

**PEMANFAATