	: Firmicutes-Gram-positive bacteria
Class	: Firmibacteria
Famili	: Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *B.subtilis*

Spesies adalah nama suatu mikroorganisme yang sudah tertentu. Spesies bakteri ditentukan oleh sifat-sifat struktural yang terdiri dari bentuk, besar, cara pergerakan, reaksi terhadap pewarnaan gram serta pertumbuhan makroskopik (sifat-sifat koloni). Sifat-sifat biokimia dan kebutuhan akan nutrisi, produk-produk akhir metabolisme, susunan biokimiawi komponen sel dan metabolit-metabolitnya. Sifat-sifat fisiologisnya terhadap oksigen, temperatur, pH, dan respon terhadap zat-zat anti bakteri. Sifat ekologi, komposisi basa DNA, homologi dan sifat-sifat genetik. Galur-galur mikroorganisme spesies bakteri yang sifat-sifatnya secara garis besar sama, tetapi sesungguhnya memiliki perbedaan (Dwidjoseputro, 1989).

2.3.2 Morfologi *Bacillus subtilis*

B. subtilis diketahui secara luas sebagai bakteri saprofit, tidak menyebabkan penyakit pada tanaman, dapat hidup dalam kondisi anaerob (tanpa oksigen), bersifat gram positif, dan membentuk spora, serta menghasilkan beberapa jenis senyawa anti mikroba seperti basitrasin, basilin, basilomisin B, difisidin, oksidifisidin, lesitinase, dan subtilisin (Supriadi, 2006). Karakteristik Bakteri *B. subtilis* dapat ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Bakteri *B. subtilis*

Penguji	Reaksi
Sifat Gram	+
Flagela	+
Endospora (sentral)	+
Pembengkakan sel berspora	-
Tumbuh pada suhu 45 ⁰ C	+
Tumbuh pada pH 5,70	+
Tumbuh pada kandungan NaCl 1%	+
Penggunaan sitrat	+
Hidup dalam medium glukosa pada kondisi tanpa oksigen	-
Produksi asam dari karbon : arabinosa, manitol dan xylosa.	+
VP test	+
Hidrolisi pati	+

Sumber : Supriadi, 2006.

Ciri-ciri fisiologis, seperti dinding sel berlapis-lapis, stres pembentukan endospora tahan, dan sekresi antibiotik peptida, peptida sinyal molekuler, dan enzim ekstraseluler, dimana-mana untuk basilini dan berkontribusi untuk kelangsungan hidup mereka di bawah kondisi lingkungan yang merugikan bagi perpanjangan masa waktu (Maheshwari, 2011).

2.3.3 Siklus Hidup Bakteri *Bacillus subtilis*

Siklus hidup bakteri ada empat fase divisualisasikan sebagai kurva tumbuh yaitu fase adaptasi (lag) bakteri umum terjadi pada menit ke 0-30, fase reproduksi dengan cepat dan konstan (eksponensial) ditandai dengan kenaikan grafik (menit ke 60-90), fase tetap karena sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati ditandai dengan garis horizontal pada grafik (stasioner) dan fase kematian adalah tahap sebagai populasi mikroba mulai mengalami kematian karena nutrisi dalam medium dan energi cadangan di dalam sel sudah habis, ditandai dengan menurunnya grafik hingga mencapai titik nol (Black, 1999).

Fase adaptasi *B. subtilis* terjadi pada jam 5-13 yang banyak memproduksi zat-zat metabolit, pertumbuhan sangat cepat (Yuneta, 2010). Menurut Dwidjoseputro (1989), pembiakan aseksual atau vegetatif dengan pembelahan, genus *Bacillus* terjadi pada satu jurusan saja. Dinding yang membagi 2 bakteri itu tegak lurus pada poros dari ujung ke ujung. Pembelahan diri atau divisio terbagi dalam 3 fase: yaitu: a. Sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah yang memanjang; b. Sekat tersebut diikuti oleh suatu dinding melintang (penyekat). Di tengah sering terlihat suatu lubang kecil, protoplasma kedua sel baru masih tetap berlaju pertumbuhan. Laju pertumbuhan protoplasma ini disebut plasmodesmida; c. Fase terakhir ialah terpisahnya kedua sel. Bakteri ini mempunyai koloni yang merata. *Bacillus* memiliki bentuk permukaan yang kasar seperti koloni *B. subtilis* yang tidak rata.

2.3.4 Manfaat *Bacillus* sp

Menurut Kloepper *et al.* (2004), kelompok *Bacillus* juga dikenal sebagai bakteri kelompok PGPR yang mampu menginduksi pertumbuhan dan ketahanan

tanaman terhadap penyakit melalui berbagai mekanisme. *B. subtilis* juga sangat dikenal sebagai bakteri pembentuk endospora yang memiliki ketahanan yang sangat tinggi terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik sebagai struktur bertahan. Dengan demikian endospora yang terbentuk dapat digunakan sebagai material bakteri inaktif yang bisa diformulasikan pada berbagai bahan pembawa. Media pembawa ini juga bisa berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi spora bakteri saat berkecambah jika kondisi lingkungan memungkinkan perkecambahan spora sesaat setelah aplikasi (Sulistiani, 2009).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Malinda *et al.*, (2014), menunjukkan bahwa isolat bakteri yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. rolfii* secara *in vitro* ialah *Bacillus* sp. BK13 dengan zona hambat sebesar 3,75 cm. Isolat bakteri yang mampu mengurangi persentase rebah kecambah yang disebabkan oleh *S. rolfii* secara *in vivo* ialah *Bacillus* sp. BK13 sebesar 44,5%. Dengan demikian, isolat bakteri tersebut berpotensi sebagai agen pengendalian hayati.

2.4 *Pseudomonas fluorescens*

Pseudomonas kelompok *P. fluorescens* merupakan salah satu kelompok yang banyak dipelajari sebagai agensia pengendalian hayati. Bakteri tersebut memiliki kombinasi mekanisme pengendalian hayati yang efektif.

2.4.1 Klasifikasi *Pseudomonas fluorescens*

Agrios (2005), mengklasifikasikan bakteri agen hayati *Pseudomonas fluorescens* sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryotea
Division	: Gracilicutes
Class	: Proteobacteria
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>P. fluorescens</i>

2.4.2 Morfologi *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens adalah bakteri gram negatif yang berbentuk bulat panjang atau batang, hampir semuanya motil dengan flagella monotrikus, politrikus dan lofotrikus (Buchanan, 1974). Schaad (2001), menerangkan bahwa ciri genus *Pseudomonas* terdiri atas satu sel berbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 x 1,5-4,0 μm dan merupakan bakteri gram negatif. Ciri khusus bakteri ini adalah kemampuan yang dimilikinya dalam membebaskan pigmen yang berfluorescence kuning sampai hijau dibawah sinar ultraviolet bila ditumbuhkan di media yang mengandung besi rendah seperti King's B (Schaad, 2001). Proses metabolisme bakteri ini sangat sederhana sehingga langsung menuju substrat yang dikeluarkan tanaman, sangat singkat dalam regenerasi dan mobilitasnya tinggi (Schippers *et al.*, 1987). Bakteri genus ini telah digunakan sebagai agens pengendali penyakit antara lain *Pseudomonas* sp. PT3, *P. fluorescens* ES32 (Rustam, 2005).

Karakter morfologi koloni *P. fluorescens* RH4003 pada media King's B agar adalah koloni berwarna putih, tumbuh dengan cepat, dan berfluorescensi dengan warna hijau kebiruan dibawah sinar ultraviolet (Aditya 2006). Selain itu, bakteri *P. fluorescens* dapat memproduksi IAA (*indole acetic acid*) yang merupakan senyawa pemacu pertumbuhan tanaman (Dey *et al.*, 2004). *Pseudomonas spp.* telah terbukti dapat menstimulir timbulnya ketahanan tanaman terhadap infeksi jamur patogen akar, bakteri dan virus (Wei *et al.*, 1991).

2.4.3 Manfaat *Pseudomonas fluorescens*

Mekanisme utama dari biokontrol oleh *P. fluorescens* melibatkan produksi antibiotik seperti 2,4 -diacetylphloroglucinol (PHL), pyoluteorin (PLT), pyrrolnitrin (PRN), phenazine-1-carboxylic acid (PCA), 2 - hidroksi phenazine dan phenazine-1-karboksamida (PCN). Selain langsung aksi antipathogenic, antibiotik juga berfungsi sebagai penentu dalam memicu diinduksi resistensi sistemik (ISR) di sistem tanaman dan berkontribusi terhadap penekanan penyakit dengan berunding keunggulan kompetitif untuk biokontrol agen. Sinergisme antara antibiotik dan ISR dapat lebih meningkatkan resistensi inang terhadap patogen tanaman (Fernando *et al.*, 2005).

Dari hasil penelitian Susilowati (2014), menunjukkan hasil sebelas isolat *Pseudomonas* sp. CRB dapat menghambat pertumbuhan cendawan patogen tular tanah secara *in vitro*. Di antara isolat-isolat tersebut, 7 isolat menghasilkan siderofor, 2 isolat menghasilkan kitinase, dan 4 isolat menghasilkan hidrogen sianida. Pelapisan benih kedelai dengan *Pseudomonas* sp. CRB menunjukkan penekanan penyakit in planta sekitar 14-100% dalam tanah steril dan 5-53% pada non-steril tanah. *Pseudomonas* sp. CRB-16, CRB-44, CRB-86, CRB-102 dan CRB-109 yang mempertahankan nilai penekanan penyakit yang cukup tinggi, lebih dari 30% pada tanah non-steril dapat dikembangkan sebagai agen pengendali biologis untuk melindungi kedelai dari penyakit cendawan tular tanah.

Menurut hasil penelitian dari Ganesan (2012), menunjukkan agensia hayati *P. fluorescens* mengobati tanaman dengan penurunan kejadian penyakit, dan menunjukkan pertumbuhan yang kuat serta tampak sehat dibandingkan dengan tanaman kontrol. Kitinase yang dihasilkan *P. fluorescens* adalah salah satu enzim, yang menurunkan lapisan kitin di dinding jamur patogen.

Hasil penelitaian menurut Rahayu (2008), konsentrasi bakteri *P. fluorescens* yang diaplikasikan yaitu 10^5 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, dan 10^9 cfu/ml. Dari penelitian ini didapatkan empat isolat *P. fluorescens* asal rizosfer tanaman kedelai, yang memiliki daya antagonis tinggi terhadap *S. rolfsii*, dengan daya hambat 56-62%. Isolat dengan daya hambat tertinggi yaitu Pf-d yang selanjutnya diaplikasikan di rumah kaca, ternyata mampu menekan penyakit rebah semai hingga 6,7%. Sementara itu pada kontrol (tanpa pengendalian), intensitas penularan penyakit lebih tinggi, lebih dari 45%. Aplikasi Pf melalui ke tanah dikombinasi dengan konsentrasi tinggi (10^9 cfu/ml) lebih baik pengaruhnya dalam menekan penyakit. Di samping itu, aplikasi Pf melalui tanah menghambat pertumbuhan organ pembiakan patogen, yaitu sklerosia di tanah. Penularan terendah 6,7% terjadi pada perlakuan A1K3 yaitu aplikasi melalui tanah dengan konsentrasitinggi 10^9 cfu (sel hidup)/ml pada pengamatan 13 HST. Pengamatan 16-21 HST penularan penyakit tidak mengalami kenaikan (stabil). Penularan tertinggi 28,9% didapatkan pada perlakuan penyelaputan benih dengan konsentrasi 10^5 cfu/ml. Perlakuan yang paling menekan penyakit rebah adalah

aplikasi Pf melalui tanah dengan konsentrasi tinggi 10^9 cfu/ml. Konsentrasi yang tinggi (10^9 cfu/ml) berpengaruh positif dalam menekan *S. rolfsii*. Aplikasi Pf juga menghambat perkembangan sklerotia dalam tanah.

2.5 Penggabungan *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*

Berdasarkan hasil pengujian Nawangsih (2006) bahwa *P. fluorescens* RH4003, *B. subtilis* AB89 dan *B. cereus* L32 menunjukkan antagonisme bila diaplikasikan secara bersamaan. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya kompetisi ruang maupun nutrisi atau agens biokontrol mengeluarkan senyawa yang dapat menghambat populasi maupun kinerja agens biokontrol yang lain. Ketiga agens biokontrol yang digunakan dalam pengujian (*B. subtilis* AB89, *B. cereus* L32, dan *P. fluorescens* RH4003) menghasilkan siderofor sehingga bila diaplikasikan secara bersamaan akan terjadi persaingan antar agens biokontrol dalam mengikat Fe^{3+} (Nawangsih, 2006). Penggabungan *P. fluorescens* dengan *Bacillus* spp. juga diuji untuk mengendalikan layu bakteri pada nilam dan diperoleh hasil bahwa kombinasi kedua bakteri tersebut mampu menekan perkembangan layu bakteri, selain itu mampu meningkatkan tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah tunas, berat basah daun, dan berat kering daun (Chrisnawati *et al.*, 2009).

Menurut Alexsander (1997), penggabungan *Pseudomonas* sp dengan *Bacillus* sp juga dapat melarutkan fosfat yang terikat dengan unsur lain menjadi tersedia bagi tanaman karena kemampuannya dalam menghasilkan enzim fosfatase dan fitase.

Bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* juga dapat memberikan pengaruh menguntungkan terhadap perkembangan dan pertumbuhan tanaman, yaitu sebagai rizobakteri perangsang pertumbuhan tanaman (PGPR). Bakteri tersebut juga menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan patogen, terutama patogen tular tanah dan mempunyai kemampuan mengkoloni akar tanaman (Soesanto, 2008). Mekanisme penghambatan oleh bakteri antagonis adalah melalui produksi antibiotik, siderofor, ketahanan terimbas sistemik, enzim,

perangsang pertumbuhan tanaman, persaingan, mikroparasitisme dan toksin (Hasanudin, 2003).

2.6 Penyakit Tular Tanah

Tanaman kacang-kacangan sering diserang oleh cendawan yang dapat bertahan di dalam tanah, yang dikenal dengan sebutan cendawan tular tanah, antara lain dari genus *Rhizoctonia* dan *Sclerotium* (Semangun, 1993). Serangan patogen tular tanah pada tanaman diawali dengan infeksi pada bagian akar atau batang yang berbatasan dengan permukaan tanah. Cendawan tular tanah sering menyerang tanaman kedelai, kacang hijau, dan kacang tanah di kebun-kebun lingkup Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi). Sebaran penyakit tular tanah di Indonesia sangat luas, meliputi Jawa, Sumatera, Kalimantan, Bali, Nusa Tenggara Barat, dan Nusa Tenggara Timur (Sumartini, 2011).

Cendawan tersebut juga ditemukan di Kalimantan dengan tingkat infeksi yang tinggi. Cendawan *S. rolfsii* umumnya hidup di daerah tropis dan subtropis seperti Amerika Serikat, Amerika Tengah, Amerika Selatan, Afrika, India, Jepang, Filipina, dan Hawaii. Patogen tersebut jarang tumbuh di daerah dengan suhu di bawah 0°C (Fichtner, 2010).

2.7 *Sclerotium rolfsii*

S. rolfsii merupakan patogen yang dapat menyebabkan kerusakan pada tanaman. Cendawan ini dapat menyebabkan penyakit busuk pangkal batang pada kacang-kacangan, diantaranya kedelai. Menurut Semangun (1991), penyakit yang disebabkan oleh *S. rolfsii* merupakan penyakit potensial pada tanaman kedelai. Infeksi *S. rolfsii* pada kedelai biasanya mulai terjadi di awal pertumbuhan tanaman dengan gejala busuk kecambah atau rebah kecambah. Pada tanaman kedelai berumur lebih dari 2-3 minggu, gejalanya berupa busuk pangkal batang dan layu pada bagian yang terinfeksi, terlihat bercak berwarna coklat pucat dan di bagian tersebut tumbuh miselia jamur berwarna putih (Semangun, 1993). *S. rolfsii* merupakan cendawan patogen tular tanah yang umum terdapat di daerah tropis

dan subtropis (Punja, 1988). *S. rolfsii* memiliki kisaran inang yang luas yaitu lebih dari 500 spesies tumbuhan termasuk tanaman dikotil dan beberapa spesies monokotil (Aycock, 1966). Isolat *S. rolfsii* yang berasal dari daerah geografi berbeda menunjukkan perbedaan morfologi (struktur koloni dan bentuk sklerotia), serta respon pertumbuhan pada suhu dan media berbeda (Naik, 2008).

2.7.1 Klasifikasi *Sclerotium rolfsii*

Penyakit busuk pangkal batang merupakan penyakit tanaman yang disebabkan oleh cendawan *S. rolfsii*. Menurut Alexopoulos (1979), klasifikasi cendawan *S. rolfsii* penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kedelai adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Mycetae
Divisi	: Amastigomycota
Sub divisi	: Deuteromycotina
Klas	: Deuteromycetes
Sub Klas	: Deuteromycetidae
Ordo	: Agronomycetales
Bangsa	: Agronomycetaceae
Marga	: Sclerotium
Jenis	: <i>S. rolfsii</i>

Serangan cendawan ini menjadi masalah serius karena menyerang hampir berbagai jenis tanaman kacang-kacangan, khususnya kedelai dengan kerusakan hampir mencapai 100% (Gonsalves, 1993).

2.7.2 Gejala Penyakit *Sclerotium rolfsii* Pada Kedelai

Tanaman yang terserang penyakit akan menjadi layu dan menguning secara perlahan. Pada pangkal batang dan permukaan tanah didekatnya terdapat miselium cendawan berwarna putih dan tumbuh sangat agresif pada jaringan tanaman yang diserang (Semangun, 1991). Pangkal batang pada tanaman yang terserang penyakit akan membusuk, sehingga penyakit ini sering juga disebut penyakit busuk pangkal batang. *S. rolfsii* dapat menyerang kecambah atau semai.

Dalam keadaan yang sangat lembab cendawan juga dapat menyerang daun, tangkai dan polong (Semangun, 2004). Tanda yang paling mudah dikenali dari penyakit ini adalah adanya miselium cendawan berwarna putih seperti bulu pada pangkal batang yang sakit atau pada permukaan tanah. Bentuk teleomorf dari cendawan *S. rolfii* adalah *Athelia rolfii*, termasuk ke dalam kelompok cendawan Agonomycetes (Fichtner, 2010). Miselium cendawan *S. rolfii* berwarna putih seperti bulu (Gambar 1).



Gambar 1. Layu *S. rolfii* Pada Tanaman Kedelai
Sumber : Sumartini, 2011.

Menurut Ferreira *et al.*, (1992), *S. rolfii* gejala pertama yang nampak adalah daun layu menguning dengan cepat. Tanaman di persemaian sangat rentan terhadap serangan jamur ini dan apabila terserang, semai akan mati sejak terinfeksi. Sedangkan pada tanaman tua yang terinfeksi *S. rolfii* akan segera membentuk jaringan yang perlahan-lahan membentuk luka akhirnya mati. Jaringan terinfeksi berwarna coklat muda lembut dan tidak berair.

Menurut Semangun (1993), tanaman yang terserang patogen ini akan layu menguning perlahan-lahan. Pada pangkal batang dan permukaan tanah didekatnya terdapat benang-benang jamur berwarna putih seperti bulu. Benang-benang ini kemudian membentuk sklerotium atau gumpalan benang, yang mula-mula berwarna putih, akhirnya menjadi coklat seperti biji sawi dengan garis tengah 1-1,5 mm. Karena mempunyai lapisan dinding yang keras, sklerotium dapat dipakai untuk mempertahankan diri dari kekeringan, suhu tinggi dan keadaan lain yang kurang menguntungkan. Jamur ini biasanya menyerang

tanaman di bawah atau permukaan tanah. Kadang-kadang luka berwarna coklat nampak pada batang sebelum gejala lain muncul.

2.7.3 Morfologi *Sclerotium rolfsii*

S. rolfsii mempunyai miselium yang terdiri dari benang-benang berwarna putih, tersusun seperti bulu atau kapas. Di sini cendawan tidak membentuk spora. Untuk pemencaran dan untuk mempertahankan diri cendawan membentuk sejumlah sklerotium yang semula berwarna putih, kemudian menjadi coklat dengan garis tengah kurang lebih 1mm. Butir-butir ini mudah sekali lepas dan tersangkut air (Semangun, 2004).

Sel hifa primer di bagian tepi koloni mempunyai lebar 4–9 μm , dan panjang mencapai 350 μm (Semangun, 1993). Menurut Sumartini (2011), hifa mempunyai satu atau lebih hubungan klan. Sel hifa sekunder, tersier, dan seterusnya berukuran lebih kecil dari sel primer dan mempunyai lebar 1,6–2 μm . Percabangannya membentuk sudut yang lebih besar dan tidak mempunyai hubungan klan. Seperti cendawan yang lain, *S. rolfsii* juga mempunyai hifa, tetapi hifanya tidak membentuk spora melainkan sklerotia (Gambar 2), sehingga identifikasinya didasarkan atas karakteristik, ukuran, bentuk, dan warna sklerotia. Pada media buatan, sklerotia baru terbentuk setelah 8–11 hari. Sklerotia terdiri atas tiga lapisan, yaitu kulit dalam, kulit luar, dan kulit teras. Pada kulit dalam terdapat 6–8 lapisan sel, kulit luar 4–6 lapisan sel, sedangkan kulit teras terdiri atas benang-benang hifa yang hialin dan tidak mengalami penebalan dinding sel (Chet *et al.*, 1969).

Pada lapisan dalam sklerotia terdapat gelembung-gelembung yang merupakan cadangan makanan. Bagian dalam sklerotia yang tua mengandung gula, asam amino, asam lemak, dan lemak, sedangkan bagian dindingnya mengandung gula, kitin, laminarin, asam lemak, dan glukosida. Permukaan sklerotium dapat mengeluarkan eksudat berupa ikatan ion, protein, karbohidrat, enzim endopoligalakturonase, dan asam oksalat. Asam oksalat yang dihasilkan *S. rolfsii* bersifat racun terhadap tanaman (fitotoksik). *S. rolfsii* juga mengeluarkan

L-prolin yang merupakan antibiotik terhadap bakteri tertentu. Selama masa awal pertumbuhannya, pembentukan asam oksalat meningkat (Sumartini, 2011).

Sklerotia dapat tersebar oleh aliran air, alat-alat pertanian yang terkontaminasi, dan benih. Sklerotium mempunyai kulit yang kuat sehingga tahan terhadap suhu tinggi dan kekeringan. Di dalam tanah sklerotium dapat bertahan sampai 6 - 7 tahun. Dalam cuaca yang kering sklerotium dapat mengeriput, tetapi ini justru akan berkecambah dengan cepat jika kembali berada di lingkungan yang lembab (Semangun 1993). Kelembaban tinggi diperlukan untuk pertumbuhan sklerotia secara optimal. Sklerotia gagal berkecambah ketika kelembaban relatif jauh di bawah saturasi. Namun, ada beberapa penelitian yang menegaskan bahwa sklerotia berkecambah secara maksimal pada suhu 25 - 35% (Agrios 1978).



Gambar 2. Sklerotia *S. rolfsii* Pada Media Buatan (a) Dari Jarak Dekat (b)
Sumber: Sumartini, 2011.

Menurut Domsch (1990), jamur ini membentuk hifa berwarna putih dan meluas serta miselium yang kasar. Infeksi pada jaringan inang umumnya terjadi 3-4 hari setelah inokulasi pada kondisi panas dan lembab. Cabang hifa relatif panjang dengan diameter 5-9 μm , hifa berwarna hialin. Sklerotium berdiameter 8-10 mm.

Jamur *S. rolfsii* memiliki koloni yang dapat tumbuh dengan cepat, diameter koloni mencapai 9 cm setelah 3 hari di media pada suhu 23⁰ C. Koloni jamur berwarna putih dengan banyak untaian hifa. Hifa primer konduktif dengan lebar 4,5-9 μm , rapat dan bersekat. Hifa sekunder dan tersier lebih sempit dengan lebar 1,5-2 μm , umumnya memiliki susunan yang tidak rapat. Sklerotia banyak

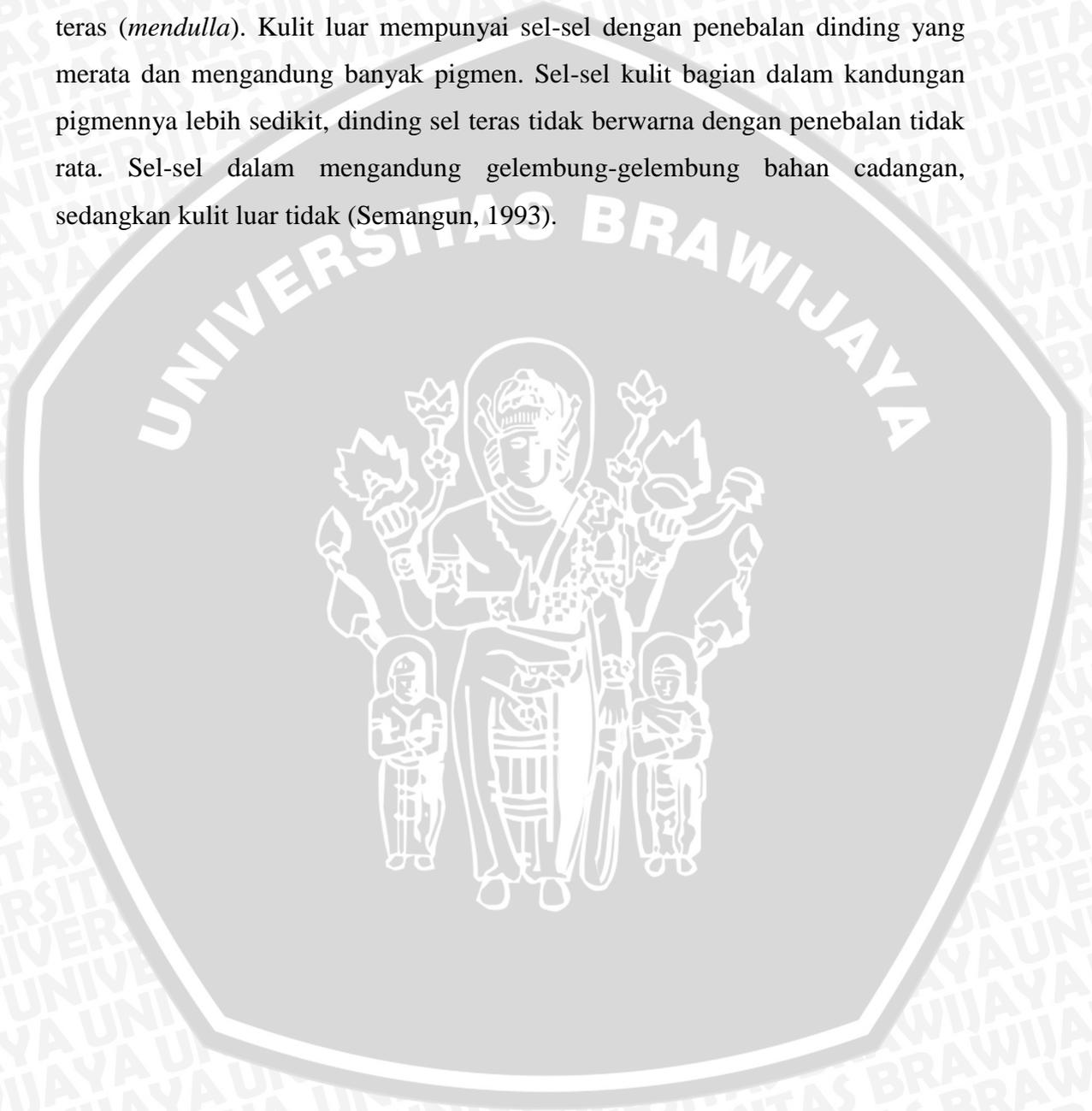
terbentuk dari tepi koloni, dinding halus, berwarna krem atau coklat dengan diameter 1-2 mm. Tabung kecambah muncul dari sklerotium dan menembus dinding sklerotium. Menurut Ferreira *et al.*, (1992), sebelum *S. rolfii* menyerang inang akan membentuk miselium dalam jumlah banyak pada permukaan tanaman dengan rentang waktu 2-10 hari. pH optimum untuk pertumbuhan miselium adalah 3-5. Sklerotia berkecambah antara pH 3-5. Perkecambahan terhambat pada pH di atas 7. Pertumbuhan miselium optimal pada kisaran suhu 23-35⁰C dan mati pada suhu 0⁰C, tetapi sklerotia dapat bertahan pada suhu di bawah -10⁰C.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfii* adalah kelembaban udara. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kelembaban optimum bagi pertumbuhan jamur ini adalah 25-35%. Pertumbuhan miselium *S. rolfii* dan perkecambahan sklerotium lebih cepat jika terdapat sinar matahari secara terus menerus jika dibandingkan dengan kondisi gelap (Ferreira *et al.*, 1992). Aerasi tanah juga sangat berpengaruh terhadap serangan jamur *S. rolfii*. Jamur akan membentuk sklerotium apabila kandungan oksigen dalam tanah sekitar 15% dan karbondioksida kurang dari 14%.

2.7.4 Siklus Hidup *Sclerotium rolfii*

Menurut Dwijoseputro (1978), jamur tidak membentuk spora dalam siklus hidupnya. Jamur membentuk miselium yang sangat agresif dan tumbuh menyerupai kapas, berwarna keputih-putihan pada jaringan tanaman yang terserang. Jamur *S. rolfii* akan membentuk sklerotia dalam kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Sklerotia adalah sekumpulan miselium yang menggumpal dan memadat sebagai struktur istirahat (dorman) yang dapat bertahan dalam waktu yang lama (6-7 tahun) dan akan berkecambah jika kondisi lingkungan menguntungkan. Bagian jamur ini merupakan struktur dorman yang akan berkecambah kembali apabila kondisi lingkungan (suhu, kelembaban, kondisi fisik tanah dan keberadaan substrat) mendukung. Kemampuan sklerotium bertahan pada lingkungan yang ekstrim dalam hal ini kondisi kering dan suhu yang tinggi disebabkan karena adanya kulit yang tebal dan keras (Domsch *et al.*, 1980).

Pembentukan sklerotia terjadi kira-kira tujuh hari setelah infeksi. Sklerotium yang terbentuk tertutup oleh dua hifa yang saling bersilang. Sklerotium berbentuk hampir bulat, memiliki garis tengah 1-2 mm dengan pangkal agak mendatar, mempunyai kulit luar (*rind*), kulit dalam (*cortec*) dan teras (*mendulla*). Kulit luar mempunyai sel-sel dengan penebalan dinding yang merata dan mengandung banyak pigmen. Sel-sel kulit bagian dalam kandungan pigmennya lebih sedikit, dinding sel teras tidak berwarna dengan penebalan tidak rata. Sel-sel dalam mengandung gelembung-gelembung bahan cadangan, sedangkan kulit luar tidak (Semangun, 1993).



BAB III BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2014 sampai Februari 2015 di laboratorium mikologi dan *screen house* Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: gelas ukur 1L, dan gelas ukur steril dengan ukuran 250 ml, autoklave, koret, spray, nampan, cangkul, botol kultur steril, kompor, cawan petri steril, panci, kertas label, spatula, tissue, kapas, *aluminium foil*, *wrapping*, kertas saring, bunsen, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), timbangan, wadah/nampan, pisau steril, pinset steril, gunting steril, jarum ose steril, pipet, tabung reaksi, *cover glass*, *object glass*, mikroskop, penggaris, spidol permanen, dan buku panduan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: isolat biakan PGPR (UB_APf 1 dan UB_ABs 1 dengan konsentrasi 10^{12} cfu/ml) dari Universitas Brawijaya, *aquadest*, benih kedelai varietas burangrang, pupuk kompos, tanah, air, kentang 250 g, *dextrose* 20 g, agar-agar 20 g, *Nutrient Broth* (NB) 8 gram, bagian tanaman $\frac{1}{2}$ sakit dan $\frac{1}{2}$ sehat yang dipotong 1x1 cm, alkohol 70%, alkohol 96%, dan kloroks 2%.

3.3 Metodologi

Penelitian *in vitro* ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak empat kali ulangan. Penelitian *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali ulangan. Penelitian dilakukan dengan konsentrasi PGPR (10^6 cfu/ml dan 10^9 cfu/ml) yang diaplikasikan

pada PGPR yaitu, aplikasi PGPR *P. fluorescens*, aplikasi PGPR *B. subtilis*, aplikasi *P. fluorescens* dengan *B. subtilis*, dan perlakuan kontrol.

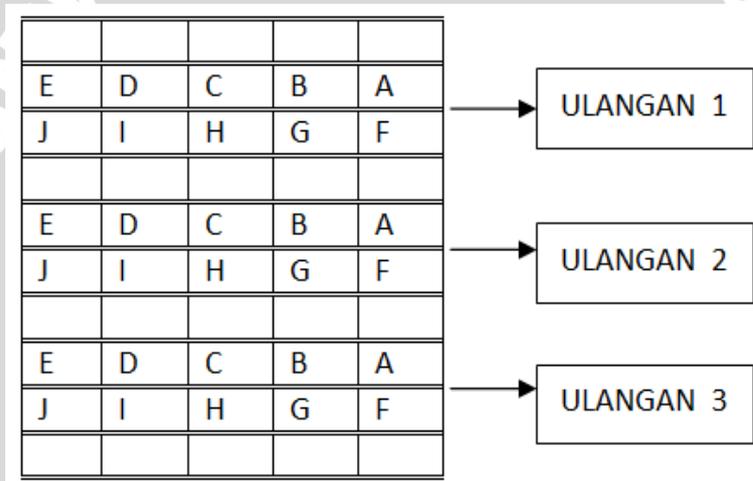
1. Uji antagonis PGPR(*P. fluorescens*, *B. subtilis* dan *P. fluorescens* + *B. subtilis*) terhadap pertumbuhan *S. rolfsii* secara *in vitro*.
 - a) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - b) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - c) *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - d) *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - e) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - f) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - g) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - h) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - i) Kontrol dengan aquadest pada patogen *S. rolfsii*

Pengamatan dilakukan sehari setelah patogen diberikan yaitu pada jam 07.00,12.00, dan jam 16.00. pengamatan dilakukan selama 3 hari.

2. Uji penghambatan penyakit rebah kecambah dengan PGPR (*P. fluorescens*, *B. subtilis* dan *P. fluorescens* + *B. subtilis*) secara *in vivo*. Pengujian *in vivo* sebagai berikut:
 - a) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - b) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - c) *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - d) *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*
 - e) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfsii*

- f) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfisii*
- g) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan 10^9 cfu/ml pada patogen *S. rolfisii*
- h) *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml dan *B. subtilis* dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml pada patogen *S. rolfisii*
- i) Kontrol dengan aquadest pada patogen *S. rolfisii*
- j) Kontrol dengan aquadest tanpa patogen *S. rolfisii*

Pengujian secara *in vivo* dilakukan dengan metode penelitian RAK. Denah metode penelitian RAK ditunjukkan pada Gambar 3:



Gambar 3. Denah Tray

Aplikasi PGPR diberikan pada benih selama 30 menit sebelum tanam. Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Interval pengamatan dilakukan setiap hari sekali setelah metode pengujian antagonis dilakukan.

3.4 Penyiapan Penelitian

Penyiapan penelitian ini meliputi serangkaian kegiatan sebagai berikut: penyiapan inokulum jamur *S. rolfisii*, penyiapan inokulum PGPR (*P. fluorescens* dan *B. subtilis*), penyiapan media tanam *in vivo*, dan penyiapan benih kedelai dengan PGPR.

3.4.1 Penyiapan Inokulum Jamur *S. rolfii*

Penyiapan inokulum meliputi pembuatan medium, isolasi jamur dan perbanyakan jamur. Cara pembuatan media padat *Potato Dextrose Agar* (PDA) atau *Potato Sucrose Agar* (PSA) adalah sebagai berikut. Kentang 200 g yang telah diiris menjadi sebesar potongan dadu direbus dengan 800 ml aquades sampai kentang lunak. Air rebusan tersebut disaring dan ditambahkan gula *dextrose* (untuk membuat PDA) atau *sukrosa* (untuk membuat PSA) @ 20 g dan aquades sampai 1 ℓ, lalu dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu dituang ke dalam botol kaca dan didiamkan hingga dingin. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu dituangkan kedalam botol kaca kecil yang sudah steril dan simpan sampai dingin (Achmad, 2004).

Jamur di isolasi dengan cara memotong permukaan batang tanaman kedelai yang terinfeksi dari lapang. Ciri-ciri batang kedelai yang terinfeksi *S. rolfii* menurut Semangun (2004), adalah pada pangkal batang dan permukaan tanah di dekatnya terdapat benang-benang jamur berwarna putih seperti bulu. Benang-benang ini kemudian membentuk sklerotium, atau gumpalan benang, yang mula-mula berwarna putih, akhirnya menjadi coklat seperti biji sawi dengan garis tengah 1-1,5 mm. Isolasi jamur pada batang kedelai yang terserang dilakukan dengan cara mengisolasi sklerotia pada media PDA sebagai medium tumbuh, selanjutnya diinkubasi selama 5 hari pada suhu kamar. Jamur hasil isolasi, kemudian diamati secara makroskopis. Hasil pengamatan diidentifikasi.

Identifikasi dapat dilakukan melalui pengamatan sebagai berikut :Bentuk koloni : jamur *S. rolfii* membentuk koloni berwarna putih pada biakan awalnya, selanjutnya berwarna kecoklatan pada biakan yang sudah tua. Miselium *S. rolfii* berwarna putih berserat kapas (Semangun, 2004).

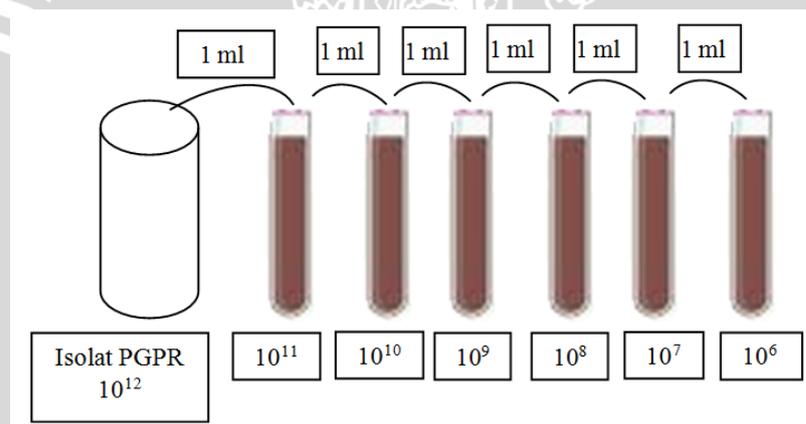
Jamur yang sudah teridentifikasi dengan benar sesuai literatur kemudian dilakukan purifikasi atau pemurnian. Pemurnian dengan cara mengambil jamur dalam media isolasi dan dipindahkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media PDA baru sehingga diperoleh biakan murni jamur patogen. Biakan murni hasil isolasi Jamur *S. rolfii* diperbanyak dalam medium PDA dan diinkubasikan

pada suhu kamar. Perbanyakan ini dapat digunakan untuk inokulum uji antagonis secara *in vitro* dan *in vivo*. Patogen yang digunakan untuk uji antagonis adalah patogen yang sudah diinkubasi selama 5 hari dari isolasi perbanyakan.

3.4.2 Penyiapan Inokulum PGPR

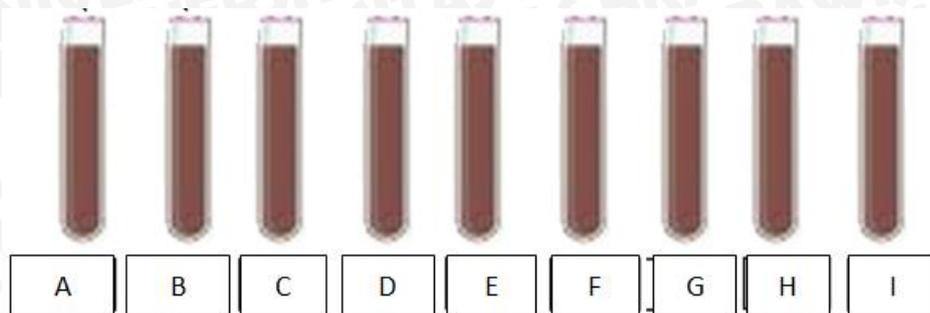
Isolat PGPR yang didapatkan dari koleksi Universitas Brawijaya dengan kode UB_APf 1 dan UB_ABs 1 yang sudah berkonsentrasi 10^{12} sebanyak 100 ml *aquadest* steril.

Perlakuan pengujian antagonis PGPR dilakukan pengenceran suspensi isolat. Pengenceran suspensi isolat pada umumnya dilakukan dengan teknik pengenceran berseri (*series of dilution*). Teknik pengenceran berseri dapat ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Teknik Pengenceran Berseri.

Pengenceran berseri dengan mengambil 1 ml isolat PGPR yang ditambah 9 ml *aquadest* steril dalam tabung reaksi pertama lalu homogenkan, kemudian mengambil 1 ml dari tabung reaksi pertama lalu tabung reaksi ke-2 yang ditambah 9 ml *aquadest* steril, lakukan sampai 10^6 . Konsentrasi perlakuan dibuat dari pengenceran yang sudah dibuat sehingga mendapatkan seperti Gambar 5.



Gambar 5. Suspensi Perlakuan

3.4.3 Penyiapan Media Tanam *In Vivo*

Menurut Khalimi (2009), media tanam untuk perlakuan adalah tanah dan kompos (2:1), sehingga membutuhkan tanah sebanyak 30 kg dan kompos 15 kg. Sebelum media digunakan, media disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan uap panas (*autoklave*) selama 30 menit. Tanah dikering anginkan. Media tanam dimasukkan ke dalam tray sesuai denah perlakuan. Setelah itu pembuatan tanah endemik *S. rolfsii* dengan cara isolat jamur *S. rolfsii* yang berumur 5 hari dalam cawan media dilakukan pengoblongan dengan *cockborer*. Setiap lubang tray diisi 2 potongan yang kemudian diinkuasi selama 5 hari.

3.4.4 Penyiapan Perlakuan Benih Kedelai Dengan PGPR

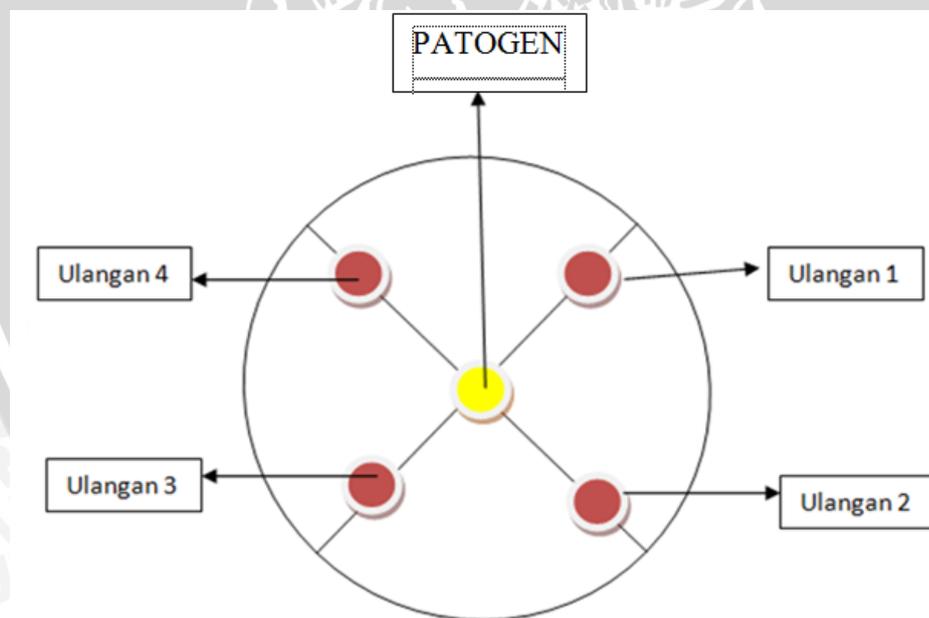
Menurut Khalimi (2009), perlakuan benih dengan PGPR dilakukan untuk pengolonian PGPR seawal mungkin pada akar, sehingga akan mencegah pengolonian akar oleh mikroba patogen. Sebanyak 25 benih kedelai yang akan digunakan untuk setiap ulangan. Setiap perlakuan terdapat 3 ulangan percobaan. Benih direndam di dalam suspensi perlakuan selama kurang lebih 30 menit. Benih kedelai yang telah diberi suspensi perlakuan selanjutnya ditanam pada tray yang telah diisi media tanah endemik patogen berumur 5 hari.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi: uji antagonis PGPR terhadap pertumbuhan *S. rolfsii* secara *in vitro* dan uji penghambatan penyakit rebah kecambah dengan PGPR secara *in vivo*.

3.5.1 Uji Antagonis PGPR Terhadap Pertumbuhan *S. rolfsii* Secara *In Vitro*

Menurut Khalimi (2009), uji antagonis PGPR terhadap *S. rolfsii* secara *in vitro* dilakukan dengan persiapan media tumbuh dengan menuangkan 10 ml media PDA tanpa anti bakteri yang masih encer ($\pm 50^{\circ}\text{C}$) pada cawan petri kemudian digoyang-goyangkan secara melingkar sampai rata di seluruh permukaan cawan petri dan ditunggu sampai padat. Pada bawah cawan media PDA di garis vertikal dan horizontal sehingga terbagi 4 bagian. Jamur *S. rolfsii* diinokulasikan pada media PDA dan diletakkan pada titik potong garis di cawan petri, kemudian perlakuan PGPR diinokulasikan dengan kertas saring yang dicelupkan ke suspensi perlakuan. Kertas saring diletakkan pada 4 posisi mengapit jamur patogen dengan masing-masing berjarak 2 cm dari tepi cawan petri (Gambar 6). PGPR diisolasi terlebih dahulu selama 2 hari sebelum patogen diletakan atau ditumbuhkan dalam media uji antagonis.



Gambar 6. Uji Antagonis Secara *In Vitro*

Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan sehari setelah patogen diberikan yaitu pada jam 07.00,12.00, dan jam 16.00. Pengamatan dilakukan selama 3 hari.

3.5.2 Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Dengan PGPR

Secara *In Vivo*

Perlakuan benih dengan PGPR akan menghasilkan pembentukan koloni PGPR sedini mungkin sehingga dapat mencegah pembentukan koloni patogen pada akar (Khalimi, 2009). Menurut Black (1999), siklus hidup bakteri pada fase adaptasi (lag) bakteri umum terjadi pada menit ke 0-30, fase reproduksi pada menit ke 60-90. Oleh karena itu benih direndam dengan suspensi perlakuan selama kurang lebih 30 menit agar bakteri sudah dapat beradaptasi dengan benih, kemudian benih ditanam dalam tray yang sudah berisi media tanam endemik berumur 5 hari. Setiap lubang tray ditanam 1 benih.

Untuk melihat uji antagonis dilakukan pengamatan setiap hari selama 14 Hari Setelah Tanam (HST).

3.6 Variabel Yang Diamati

Variabel pengamatan yang dilakukan secara *in vitro* adalah pengukuran daya hambat. Pengukuran daya hambat didapatkan dari jari-jari koloni kontrol dan jari-jari koloni perlakuan. Pengamatan *in vitro* dilakukan selama 3 hari.

Variabel pengamatan yang dilakukan secara *in vivo* adalah persentase perkecambahan benih kedelai, persentase kejadian penyakit rebah kecambah dan efikasi bakteri antagonis. Interval pengamatan dilakukan setiap hari sekali selama 14 Hari Setelah Tanam (HST).

3.6.1 Pengukuran Daya Hambat Secara *In Vitro*

Antagonisme merupakan kondisi suatu organisme mengeluarkan satu atau lebih metabolit yang berpengaruh negatif terhadap organisme lain (Jackson, 1970). Mekanisme antibiotik inilah yang banyak dimiliki oleh beberapa bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen penyebab penyakit pada tanaman.

Menurut (Johnson *et al.*, 1960), kriteria yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi efek antagonis suatu mikroorganisme terhadap patogen penyebab penyakit, antara lain :

- a. Terbentuknya zona penghambat antara pertemuan kedua koloni dalam suatu cawan petri percobaan. Jika pertumbuhan kedua koloni tersebut terhenti. Hal ini menunjukkan penghambatan pertumbuhan yang mutualistik.
- b. Setelah kedua koloni bertemu dalam suatu cawan petri percobaan, hifa patogen mengalami penghancuran, sedangkan antagonis terus tumbuh ke atas koloni patogen.
- c. Terjadinya parasitisme yang sebenarnya oleh hifa antagonis terhadap hifa patogen.
- d. Terdapat perbedaan luas pertumbuhan koloni patogen.

Menurut Aini *et al.*, (2009), penentuan persentase daya hambat mikroba antagonis ditentukan dengan rumus:

$$\text{Daya Hambat} = \frac{a - b}{a} \times 100 \%$$

Keterangan : a. jari-jari koloni pada kontrol

b. jari-jari koloni pada perlakuan

3.6.2 Persentase Perkecambahan Benih Kedelai

Persentase perkecambahan dihitung pada 7 hari setelah tanam (HST) dengan mengamati perbandingan antara jumlah benih yang tumbuh dibagi dengan jumlah keseluruhan benih. Menurut Chamzurni *et al.*, (2011), perhitungan persentase perkecambahan benih menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase Perkecambahan (P)} = \frac{\text{benih yang tumbuh}}{\text{jumlah benih keseluruhan}} \times 100\%$$

3.6.3 Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah

Pengamatan kejadian penyakit rebah kecambah dilakukan setiap hari selama 14 HST. Penelitian ini dilakukan pada pagi hari (06.30-09.00), dilakukan satu kali dalam sehari. Menurut Riska *et al.*, (2012), pengamatan kejadian penyakit dilakukan dengan menghitung persentase tanaman terserang dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persentase Kejadian Penyakit (P)} = \frac{\text{jumlah tanaman sakit}}{\text{seluruh jumlah tanaman}} \times 100\%$$

3.6.4 Efikasi Bakteri Antagonis

Selain variabel pengamatan tersebut dihitung juga persentase penekanan intensitas penyakit yang dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Menurut Hanudin *et al.*, (2012), bahwa persentase penekanan penyakit sebagai bahan pertimbangan kriteria efikasi bakteri antagonis yang dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Persentase Penekanan (PP)} = \frac{\text{Kontrol} - \text{Perlakuan}}{\text{Kontrol}} \times 100\%$$

3.7 Analisis Data

Hasil pengamatan akan dianalisa secara statistik dengan menggunakan ANOVA dan apabila berbeda nyata akan diuji lanjut dengan Duncan taraf 5% pada variabel pengamatan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

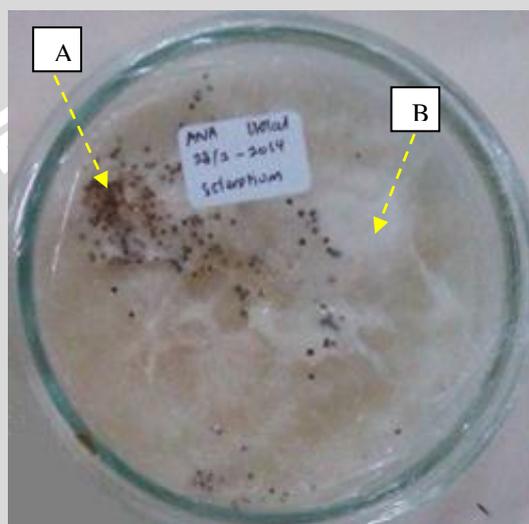
4.1 Isolasi Jamur *Sclerotium rolfsii*

Jamur *S. rolfsii* yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil isolasi dari tanaman yang terinfeksi pada bagian batang tanaman kedelai dari daerah Bogor (Gambar 7). Pengamatan di lapangan menunjukkan gejala nekrotik akibat serangan patogen *S. rolfsii* yang menjadi penyebab penyakit rebah kecambah. Pada tanaman yang mulai memasuki fase pengisian polong ini, ditemukan tanda-tanda penyakit rebah kecambah seperti pada bagian batang terdapat miselium berwarna putih dan halus, sklerotium yang mirip biji sawi, daun yang menguning, dan tanaman yang sudah mulai melayu (Gambar 7). Hal ini sesuai dengan pendapat Semangun (1993), bahwa tanaman yang terserang patogen ini akan layu menguning perlahan-lahan. Pada pangkal batang terdapat benang-benang jamur berwarna putih seperti bulu. Benang-benang ini kemudian membentuk sklerotium atau gumpalan benang, yang mula-mula berwarna putih dan akhirnya menjadi coklat seperti biji sawi (Gambar 7). Dalam keadaan yang sangat lembab, cendawan juga dapat menyerang daun, tangkai dan polong (Semangun, 2004).



Gambar 7. Tanaman Kedelai Terserang Penyakit Rebah Kecambah (Menunjukkan Gejala Nekrotik Dan Tanda Miselium Jamur *S. rolfsii*, Pada Anak Panah)

Tanaman yang terinfeksi kemudian dibuat isolat dalam media PDA yang sebelumnya tanaman dipotong kecil lalu disterilkan dengan direndam kloroks dan air. Potongan tanaman yang sudah steril dimasukkan ke dalam botol yang berisi media PDA, lalu diinkubasi selama 5 hari. Purifikasi pada cawan petri dilakukan dari hasil isolasi. Pada hasil purifikasi terdapat miselium yang berwarna putih dan sklerotia yang berwarna coklat menyerupai biji sawi. Hasil purifikasi diperbanyak pada media PDA yang lain untuk uji antagonis (Gambar 8).



Gambar 8. Hasil Purifikasi Jamur *S. rolfii* (A) Sklerotia (B) Miselium *S. rolfii*

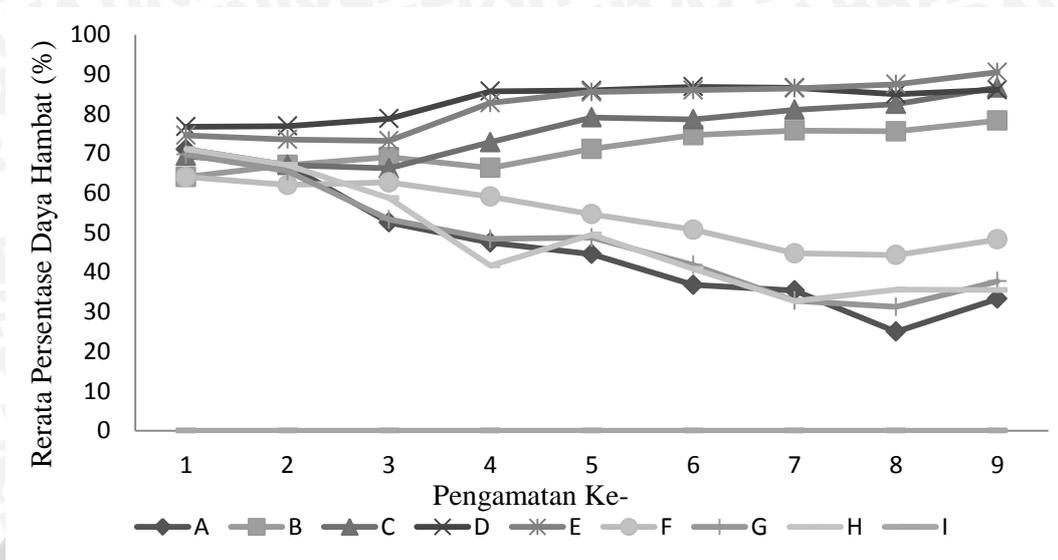
Benih yang dipakai dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas Burangrang yang didapat dari Balai Penelitian Kacang-Kacangan Dan Umbi-umbian, Kedalpayak, Malang. Benih ini memiliki deskripsi yang dilampirkan pada Lampiran 8.

4.2 Uji Antagonis PGPR Terhadap Pertumbuhan *S. rolfii* Secara *In Vitro*

Berdasarkan analisa ragam (Lampiran 1), menunjukkan bahwa perlakuan PGPR memberikan hasil berbeda nyata yang tinggi terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfii*. Daya hambat merupakan salah satu kriteria untuk mengidentifikasi efek antagonis suatu mikroorganisme terhadap patogen. Data rerata persentase daya hambat PGPR terhadap pertumbuhan *S. rolfii* secara *in vitro* dapat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Persentase Daya Hambat PGPR Terhadap Pertumbuhan *S. rolfsii* Secara *In Vitro*

Perlakuan	Komposisi Perlakuan	Rerata Persentase Daya Hambat(%)								
		Ke- 1	Ke-2	Ke-3	Ke-4	Ke-5	Ke-6	Ke-7	Ke-8	Ke-9
A	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	71.11 cd	67.11 bc	52.59 b	47.53 bc	44.62 b	36.82 b	35.41 b	25 b	33.33 b
B	UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	64.10 b	67.11 bc	69.07 cde	66.39 de	71.19 d	74.64 e	75.82 d	75.62 e	78.33 d
C	UB_APf 1 (10 ⁹ konsentrasi cfu/ml)	69.36 bc	67.11 bc	66.28 bcde	72.89 ef	79.11 e	78.64 e	81.07 e	82.50 f	86.66 e
D	UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	76.79 d	76.93 d	78.81 e	85.74 f	85.96 f	86.87 f	86.63 e	85 f	86.11 e
E	UB_APf 1 (konsentrasi 10 cfu/ml ⁶) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	74.61 cd	73.57 cd	73.23 de	82.81 f	85.53 f	86.04 f	86.45 e	87.50 f	90.55 e
F	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	64.10 b	62.09 b	62.73 bcd	59.13 cd	54.69 c	50.78 d	44.83 c	44.37 d	48.33 c
G	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	69.78 bc	65.55 bc	53.38 bc	48.43 bc	48.76 b	41.87 c	32.83 b	31.25 c	37.77 b
H	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	71.11 cd	67.11 bc	58.78 bc	41.69 b	49.53 b	40.88 bc	32.73 b	35.62 c	35.55 b
I	<i>S. rolfsii</i> tanpa PGPR	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a



Gambar 9. Grafik Rerata Persentase Daya Hambat

Pada Gambar 9 menunjukkan bahwa rerata persentase daya hambat pada perlakuan B, C, D, dan E terus meningkat dari pengamatan ke-1 sampai pengamatan ke-9. Pada perlakuan-perlakuan ini membuktikan bahwa PGPR dapat menghambat pertumbuhan *S. rolf sii* sehingga selisih pertumbuhan hifa *S. rolf sii* pada perlakuan kontrol menjadi besar. PGPR memiliki mekanisme *bioprotectans* yang menghasilkan enzim penghambat pertumbuhan jamur *S. rolf sii* sehingga pertumbuhan hifa menjadi abnormal dan terhambat. Rerata persentase daya hambat dari pengamatan ke-1 sampai ke-9 mengalami penurunan pada perlakuan A, F, G dan H. Penurunan persentase daya hambat ini dapat disebabkan jumlah konsentrasi bakteri yang sedikit pada perlakuan A sehingga enzim antagonis yang dihasilkan sedikit. Pada perlakuan F, G, dan H yang merupakan perlakuan penggabungan dengan konsentrasi berbeda pada setiap bakterinya. Perlakuan-perlakuan ini kurang menghambat dikarenakan adanya daya saing antara masing-masing bakteri dengan jumlah konsentrasi yang tinggi sehingga terjadi kompetisi ruang dan nutrisi.

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan I berbeda nyata dengan semua perlakuan PGPR. Perlakuan I membuktikan bahwa perlakuan kontrol dengan *aqudest* steril tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur *S. rolf sii*, tetapi

pada perlakuan lainnya yang merupakan perlakuan dengan PGPR dapat memberikan daya hambat pada pertumbuhan jamur *S. rolf sii*. Pada perlakuan-perlakuan ini membuktikan bahwa PGPR dapat menghambat pertumbuhan jamur *S. rolf sii* sehingga selisih pertumbuhan hifa *S. rolf sii* pada perlakuan dengan kontrol (perlakuan I) menjadi besar. PGPR yang memiliki mekanisme *Bioprotectans* menghasilkan enzim-enzim yang menghambat pertumbuhan jamur *S. rolf sii* sehingga pertumbuhan hifa menjadi abnormal dan terhambat. Pada penelitian *in vitro*, antagonisme bakteri PGPR terhadap *S. rolf sii* secara visual nampak sebagai zona bening yang terbentuk di sekitar koloni isolat PGPR dalam cawan. Zona tersebut mencerminkan adanya suatu mekanisme antibiosis dari senyawa yang terdifusi dalam media, dan bersifat anti jamur sehingga menghambat pertumbuhan koloni *S. rolf sii*.

Perlakuan A dan D yang merupakan UB_APf 1 memberikan nilai rata-rata persentase daya hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan B dan D yang merupakan UB_ABs 1. Persentase daya hambat oleh perlakuan A sebesar 33,33% sedangkan persentase daya hambat perlakuan B adalah 78,33%. Keberhasilan pengendalian hayati sangat dipengaruhi oleh daya antagonis atau daya hambat yang dimiliki suatu isolat, atau jumlah inokulum yang digunakan, dan cara aplikasinya (Cook, 1996). Menurut pendapat Aini *et al.*, (2013), perbedaan hasil nilai rata-rata persentase daya hambat disebabkan oleh *B. subtilis* yang mampu menghasilkan enzim degradatif makro molekul yang bisa menghancurkan dinding sel jamur, seperti protease (intraseluler) dan beberapa enzim yang disekresikan pada medium seperti *levansukrase*, *glukanase*, *amylase*, *xilanase*, *kitinase* dan *protease*. Menurut penelitian Susilowati (2014), menunjukkan hasil sebelas isolat *Pseudomonas sp.* CRB dapat menghambat pertumbuhan cendawan patogen tular tanah secara *in vitro*. Di antara isolat-isolat tersebut, 7 isolat menghasilkan siderofor, 2 isolat menghasilkan kitinase, dan 4 isolat menghasilkan hidrogen sianida. Hasil penelitian Aini *et al.*, (2013), diketahui bahwa persentase penghambatan pertumbuhan *C. Gloeosporioides* oleh *B. subtilis* sampai pengamatan hari ketujuh lebih besar dibandingkan penghambatan oleh *P. fluorescens*. Persentase penghambatan oleh *B. subtilis*

sebesar 52,23% sedangkan persentase penghambatan oleh *P. fluorescens* sebesar 45,10%. *B. subtilis* mampu menghasilkan enzim degradatif makro molekul yang bisa menghancurkan dinding sel jamur, seperti protease (intraseluler) dan beberapa enzim yang disekresikan pada medium seperti levansukrase, *glukanase*, *amylase*, *xilanase*, *kitinase* dan protease.

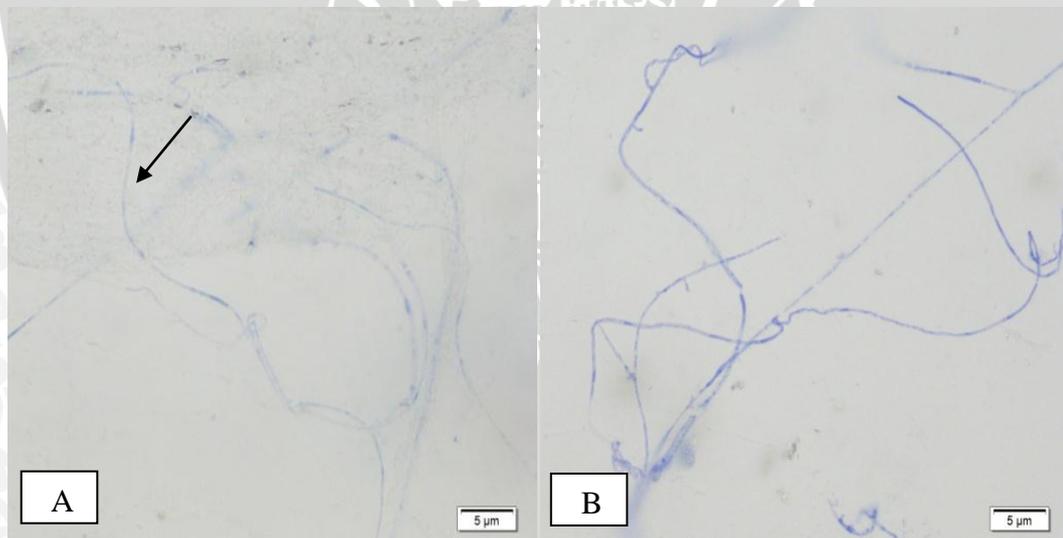
Hasil pengamatan pada perlakuan F, G, dan H mendapatkan nilai rata-rata persentase daya hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan B, C, dan D. Hal ini dikarenakan penggabungan bakteri memberikan kompetisi ruang dan nutrisi sehingga dalam menghambat *S. rolf sii* lebih kecil. Menurut pendapat Soenartiningih (2007), bahwa pengendalian penyakit layu bakteri dengan menggunakan bakteri *P. flourescens* yang bersifat antagonis lebih efektif dibanding dengan inokulasi *Baccillus polymixa* Fu 6, tetapi apabila diinokulasi dengan kedua bakteri tersebut ternyata efektifitasnya lebih rendah hal ini karena adanya kompetisi antara *Baccillus polymixa* Fu 6 dan *P. flourescens*, walaupun masih terjadi penekanan jika dibanding dengan kontrol. Menurut Alexsander (1997), isolat *Bacillus spp.* dan *P. flourescens* yang diuji terutama dalam bentuk kombinasi mempunyai kemampuan antagonistik yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen. Kemampuan antagonistik kedua strain tersebut dalam menekan perkembangan penyakit dapat dihubungkan dengan mekanisme penghambatan oleh senyawa antibiosis, seperti antibiotik yang dihasilkan kedua strain tersebut. Penggabungan *Pseudomonas sp* dengan *Bacillus sp* juga dapat melarutkan fosfat yang terikat dengan unsur lain menjadi tersedia bagi tanaman karena kemampuannya dalam menghasilkan enzim fosfatase dan fitase.

Pada perlakuan A & C dan B & D yang merupakan bakteri yang sama tetapi menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan jamur *S. rolf sii*. Pada perlakuan A dan perlakuan C dengan konsentrasi 10^6 mendapatkan nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan B dan perlakuan D yang konsentrasinya adalah 10^9 . Perbedaan konsentrasi bakteri mempengaruhi nilai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. rolf sii*. Menurut Yuliar (2008), bahwa jumlah bakteri yang semakin banyak akan menghasilkan jumlah metabolit

sekunder yang semakin banyak pula. Hasil percobaan Yuliar (2008), menunjukkan daya hambat terbesar (95,67%) dihasilkan oleh isolat yang memiliki jumlah bakteri terbanyak (1195×10^6). Hasil penelitian menurut Rahayu (2008), konsentrasi bakteri *P. fluorescens* yang diaplikasikanyaitu 10^5 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, dan 10^9 cfu/ml. Penelitian dari Rahayu (2008), didapatkan empat isolat *P. fluorescens* asal rizosfer tanaman kedelai, yang memiliki daya antagonis tinggi terhadap *S. rolfisii*, dengan daya hambat 56-62%.

4.2.1 Interaksi PGPR Terhadap Pertumbuhan *S. rolfisii*

Pengamatan mikroskopis untuk melihat interaksi pertumbuhan hifa patogen terhadap perlakuan PGPR. Pengamatan ini dilakukan pada pengamatan ke-9 (pengamatan terakhir) dihari ketiga menggunakan mikroskop OLYMPUS CX21. Penghambatan yang dilakukan oleh isolat PGPR mengakibatkan pertumbuhan abnormal pada hifa *S. rolfisii*. Aktifitas antagonis bakteri tersebut pada perlakuan yang digunakan pada penelitian ini menyebabkan hifa *S. rolfisii* menjadi abnormal (Gambar 10).



Gambar 10. Interaksi Terhadap Hifa *S. rolfisii* (A) Pada Anak Panah, Hifa Terputus Pada Perlakuan PGPR (B) Perlakuan Kontrol,

Pada Gambar 10 menunjukkan bahwa perlakuan dengan PGPR menghasilkan hifa pada patogen menjadi terputus-putus sehingga pada perlakuan uji

antagonis PGPR terhadap pertumbuhan *S. rolfii* secara *in vitro* dapat menghambat sebesar 33,33% untuk perlakuan A dan 86,87% pada perlakuan C. Pada perlakuan B dapat menghambat pada uji antagonis secara *in vitro* sebesar 78,33% untuk perlakuan B dan 86,66% untuk perlakuan D. Pada perlakuan E, F, G, dan H yang merupakan kombinasi penggabungan bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* membuat hifa patogen menjadi membengkak, memendek dan terputus-putus. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Malinda *et al.*, (2014), bahwa bentuk hifa *S. rolfii* setelah uji antagonis dengan beberapa bakteri yaitu, *Bacillus sp.* BK13, *Enterobacter sp.* PB17, *Enterobacter sp.* BK15, *Enterobacter sp.* KR05, *Enterobacter cloacae* LK08, dan *Bacillus sp.* BK17 menghasilkan hifa membengkak dan memendek, hifa menggulung, hifa terputus, hifa kerdil, dan hifa mengecil. Bakteri-bakteri ini mempunyai komponen kitin pada dinding selnya, sehingga mengeluarkan enzim yang dapat menguraikan dinding sel jamur maupun hama yang mempunyai komponen kitin. Menurut Fernando *et al.*, (2005), mekanisme bioprotectants pada PGPR memproduksi antibiotik, siderofore, enzim kitinase dan sianida yang dapat memberikan efek terhadap hifa patogen atau pertumbuhan patogen.

4.3 Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Dengan PGPR Secara *In Vivo*

4.3.1 Persentase Perkecambahan Benih Kedelai

Penelitian ini menggunakan metode RAK dengan 3 kelompok dan setiap kelompok terdapat 10 perlakuan dengan 25 benih per kelompok. Pengamatan uji antagonis dengan aplikasi PGPR secara *in vivo* dilakukan dengan pengamatan persentase perkecambahan benih kedelai dan persentase kejadian penyakit rebah kecambah.

Hasil analisa ragam yang ditunjukkan pada Lampiran 2 menyatakan bahwa pada perlakuan PGPR memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap rerata persentase perkecambahan benih kedelai. Rerata persentase daya berkecambah benih kedelai ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Persentase Perkecambahan Benih Kedelai

Perlakuan	Komposisi Perlakuan	Rerata DB (%)
A	UB_APf 1 (konsentrasi 10^6 cfu/ml)	93.33 cd
B	UB_ABs 1 (konsentrasi 10^6 cfu/ml)	81.33 b
C	UB_APf 1 (10^9 konsentrasi cfu/ml)	93.33 cd
D	UB_ABs 1 (konsentrasi 10^9 cfu/ml)	84 bc
E	UB_APf 1 (konsentrasi 10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10^6 cfu/ml)	85.33 bc
F	UB_APf 1 (konsentrasi 10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10^9 cfu/ml)	87.67 bc
G	UB_APf 1 (konsentrasi 10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10^9 cfu/ml)	88 bcd
H	UB_APf 1 (konsentrasi 10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10^6 cfu/ml)	81.33 b
I	<i>S. rolfisii</i> tanpa PGPR	60 a
J	Aquadest tanpa <i>S. rolfisii</i> dan PGPR	97.33 d

Pada penelitian ini dengan perendaman PGPR menghasilkan daya tumbuh tanaman kedelai paling baik. Hal ini dapat ditunjukkan pada Tabel 3, bahwa persentase daya berkecambah benih pada perlakuan I sangat berbeda nyata dengan semua perlakuan perendaman PGPR. Pada perlakuan I yang merupakan perlakuan kontrol positif dengan nilai yang terendah yaitu 60%. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Khalami (2009), bahwa perendaman benih dengan PGPR menghasilkan pertumbuhan tanaman kedelai yang lebih cepat dan subur. PGPR juga secara signifikan mampu meningkatkan tinggi tanaman, jumlah cabang, bobot basah dan kering, dan bobot kering biji (Gambar 11 b). Pada perlakuan I, banyak benih yang tidak berkecambah dikarenakan benih terserang patogen di dalam tanah (Gambar 11 a).

Pada perlakuan B, D, E, F, G, dan H tidak berbeda nyata terhadap nilai daya berkecambah. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi dosis bakteri maka jumlah sel bakteri semakin tinggi sehingga jumlah antibiotik pengendali patogen jamur meningkat sesuai kenaikan dosis bakteri. Hasil percobaan Benny *et al.*, (2013), menunjukkan intensitas penyakit terendah pada perlakuan P3 sebesar 20,83 %. Strain *Bacillus spp.* dan *P. fluorescens*, di samping menghasilkan antibiosis juga mempunyai kemampuan yang tinggi dalam mengkolonisasi akar tanaman, sehingga strain tersebut mampu berkompetisi dalam ruang dan nutrisi

dengan patogen. Menurut Chrisnawati (2009), hal ini dikarenakan *Bacillus spp.* dan *P. fluorescens* mampu menggunakan berbagai substrat sebagai sumber nutrisi, dan mempunyai pertumbuhan yang jauh lebih cepat dibandingkan bakteri patogen, sehingga dapat mempertahankan populasi secara optimal di akar tanaman. Kompetisi ruang antara *Bacillus spp.* dan *P. fluorescens* dengan patogen terjadi melalui pembatasan perkembangan dan penyebaran sekunder patogen oleh *Bacillus spp.* dan *P. fluorescens*, sehingga terdistribusi secara luas sepanjang sistem perakaran. Di samping itu kompetisi nutrisi juga terjadi sebagai akibat terjadinya peningkatan populasi yang tinggi dari *Bacillus spp.* dan *P. fluorescens* terutama dalam menggunakan sumber karbon, nitrogen, dan Fe^{3+} untuk pertumbuhan dan aktivitasnya yang dapat mengakibatkan sumber nutrisi yang tersedia untuk kebutuhan menjadi terbatas.



Gambar 11. Daya Berkecambah Pada Tanaman Kedelai (A) Perlakuan Kontrol Tanpa PGPR (B) Perlakuan PGPR

Pada perlakuan A dan C tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan I, B, dan H. Jika dibandingkan dengan perlakuan I maka perlakuan A dan C sangat baik dalam meningkatkan perkecambahan benih kedelai karena kelompok *Pseudomonas sp.* menghasilkan Ca^{2+} yang berguna sebagai pengendalian biologi dan bagi pertumbuhan tanaman (Kloeper, 1991).

Pada perlakuan A dan C merupakan bakteri *P. fluorescens* yang mendapatkan nilai lebih tinggi dibandingkan perlakuan B yang merupakan bakteri *B. subtilis* yaitu 81.33%. Hal ini sesuai pernyataan Majid *et al.*, (2013),

bahwa keunggulan bakteri *P. fluorescens* yang mempunyai kemampuan lebih baik sebagai pengkoloni akar dibandingkan dengan *Bacillus sp.* dan punya kemampuan tumbuh pada suhu tanah yang lebih rendah, namun masalahnya adalah isolat *Pseudomonas* agak spesifik terhadap inang dan atau patogen sasaran.

Perlakuan J memiliki persentase daya berkecambah yang sangat tinggi yaitu sebesar 97.33%. Hal ini dikarenakan pada perlakuan J tidak diaplikasikan patogen maupun PGPR, sehingga benih dapat tumbuh dengan baik tanpa adanya gangguan patogen penyakit.

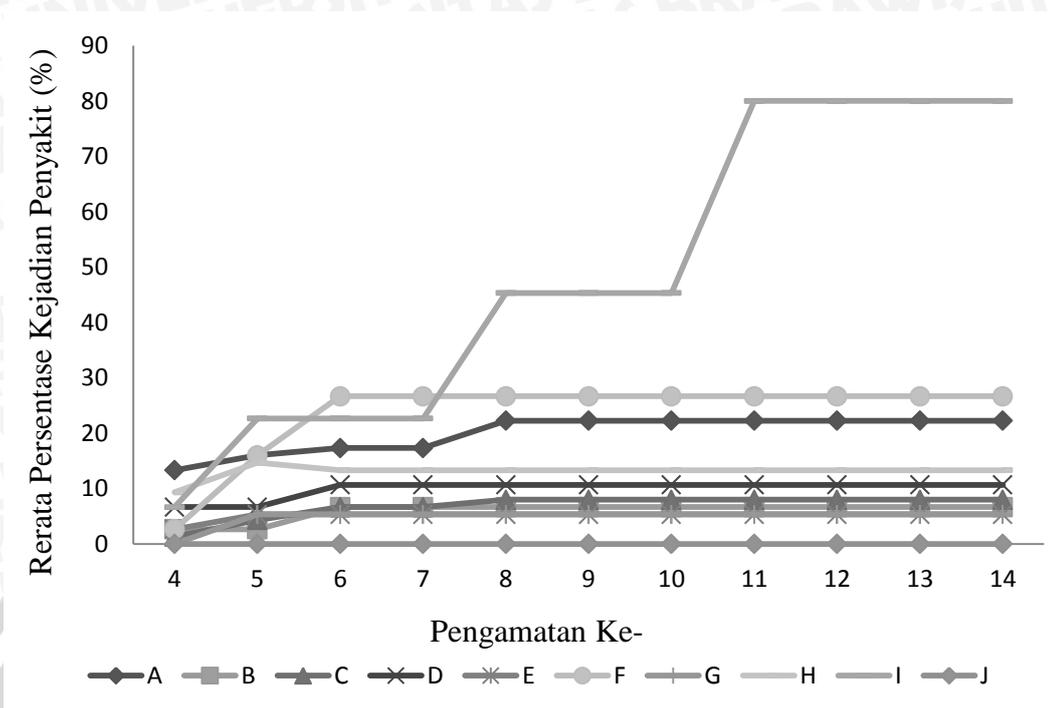
4.3.2 Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah

Berdasarkan hasil analisa ragam yang ditunjukkan pada Lampiran 3 bahwa perlakuan PGPR menunjukkan hasil berbeda nyata yang besar terhadap rerata persentase kejadian penyakit rebah kecambah. Hasil rerata persentase kejadian penyakit rebah kecambah ditunjukkan pada Tabel 4.

Pada Tabel 4, hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada perlakuan PGPR berbeda nyata dengan perlakuan kontrol negatif. Hasil ini membuktikan bahwa PGPR dapat menghambat penyakit rebah kecambah. Nilai rerata persentase kejadian penyakit yang dihasilkan oleh perlakuan PGPR sangat kecil jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol negatif yang mendapatkan 80%. Menurut Fernando *et al.*, (2005), bahwa sistem mekanisme PGPR yaitu *bioprotectants* memberikan efek antagonis terhadap patogen tanaman melalui beberapa cara yaitu produksi antibiotik, siderofore, enzim kitinase, β -1,3-glucanase, sianida, parasitisme, kompetisi sumber nutrisi dan relung ekologi, menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik. Sistem mekanisme inilah yang membuat PGPR dapat menghambat penyakit rebah kecambah dari sedini mungkin. Pada Gambar 12 menunjukkan bahwa perlakuan I yang merupakan perlakuan kontrol membuat grafik yang terus meningkat sepanjang pengamatan dan mendapatkan nilai tertinggi sebesar 80%. Perlakuan kontrol tidak direndam dengan PGPR tetapi dengan aquadest sehingga benih tidak terlindungi saat di tanam dalam tray yang berisikan tanah endemik *S. rolf sii*. Pada perlakuan ini, banyak benih yang tidak tumbuh akibat terserang *S. rolf sii* di dalam tanah.

Tabel 4. Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah

Perlakuan	Komposisi Perlakuan	Pengamatan Rerata Kejadian Penyakit Rebah Kecambah (%)									
		Ke-5	Ke-6	Ke-7	Ke-8	Ke-9	Ke-10	Ke-11	Ke-12	Ke-13	Ke-14
A	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	16 c	17.33 bc	17.33 bc	22.67 bc						
B	UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	2.67 a	6.67 ab	6.67 ab	6.67 a						
C	UB_APf 1 (10 ⁹ konsentrasi cfu/ml)	4.33 a	6.67 ab	6.67 ab	8 ab						
D	UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	6.67 ab	10.67 ab								
E	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	5.33 a	5.33 ab	5.33 ab	5.33 a						
F	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	16 c	26.67 c								
G	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	5.33 a	5.33 ab	5.33 ab	5.33 a						
H	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	14.67 bc	13.33 abc								
I	<i>S. rolfsii</i> tanpa PGPR	22.67 c	26.67 c	26.67 c	45.33 d	45.33 d	45.33 d	80 d	80 d	80 d	80 d
J	Aquadest tanpa <i>S. rolfsii</i> dan PGPR	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a



Gambar 12. Grafik Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah

Pada perlakuan lainnya jika dibandingkan dengan kontrol menunjukkan hasil yang cukup jauh berbeda karena perlakuan lainnya mendapatkan persentase kejadian penyakit dibawah 30%. Menurut hasil penelitian dari Ganesan (2012), bahwa PGPR mengobati tanaman dengan menunjukkan penurunan kejadian penyakit, dan menunjukkan pertumbuhan yang kuat serta tampak sehat dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Pada perlakuan A mendapatkan nilai rerata persentase kejadian penyakit yang lebih tinggi yaitu 22,67% jika dibandingkan dengan perlakuan C yang mendapatkan 8%. Perlakuan A dan C merupakan aplikasi PGPR dari isolat UB_APf 1 yang berbeda jumlah konsentrasinya. Perlakuan A menggunakan konsentrasi yang lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan C. Kitinase yang dihasilkan *P. fluorescens* adalah salah satu enzim, yang menurunkan lapisan kitin di dinding jamur patogen. Menurut pendapat Widjayanti *et al.*, (2012) bahwa rendahnya tingkat kolonisasi dapat menyebabkan aktivitas agens biokontrol menurun. Hal ini dapat membuat perbedaan pada penghambatan penyakit rebah kecambah. Hal ini juga dibuktikan oleh Rahayu (2008), bahwa aplikasi Pf lewat

tanah dengan konsentrasi tinggi lebih baik pengaruhnya dalam menekan penyakit karena dapat menghambat pertumbuhan organ pembiakan patogen.

Pada perlakuan A jika dibandingkan dengan perlakuan B mendapatkan nilai yang lebih tinggi. Perlakuan A dan B terbukti juga pada hasil uji antagonis PGPR terhadap *S. rolfii* secara *in vitro* yang mendapatkan 33,33% untuk perlakuan A dan 78,33% untuk perlakuan B. Hasil ini membuktikan bahwa PGPR isolat dari UB_ABs 1 lebih dapat menghambat dari pada UB_APf 1. Menurut Sulistiani (2009), bahwa *B. subtilis* mampu menginduksi pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap penyakit melalui antibiosis, lisis, kompetisi, parasitisme, dan induksi ketahanan. Menurut Kloepper *et al.*, (2004) bahwa *B. subtilis* dapat membentuk endospora yang memiliki ketahanan yang sangat tinggi terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik sebagai struktur bertahan. Kelebihan inilah yang membuat PGPR isolat *B. subtilis* ini lebih dapat menghambat penyakit rebah kecambah.

Perlakuan nilai terkecil di dapat oleh perlakuan E dan G yaitu sebesar 5,33%. Perlakuan ini lebih efektif tetapi tidak berselisih jauh dengan perlakuan B, C, dan D. Perlakuan yang diberi perendaman PGPR menghasilkan zat antagonis yang membantu benih dalam menghambat terserangnya penyakit saat di dalam tanah endemik *S. rolfii* sehingga perlakuan-perlakuan ini terserang penyakit dibawah 30%. Hasil ini juga terbukti pada uji antagonis secara *in vitro* bahwa perlakuan B,C,D, dan E mendapatkan nilai persentase daya hambat yang tinggi yaitu diatas 75% pada pengamatan ke-9.

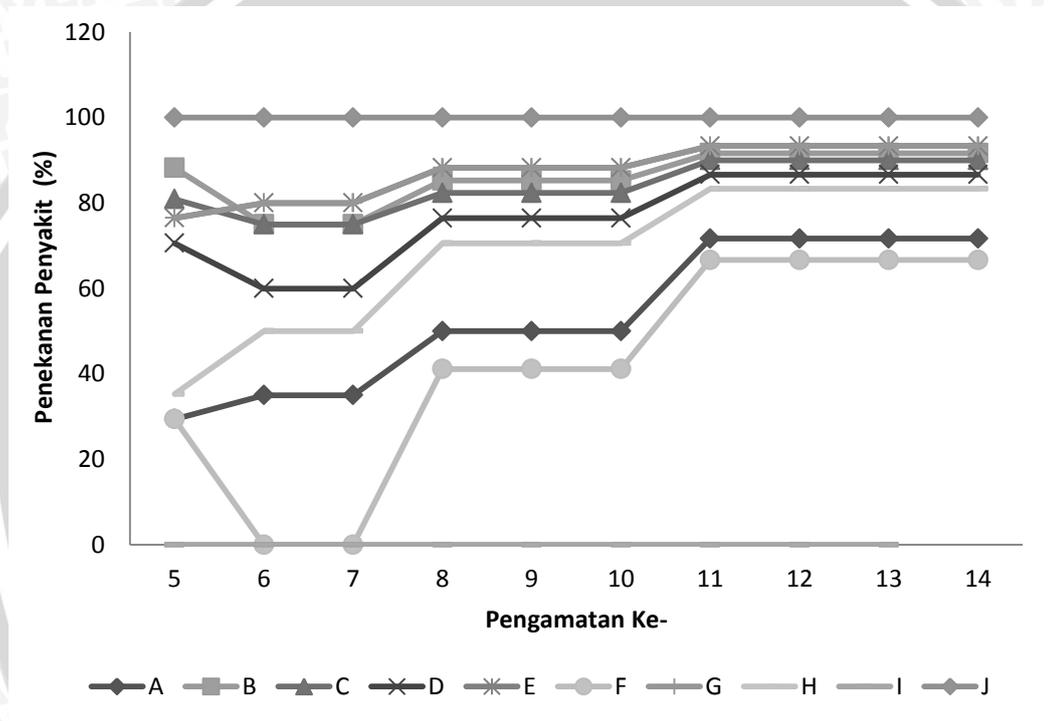
4.3.3 Efikasi Bakteri Antagonis

Hasil perhitungan efikasi bakteri antagonis ditunjukkan pada Tabel 5. Pada Gambar 13 menunjukkan hasil penekanan penyakit dari pengamatan ke-5 HST sampai ke-14 HST mengalami peningkatan pada semua perlakuan. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa dengan perlakuan perendaman PGPR selama 30 menit dapat meberikan efek penekanan penyakit *S. rolfii* di dalam *screen house*. Pada perlakuan E dan G mendapatkan nilai persentase penekanan penyakit tertinggi sebesar 93,34%.

Tabel 5. Rerata Persentase Efikasi Bakteri Antagonis

Perlakuan	Komposisi Perlakuan	Pengamatan Rerata Persentase Penekanan Penyakit (%)									
		Ke-5	Ke-6	Ke-7	Ke-8	Ke-9	Ke-10	Ke-11	Ke-12	Ke-13	Ke-14
A	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	29.42	35.02	35.02	49.99	49.99	49.99	71.66	71.66	71.66	71.66
B	UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	88.22	74.99	74.99	85.28	85.28	85.28	91.66	91.66	91.66	91.66
C	UB_APf 1 (10 ⁹ konsentrasi cfu/ml)	80.90	74.99	74.99	82.35	82.35	82.35	90	90	90	90
D	UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	70.58	59.99	59.99	76.46	76.46	76.46	86.66	86.66	86.66	86.66
E	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	76.49	80.01	80.01	88.24	88.24	88.24	93.34	93.34	93.34	93.34
F	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	29.42	0	0	41.16	41.16	41.16	66.66	66.66	66.66	66.66
G	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml)	76.49	80.01	80.01	88.24	88.24	88.24	93.34	93.34	93.34	93.34
H	UB_APf 1 (konsentrasi 10 ⁹ cfu/ml) & UB_ABs 1 (konsentrasi 10 ⁶ cfu/ml)	35.29	50.02	50.02	70.59	70.59	70.59	83.34	83.34	83.34	83.34
I	<i>S. rolf sii</i> tanpa PGPR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J	Aquadest tanpa <i>S. rolf sii</i> dan PGPR	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Perlakuan E pada uji antagonis secara *in vitro* mendapatkan nilai persentase daya hambat tertinggi pada pengamatan ke-9 yaitu sebesar 90,55% tetapi pada perlakuan G sebesar 37,77%. Pada Perlakuan B, C dan D mendapatkan nilai persentase penekanan penyakit yang tinggi. Perlakuan ini membuktikan bahwa PGPR mempunyai mekanisme *biostimulants*, *bioprotectans*, dan *biofertilizer* sehingga tanaman kedelai dapat tumbuh dengan subur dan memberikan efek antagonis terhadap penyakit rebah kecambah.

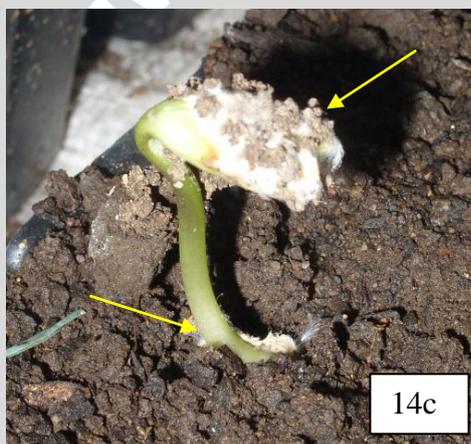
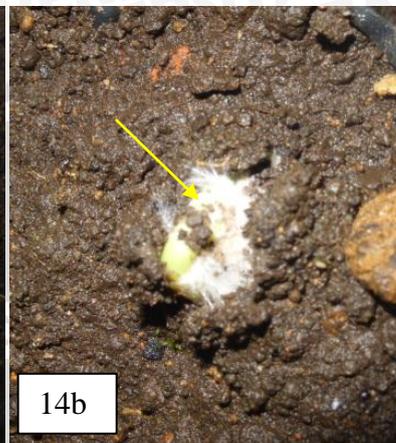
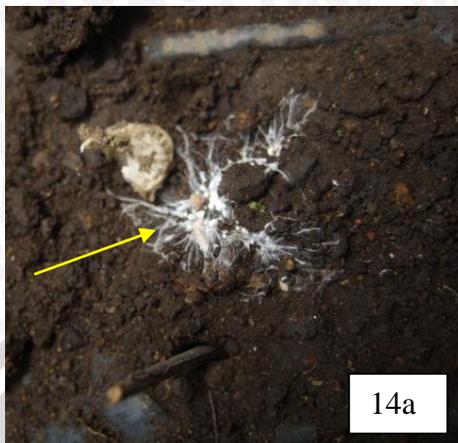


Gambar 13. Efikasi Bakteri Antagonis

4.4 Deskripsi Gejala Penyakit Rebah Kecambah Pada Tanaman Kedelai

Pada penelitian ini, tray yang selalu disiram setiap hari dan lingkungan lembab serta cuaca yang terus hujan membuat hifa-hifa patogen tumbuh pada permukaan tanah (Gambar 14a). Menurut Semangun (1993), bahwa sklerotium pada cuaca yang kering dapat mengkerut tetapi pada lingkungan yang lembab akan berkecambah dengan cepat pada permukaan tanah. Menurut penelitian Anonymous (2014), bahwa patogen *S. rolfisii* juga dapat menyerang dalam tanah yaitu pada akar atau benih sehingga menyebabkan benih tidak dapat tumbuh atau

tumbuh secara abnormal. Hal ini terbukti dalam penelitian ini karena benih yang tidak tumbuh dan tumbuh abnormal (Gambar 14b).





Gambar 14. Deskripsi Gejala Penyakit Rebah Kecambah

Infeksi pada jaringan inang umumnya terjadi 3-4 hari setelah inokulasi pada kondisi panas dan lembab. Menurut Semangun (1993), bahwa tanaman yang terserang patogen ini akan layu menguning perlahan-lahan. Pada pangkal batang dan permukaan tanah didekatnya terdapat benang-benang jamur berwarna putih (Gambar 14c). Pada tanaman kedelai berumur lebih dari 2 minggu, gejalanya berupa busuk pangkal batang dan layu pada bagian yang terinfeksi dan terlihat bercak berwarna coklat pucat (Gambar 14d). Menurut Wahyu *et al.*, (2013), bahwa layu pada tanaman kedelai yang terinfeksi jamur patogen *S. rolfsii* karena transport air maupun unsur hara yang terganggu *S. rolfsii* menyerang tanaman dengan cara menginfeksi miselinya pada akar dan batang tanaman inang dengan mengeluarkan enzim hidrolitik dan oksidatif yang berfungsi merusak struktur akar tanaman untuk menyerap karbon, gula, polisakarida, lipid, asam amino, polipeptida, sulfur, dan fosfor sebagai sumber makanan. Oleh karena itu transport air ke seluruh tanaman oleh air terganggu. Hal ini yang membuat akar pada tanaman menjadi sedikit dan daun menjadi kuning, mengkerut dan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat (Gambar 14e).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Perlakuan PGPR memberikan pengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan jamur *S. rolfii* secara *in vitro*. Tingkat persentase daya hambat tertinggi ditunjukkan oleh penggabungan isolat UB_APf 1 dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml dan isolat UB_ABs 1 dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml (Perlakuan E) sebesar 90,55%. Penghambatan pertumbuhan jamur *S. rolfii* disebabkan oleh pertumbuhan hifa yang abnormal.

Perlakuan PGPR memberikan pengaruh terhadap peningkatan perkecambahan benih kedelai yang diperoleh UB_ABs 1 dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml (Perlakuan C) sebesar 93,33% pada 7 HST. PGPR terbukti memiliki mekanisme *biostimulants* sehingga benih kedelai berkecambah dengan subur dan cepat dibandingkan dengan perlakuan I yang merupakan kontrol.

Perlakuan PGPR juga memberikan pengaruh terhadap kejadian penyakit rebah kecambah sehingga perlakuan yang direndam PGPR mendapatkan nilai kecil pada kejadian penyakit. Perlakuan yang mendapatkan nilai persentase kejadian penyakit terkecil didapatkan pada penggabungan UB_APf 1 dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml dan UB_ABs 1 dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml (Perlakuan E) sebesar 5,33% sehingga nilai penekanan penyakit yang didapat adalah 93,34%.

5.2 Saran

Harapan kedepannya, penelitian ini dapat dilakukan penelitian lebih lanjut pada fase generatif tanaman kedelai. Penelitian lebih lanjut ini diperuntukan melihat respon pertumbuhan tanaman kedelai dan hasil panen kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad dan Eny PS. 2009. Pengaruh Media Terhadap Pertumbuhan Cendawan *Fusarium oxysporum*. Buletin Ristri (1): 4. (Diakses 4 Januari 2014).
- Adisarwanto T dan Wudianto R. 2008. *Meningkatkan Hasil Panen Kedelai*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Adisarwanto T. 2008. *Budidaya Kedelai Tropika*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Agrios GN. 1978. *Plant Pathology*. Fourth Edition. New York: Academic Press. Inc. 421 p
- Agrios GN. 1998. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 694.
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology 5th ed.* Elsevier Academic Press. California. 922 p.
- Aini FN, Sri S, Dwi W, Risma GS, dan Qurrotun A. 2013. Penghambatan Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescen*. Pelita Perkebunan. Vol 29(1).
- Alexander M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd Ed. New York. John Wiley and Sons.
- Alexopaulus FL and Mims JK. 1979. *Laboratory Manual For Introductory Mycology*. USA: Burgess Publishing Company.
- Anonymous. 2014. Bab 5; Penekanan Penyakit In Planta. http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/51486/2011as_u1_BAB%20V%20Penekanan%20Penyakit.pdf?sequence=8. (Diakses 8 Januari 2015).
- Aycock R. 1966. Stem Rot and Other Diseases Cause by *Sclerotium rolfsii*. NC Agric Exp Stn. Tech. Bull. 174: 202 p.
- Badan Pusat Statistika. 2014. Tabel Luas Panen- Produktivitas- Produksi Tanaman Kedelai Seluruh Provinsi. http://www.bps.go.id/proses_pgnxls.php?adodb_next_page=&eng=0&pgn=3&prov=99&thn1=2013&thn2=2014&luas=1&produktivitas=1&produksi=1&display=34&page=1&offset=0. (Diakses 4 Februari 2015).

- Backman PA, Brannen PM and Mahaffe WF. 1994. Plant Respon and Disease Control Followin Seed Inoculation with *Bacillus* sp. Di dalam: Ryder MH, Stephen PM, Bowen GD, editor. *Improving plant Production with Rhizosphere Bacteria*. Australia: Pruc Third Int Work PGPR South Australia, March 7-11 1994.
- Baker KF and Cook RJ. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. W. H. San Fransisco: Freeman and Company. 433 pp.
- Benny, Lahmuddin L, Syahrial O, dan Zaidah F. 2013. Uji Dosis Dan Cara Aplikasi Biofungisida *Bacillus* sp. Terhadap Penyakit Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lignosus*) Pada Tanaman Karet Di Pembibitan. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 1(2).
- Black JG. 1999. *Microbiology: Principles and Explorations*. New Jersey: Prentince Hall.
- Buchanan, R.E and N.E Gibbons, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. EightEdition. The williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Chamzurni T, Rina S, dan Rahel DS. 2011. Efektivitas Dosis Dan Waktu Aplikasi *Trichoderma Virens* Terhadap Serangan *Sclerotium rolfsii* Pada Kedelai. *J Floratek*. 6: 62-73.
- Chet I, Henis, and Kislev. 1969. Ultrastructure Of *Sclerotia* and Hyphae Of *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Gen. Microbiol*. 57: 143-147.
- Chrisnawati, Nasrun dan T. Arwiyanto (2009). Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Nilam Menggunakan *Bacillus* spp. Dan *Pseudomonad fluoresen*. *Jurnal Littri*, 15, 116 - 123.
- Chrisnawati, Nasrun, dan Triwidodo A. 2009. Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Nilam Menggunakan *Bacillus* spp. Dan *Pseudomonad fluoresen*. *Jurnal Littri* 15(3): 116-123.
- Dey R, Pal KK, Bhatt DIM, and Chauhan SM. 2004. Growth Promotion and Yield Enhancement Of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) by Application Of Plant Growth-promoting Rhizobacteris. *Microbiol. Res*. 159:371-394.
- Domsch KH and Anderson TH. 1990. Application Of Eco-Physiological Quotients (qCO₂ and qD) On Microbial Biomasses From Soils Of Different Cropping Histories. *Soil Biol Biochem*. 22: 251-255.
- Domsch KH, Gams W, and Anderson TH. 1980. *Compedium of Soil Fungi*. New York: Academic Press. 1: 55-57.

- Dwidjoseputro. 1978. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta. Djambatan.
- Dwidjoseputro. 1989. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Surabaya. Djambatan. 214 hal.
- Fernando D, Nakkeeran, and Zhang Yilan. 2005. Biosynthesis Of Antibiotics by PGPR and Its Relation In Biocontrol Of Plant Diseases.dalam: Z.A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* 67-109. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Ferreira SA, and Boley RA. 1992. *Sclerotium rolfii*. Departement Of Plant Pathology. University Of Hawaii. Manoa. <http://hbs.bishopmuseum.org/botany/taro/key/hawaiianKalo/Media/Html/adobe/dryroi.pdf>. (Diakses 4 Januari 2014).
- Fichtner, E.J. 2010. *Sclerotium rolfii* Kudzu Of The Fungal World. <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Sclerotium/Srolfsii.html>. (Diakses 9 Januari 2014).
- Ganesa S dan Sekar R. 2012. Fluorescent Pseudomonas As Plant Growth Promoting Rhizobacteria And Biocontrol Agents In Groundnut Crop (*Arachis hypogaea* L.). [http://www.gbtrp.com/journal/ijab%20volume%20\(12\)/ijab0031.pdf](http://www.gbtrp.com/journal/ijab%20volume%20(12)/ijab0031.pdf). (Diakses 12 Maret 2014).
- Gonsalves AK, Ferreira S. 1993. *Fusarium oxysporum*. Departement of Plant Pathology, CTAHR. Hawaii: University of Hawaii at Manoa.
- Hanudin, Marwoto B, Hersanti, dan Muharam A. 2012. Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma harzianum* Untuk Mengendalikan *Ralstonia solanacearum* Pada Tanaman Kentang. *J Hortikultura*. 22(2): 173-180.
- Hardaningsih S. 2011. Jenis Penyakit Kedelai dan Efektivitas Jamur Antagonis yang Berasal dari Kalimantan Selatan Terhadap *Sclerotium rolfii* di Laboratorium. *Suara Perlindungan Tanaman* 1(3): 23-28.
- Hasanuddin. 2003. *Peningkatan Peranan Mikroorganisme dalam Sistem Pengendalian Penyakit Tumbuhan Secara Terpadu*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatra Utara.
- Hidayat. 1985. Morfologi Tanaman Kedelai Dalam Somaatmajaya et al. (Eas). Kedelai P₃ TP. Bogor.
- Hurek T and Reinhold-Hurek B. 2003. *Azoarcus* spp. Strain BH72 As A Model For Nitrogen Fixing Grass Endophytes. *J Biotechnol* 106:169.

- Jackson RM. 1970. Antibiosis and fungistasis of soil microorganism. Burgess Publishing Company Minnesota. 200 p.
- Johnson LF, Curl EA, Bond JH, and Fribourg HA. 1960. Methods for Studying Soil Microflora-plant Disease Relationships. Burgess Publishing Company Minnesota. 117 p.
- Khalimi K dan Gusti NASW. 2009. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria untuk Biostimulants dan Bioprotectants. Universitas udaya. Denpasar. ECOTROPHIC : 4 (2) : 131-135.
- Kloepper JW and Schroth MN. 1978. Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Radishes. In:Proceedings of IVth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. pp.879-882.
- Kloepper JW, Ryu CM, and Zhang S. 2004. Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. Phytopatology. 94: 1259-1266.
- Maheshwari DK (ed.). 2011. Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. DOI 10.1007/978-3-642-18357-7_2.
- Majid A, Paniman AM, Usmadi. 2013. Paket Teknologi Biopestisida Berbahaya Aktif Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Dan *Baillus subtilis* Sebagai Agens Pengendalian Hayati Penyakit Rhizoctonia Kedelai. Universitas Jember. Jember.
- Malinda N, Dwi S, dan Kiki N. 2014. Penghambatan Serangan *Sclerotium rolfsii* Penyebab Rebah Kecambah Pada Kedelai Dengan Bakteri Kitinolitik <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=58519&val=4113>. (Diakses 12 Januari 2014).
- Masyhar MA. 2009. Manfaat Penambahan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) Pada Tiga Varietas Tanaman Padi serta pengaruhnya Terhadap Perkembangan Populasi Hama wereng Batang Cokelat *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera : Delphacidae). [Skripsi] Universitas Brawijaya. Malang. 28 hal.
- Nawangsih AA. 2006. Seleksi dan Karakteristik Bakteri Biokontrol Untuk Mengendalikan Penyakit layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada tomat [Disertasi]. Bogor.: Institut pertanian Bogor.
- Punja ZK. 1988. *Sclerotium (Athelia) rolfsii*, A Pathogen Of Many Plant spesies. In: Sindhu GS, ed. Genetics Of Plant Pathogenic Fungi. Vol. 6. London: Academia Press. p 523-534.

- Rahayu M. 2008. Efikasi Isolat *Pseudomonas fluorescens* Terhadap Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan. Vol 27(3).
- Rani AR and Naik BR. 2008. Influence Of Developmental Stage Of Explant On Somatic Embryogenesis In Peanut (*Arachis hypogaea* L.). J. Theor. Exp. Biol., 4: 109-113.
- Riska, Jumjunidang, dan Hermanto C. 2012. Hubungan Antara Tingkat Konsentrasi Inokulum *Fusarium oxysporum*. Sp. Cubense VCG 01213/16 dengan Perkembangan Penyakit layu Pada Kultivar Pisang rentan. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Jurnal Hortikultura. Vol 22. No 2.
- Rustam. 2005. Pengendalian Penyakit Darah pada Tanaman pisang dengan bakteri Antagonis [Tesis]. Bogor: Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, IPB.
- Schaad NW. 2001. Initial Identification of Common Genera. Di dalam: Schaad NW, Jones JB, Chun W. editors. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Ed ke-3. St Paul: APS Press. P 1-15.
- Schippers B, Lugtenberg B, Weisbeek PJ. 1987. Plant growth control by fluorescent pseudomonad. Di dalam: Ilan C., editor. *Innovative approaches to plant disease control*. New York: John Wiley and Sons. P 19-23.
- Semangun H. 1991. *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan Di Indonesia Edisi 1* (1991). Gadjah Mada University Press. 449 h.
- Semangun, H. 1993. *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Semangun H. 2004. *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Soenartiningih dan Syamsuddin. 2007. Bakteri Antagonis Penyebab Meningkatnya Induksi Ketahanan Dalam Tanaman. Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVIII Komda Sul-Sel.
- Soesanto L. 2008. *Praktek Pengendalian Hayati Penyakit Tumbuhan*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Sulistiani. 2009. Formulasi spora *Bacillus subtilis* Sebagai Agens hayati dan PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Pada Berbagai Bahan Pembawa. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 43 hal.

- Sumartini. 2011. Penyakit Tular Tanah (*Sclerotium rolfsii* DAN *Rhizoctonia solani*) Pada Tanaman Kacang-kacangan Dan Umbi-Umbian Serta Cara Pengendaliannya. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang. Jurnal Litbang Pertanian, 31(1), 2012
- Supriadi. 2006. Analisis Resiko Agens Hayati Untuk Pengendalian Patogen Pada Tanaman. jurnal Litbang Pertanian 25(3), 2006.
- Suryanto D. 2009. Prospek Keanekaragaman Hayati Mikroba (*Microbial Bioprospecting*) Sumatera Utara. Pidato Pegukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Mikrobiologi. FMIPA USU. Medan.
- Suryowati E .2013. Produksi Komoditas Pertanian Ini Turun di 2013. <http://bisniskeuangan.kompas.com/read/2013/12/30/1144420/Produksi.Komoditas.Pertanian.Ini.Turun.di.2013>. (Diakses 4 Maret 2014).
- Susilowati A. 2014. Karakterisasi Fisiologi Dan Genetik *Pseudomonas* sp. Sebagai Biokontrol Penyakit Cendawan Tular Tanah Pada Tanaman Kedelai. [http://si.uns.ac.id/profil/uploadpublikasi/disertasi/196904281997022006ARI%20SUSILOWATI%20\(MIPA\).pdf](http://si.uns.ac.id/profil/uploadpublikasi/disertasi/196904281997022006ARI%20SUSILOWATI%20(MIPA).pdf). (Diakses 8 Januari 2014).
- Tenuta M. 2005. Prospects for Increasing Nutrient Acquisition and Disease Control. Department of soil Science. University of Manitoba. http://www.umanitoba.ca/afs/agronomists_conf/2003/pdf/tenuta_rhizobacteria.pdf. (Diakses 4 Januari 2014).
- Tenuta, M., and E.G. Beauchamp. 2003. Nitrous Oxide Production From Nitrogen Fertilizers In Soil. Can. J. Soil Sci. 83:521-532
- Wahyu ER, Kristanti IP, dan Sri N. 2013. Pengaruh *Glomus fasciculatum* Pada Pertumbuhan Vegetatif Kedelai Yang Terinfeksi *Sclerotium rolfsii*. Jurnal Sains Dan Seni Pomits. 2(2).
- Wardanah T. 2007. Pemanfaatan Bakteri Perakaran Pemacu Pertumbuhan Tanaman (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) Untuk Mengendalikan Penyakit Mosaik Tembakau (Tobacco Mosaic Virus) Pada Tanaman Cabai [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. 56 p.
- Wei G, Kloepper JW, Tuzun S. 1991. Introduction Of Systemic Resistance Of Cucumber to *Colletotrichum orbicilare* by Select Strain of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Phytopath. 81: 1508-1512.
- Widodo. 2006. Peran Mikroba Bermanfaat Dalam Pengelolaan Terpadu Hama dan Penyakit Tanaman. *Makalah* disampaikan pada Apresiasi Penanggulangan OPT Tanaman Sayuran, Nganjuk, 3–6 Oktober 2006.

Yuliar. 2008. Skrining Bioantagonistik Bakteri Untuk Agen Biokontrol *Rhizoctonia solani* dan Kemampuannya Dalam Menghasilkan Surfaktin. *Jurnal Penelitian Sains*. 9(2): 83-86.

Yuneta R, dan Putra RS. 2010. Pengaruh Suhu pada Lipase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. Jurusan Kimia. Institut Teknologi Sepuluh November.





LAMPIRAN



Lampiran 1. Tabel Analisa Ragam Pada Persentase Daya Hambat PGPR Terhadap Pertumbuhan *S. rolfsii* Secara *In Vitro*

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-1					
Sumber	JK	Df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	18043.211	8	2255.401	109.078	3.30*
Galat	558.276	27	20.677		
Total	18601.487	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-2					
Sumber	JK	Df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	17215.456	8	2151.932	78.600	3.30*
Galat	739.214	27	27.378		
Total	17954.670	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-3					
Sumber	JK	Df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	17165.005	8	2145.626	19.280	3.30*
Galat	3004.771	27	111.288		
Total	20169.776	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-4					
Sumber	JK	Df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	21904.505	8	2738.063	30.683	3.30*
Galat	2409.375	27	89.236		
Total	24313.881	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-5					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	23482.616	8	2935.328	231.639	3.30*
Galat	342.144	27	12.672		
Total	23824.770	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-6					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	26676.204	8	3334.525	307.436	3.30*
Galat	292.849	27	10.846		
Total	26969.052	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-7					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	30247.100	8	3780.887	240.270	3.30*
Galat	424.872	27	15.736		
Total	30671.972	35			

Daya Hambat Pengamatan Ke-8					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	32109.375	8	4013.672	292.642	3.30*
Galat	370.312	27	13.715		
Corrected Total	32479.688	35			

Persentase Daya Hambat Pengamatan Ke-9					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	31970.930	8	3996.366	396.948	3.30*
Galat	271.829	27	10.068		
Corrected Total	32242.758	35			

Lampiran 2. Tabel Analisa Ragam Terhadap Persentase Daya Berkecambah Benih Kedelai 7 HST

Persentase Daya Berkecambah Benih Kedelai 7 HST					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	39.467	2	19.733	0.649	2.97 ^{TN}
Perlakuan	2867.200	9	318.578	10.480	3.39*
Galat	547.200	18	30.400		
Corrected Total	3453.867	29			

Lampiran 3. Tabel Analisa Ragam Terhadap Kejadian Penyakit Rebah Kecambah

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 4 HST					
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	20.267	2	10.133	0.379	2.97 ^{TN}
Perlakuan	514.133	9	57.126	2.137	3.39 ^{TN}
Galat	481.067	18	26.726		
Corrected Total	1015.467	29			



Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 5 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	12.067	2	6.033	0.244	2.97 ^{TN}
Perlakuan	1472.300	9	163.589	6.623	3.39*
Galat	444.600	18	24.700		
Corrected Total	1928.967	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 6 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	4.267	2	2.133	0.040	2.97 ^{TN}
Perlakuan	2255.467	9	250.607	4.720	3.39*
Galat	955.733	18	53.096		
Corrected Total	3215.467	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 7 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	4.267	2	2.133	0.040	2.97 ^{TN}
Perlakuan	2255.467	9	250.607	4.720	3.39*
Galat	955.733	18	53.096		
Corrected Total	3215.467	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 8 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	22.400	2	11.200	0.175	2.97 ^{TN}
Perlakuan	4989.867	9	554.430	8.671	3.39*
Galat	1150.933	18	63.941		
Corrected Total	6163.200	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 9 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	22.400	2	11.200	0.175	2.97 ^{TN}
Perlakuan	4989.867	9	554.430	8.671	3.39*
Galat	1150.933	18	63.941		
Corrected Total	6163.200	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 10 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	22.400	2	11.200	0.175	2.97 ^{TN}
Perlakuan	4989.867	9	554.430	8.671	3.39*
Galat	1150.933	18	63.941		
Corrected Total	6163.200	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 11 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	116.267	2	58.133	0.845	2.97 ^{TN}
Perlakuan	14668.800	9	1629.867	23.690	3.39*
Galat	1238.400	18	68.800		
Corrected Total	16023.467	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 12 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	116.267	2	58.133	0.845	2.97 ^{TN}
Perlakuan	14668.800	9	1629.867	23.690	3.39*
Galat	1238.400	18	68.800		
Corrected Total	16023.467	29			

Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 13 HST

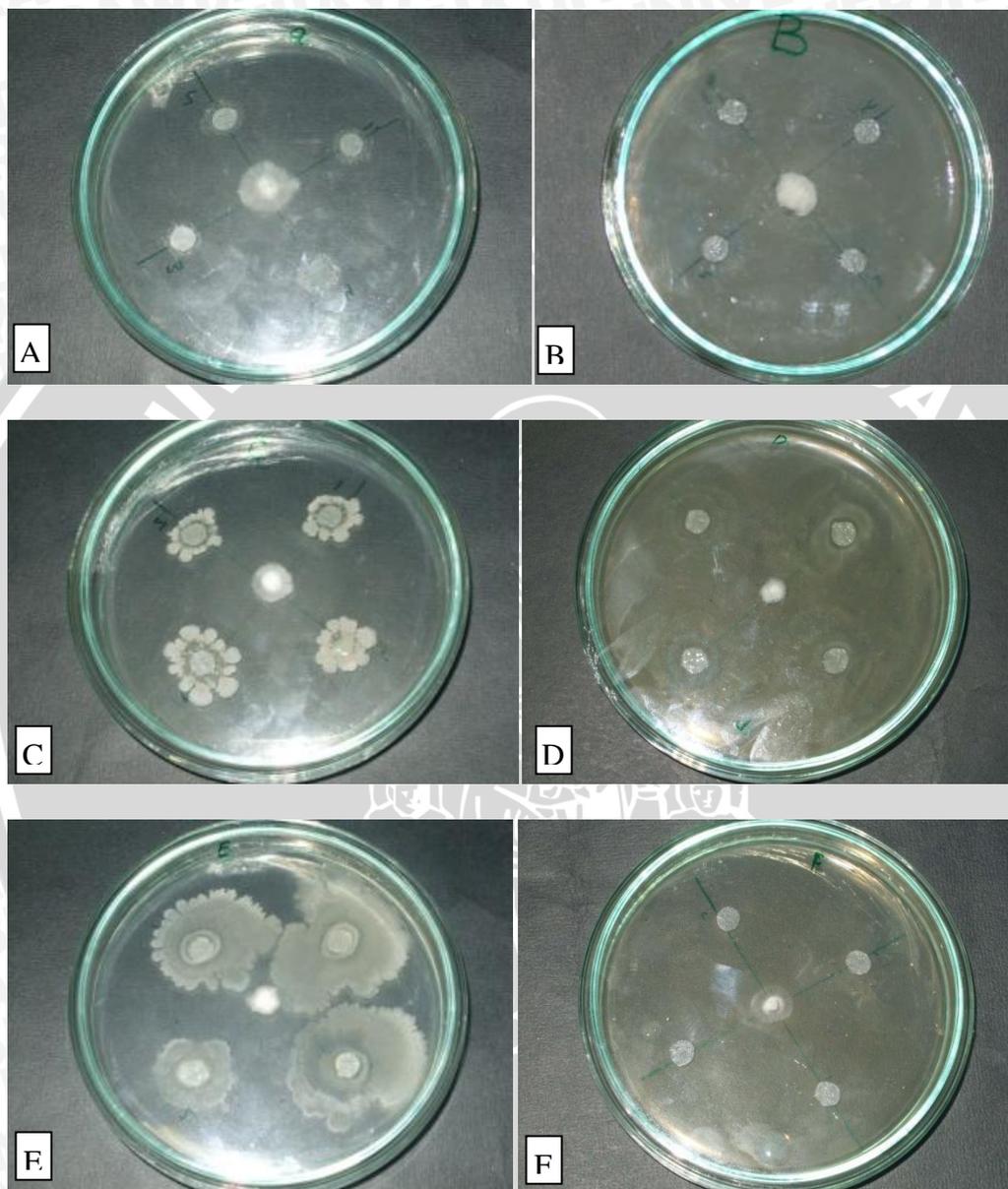
Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	116.267	2	58.133	0.845	2.97 ^{TN}
Perlakuan	14668.800	9	1629.867	23.690	3.39*
Galat	1238.400	18	68.800		
Corrected Total	16023.467	29			

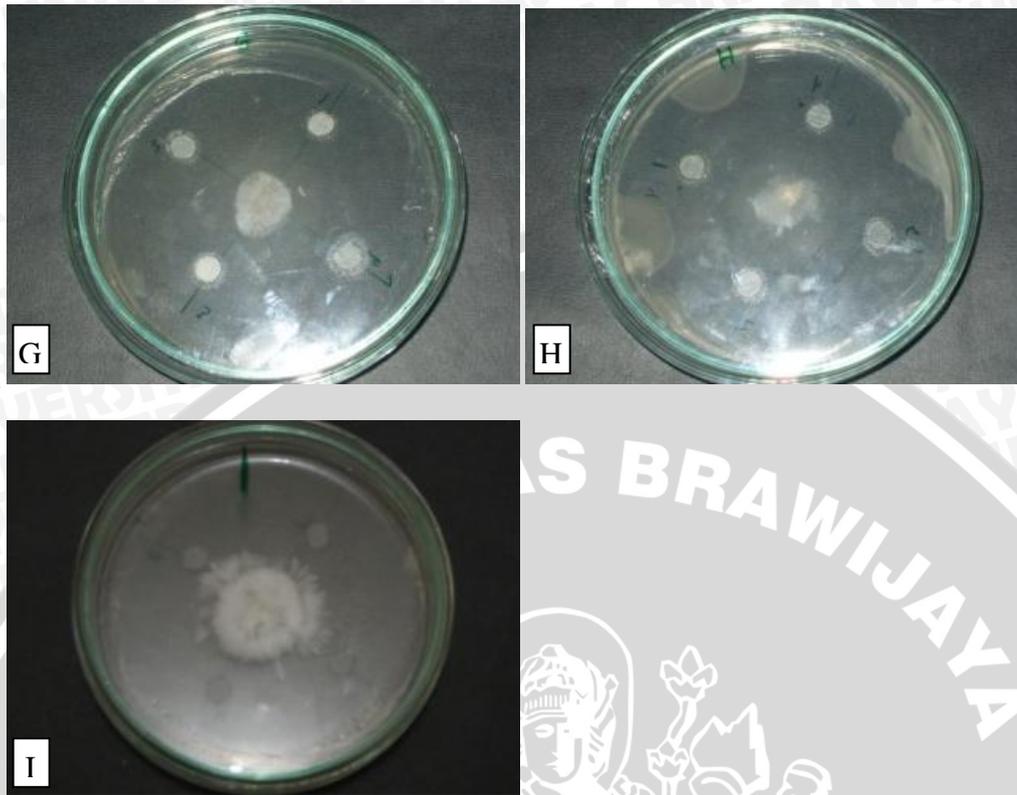
Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah Umur 14 HST

Sumber	JK	df	KT	F hitung	F tabel
Kelompok	116.267	2	58.133	0.845	2.97 ^{TN}
Perlakuan	14668.800	9	1629.867	23.690	3.39*
Galat	1238.400	18	68.800		
Corrected Total	16023.467	29			

Lampiran 4. Foto Uji Antagonis PGPR Terhadap Pertumbuhan *S. rolfii* Secara *In Vitro*

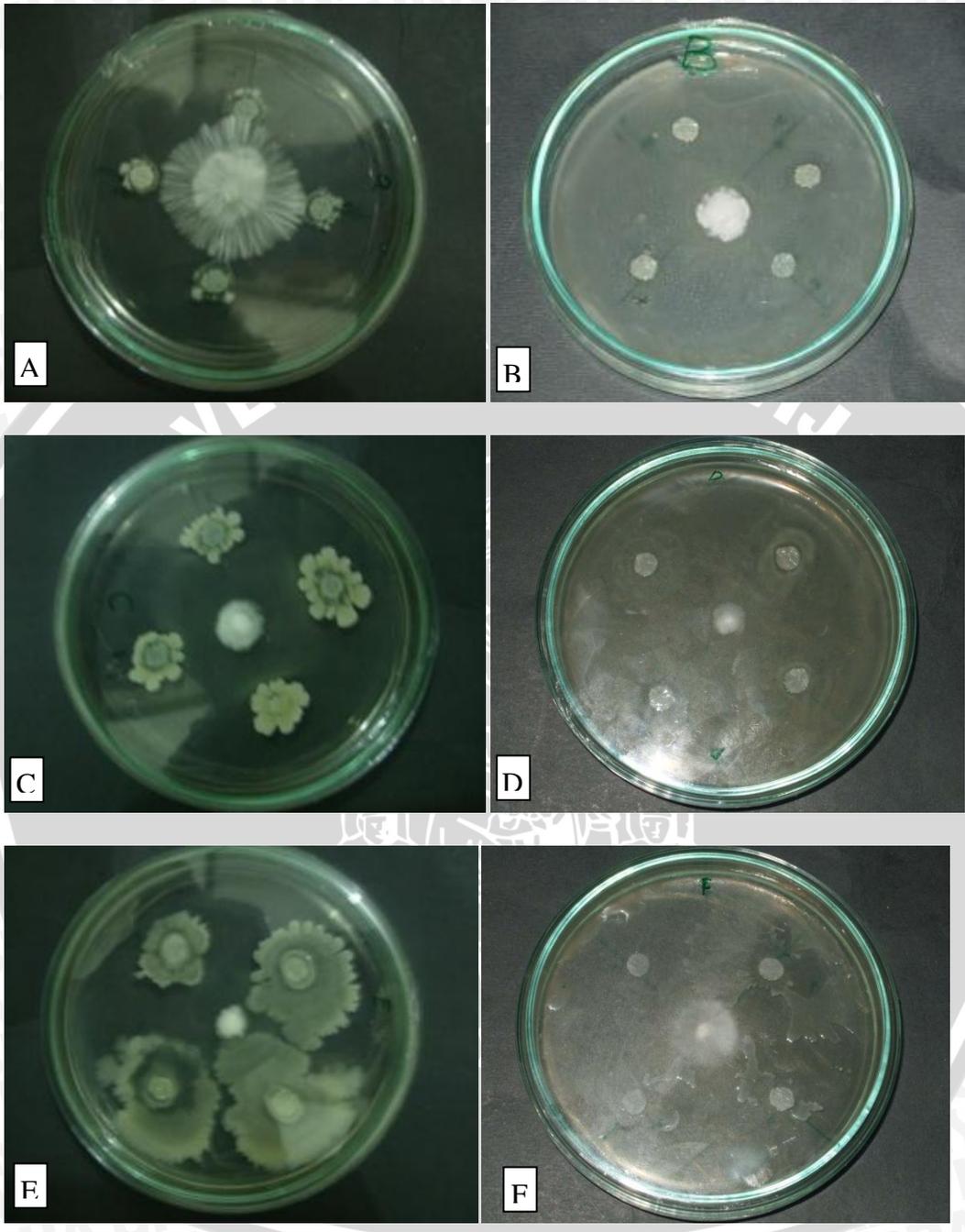
HARI PERTAMA

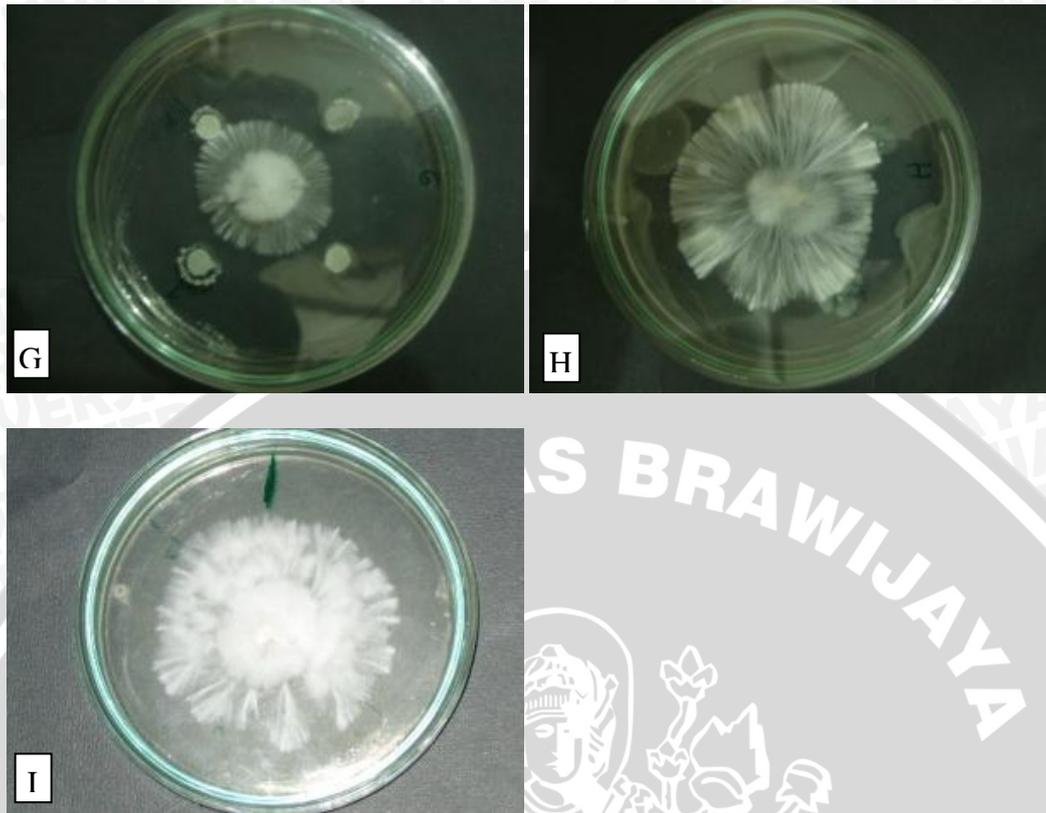




Keterangan: perlakuan A yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan B yaitu UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan C yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan D yaitu UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan E yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan F yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan G yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan H yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), dan perlakuan I yaitu *S. rolfsii* tanpa PGPR

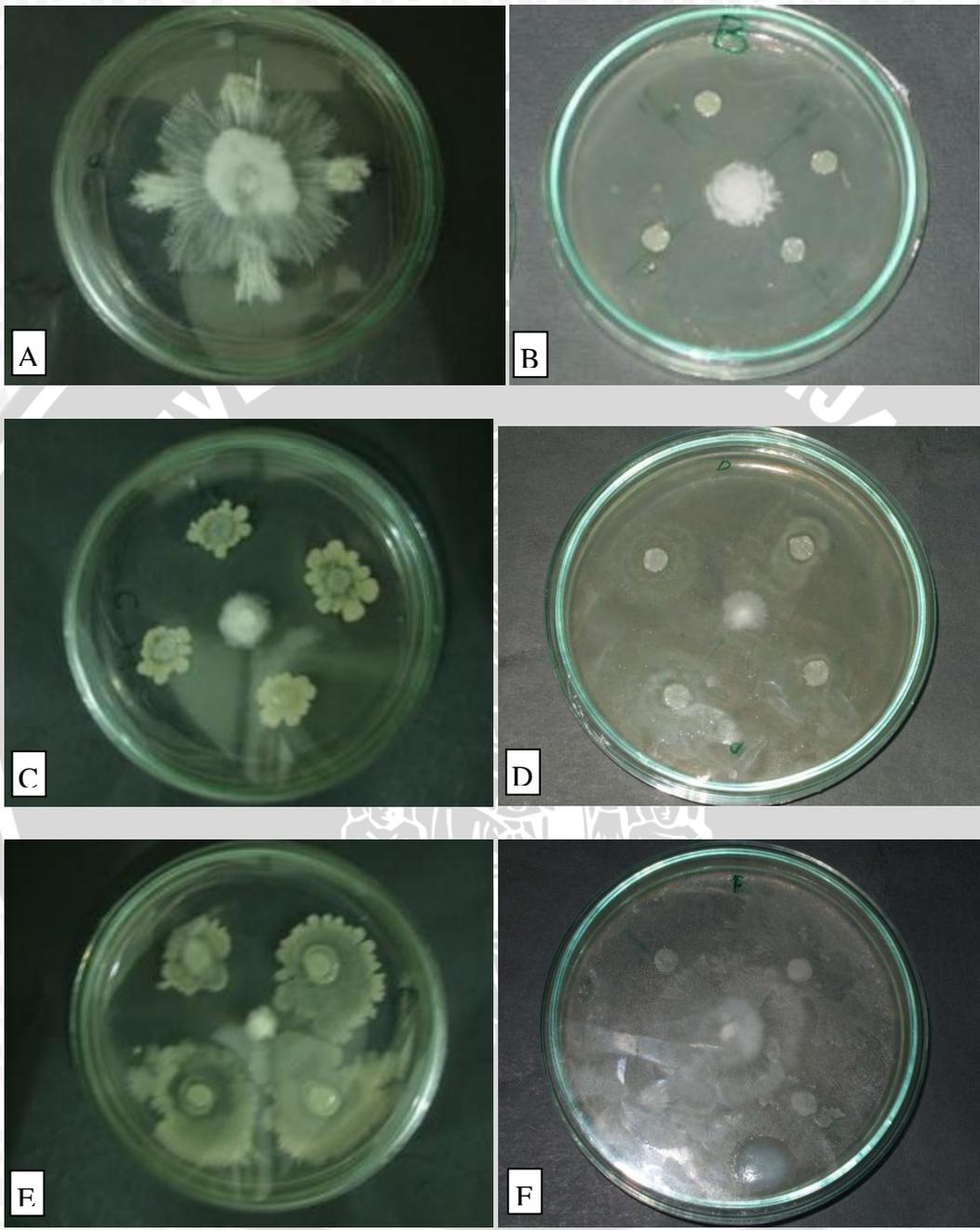
HARI KEDUA

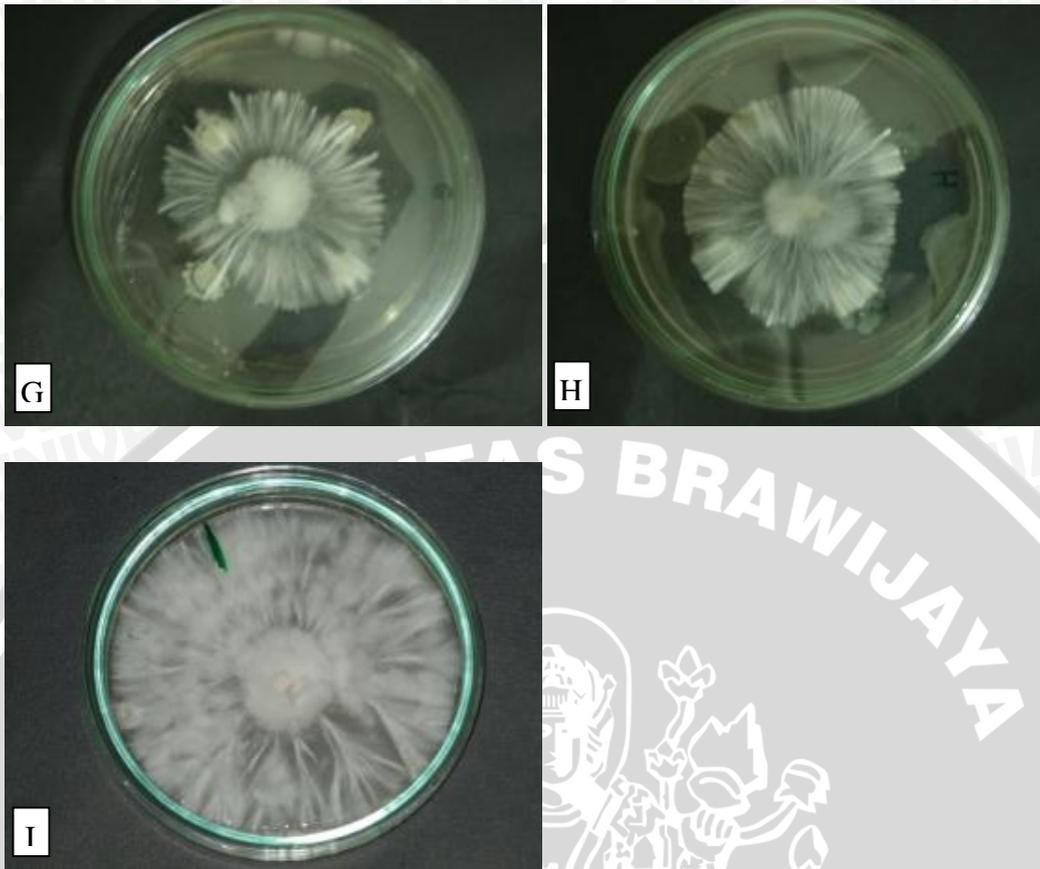




Keterangan: perlakuan A yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan B yaitu UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan C yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan D yaitu UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan E yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan F yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan G yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan H yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), dan perlakuan I yaitu *S. rolfsii* tanpa PGPR

HARI TERAKHIR





Keterangan: perlakuan A yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan B yaitu UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan C yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan D yaitu UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan E yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan F yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan G yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan H yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), dan perlakuan I yaitu *S. rolfesii* tanpa PGPR

Lampiran 5. Foto Persiapan Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Dengan PGPR Secara *In vivo*



Persiapan Media Tanam



Media tanam disterilisasi dengan Autoklave



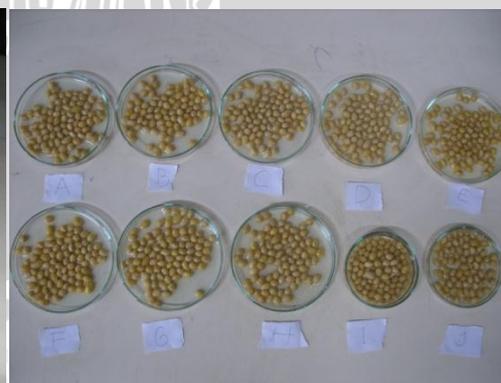
Pengangkutan Media Tanam



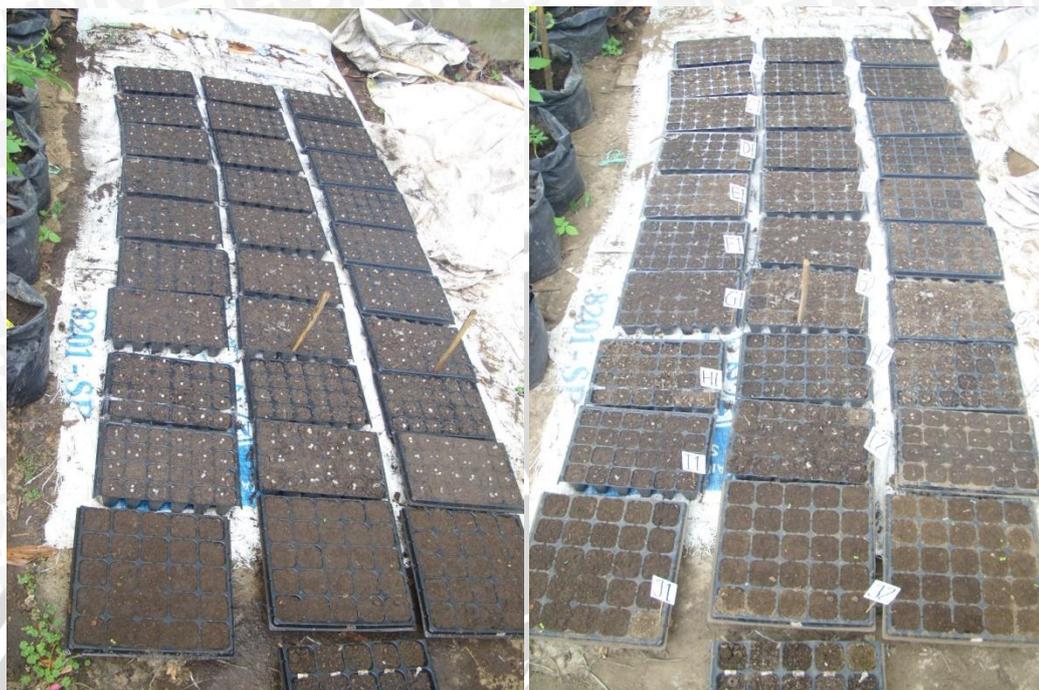
Media Tanam yang sudah disterilisasi



Pengenceran Konsentrasi PGPR

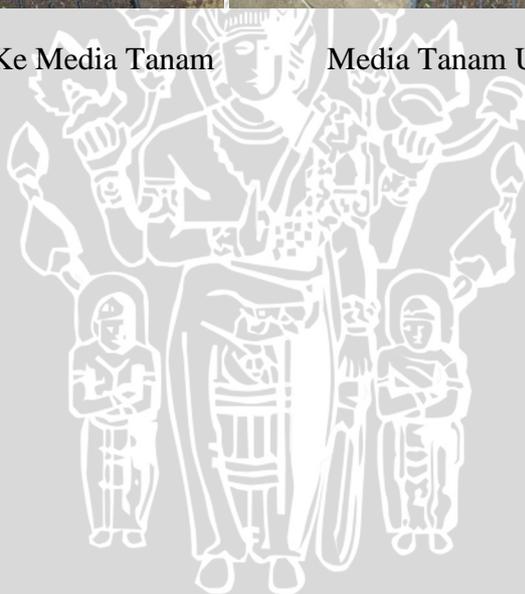


Perendaman Benih Kedelai Dengan PGPR



Pemberian *S. rolfsii* Ke Media Tanam

Media Tanam Umur 5 Hari



Lampiran 6. Foto Tanaman Kedelai Umur 7 HST





Keterangan: perlakuan A yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan B yaitu UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan C yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan D yaitu UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan E yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan F yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan G yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan H yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan I yaitu *S. rolf sii* tanpa PGPR, dan perlakuan J yaitu Aquadest tanpa *S. rolf sii* dan PGPR

Lampiran 7. Foto Tanaman Kedelai Umur 14 HST



Keterangan: perlakuan A yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan B yaitu UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan C yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan D yaitu UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan E yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan F yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan G yaitu UB_APf 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan H yaitu UB_APf 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABS 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan I yaitu *S. rolf sii* tanpa PGPR, dan perlakuan J yaitu Aquadest tanpa *S. rolf sii* dan PGPR





Keterangan: perlakuan A yaitu UB_APF 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan B yaitu UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan C yaitu UB_APF 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan D yaitu UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan E yaitu UB_APF 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan F yaitu UB_APF 1 (10^9 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan G yaitu UB_APF 1 (10^6 cfu/ml) & UB_ABs 1 (10^9 cfu/ml), perlakuan H yaitu UB_APF 1 (10^9) & UB_ABs 1 (10^6 cfu/ml), perlakuan I yaitu *S. rolfii* tanpa PGPR, dan perlakuan J yaitu Aquadest tanpa *S. rolfii* dan PGPR

Lampiran 8. Deskripsi Kedelai Varietas Burangrang

BURANGRANG

Dilepas tahun	: 1999
Nomor galur	: C1-I-2/KRP-3
Asal	: Segregat silangan alam, diambil dari tanaman petani di Jember
Seleksi	: Seleksi lini murni, tiga generasi asal segregat alamiah
Daya hasil	: 1,6-2,5 ton/ha
Warna hipokotil	: Coklat kekuningan
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning
Warna hilum	: Terang
Bentuk daun	: Oblong, ujung runcing
Tipe tumbuh	: Determinit
Umur berbunga	: 35 hari
Umur polong matang	: 80-82 hari
Tinggi tanaman	: 60-70 cm
Percabangan	: 1-2 cabang
Bobot 100 biji	: 17 g
Ukuran biji	: Besar
Kandungan protein	: 39 %
Kandungan minyak	: 20 %
Kerebahan	: Tidak mudah rebah
Ketahanan penyakit	: Toleran karat daun
Keterangan	: Sesuai untuk bahan baku susu kedelai, tempe, dan tahu
Pemulis	: Rodiah S, Ono Sutrisno, Gatot Kustiyono, Sumarno, dan Soegito
Benih penjenis	: Dipertahankan di BPTP Karangploso, Balitkabi, dan Puslitbang Tanaman Pangan Bogor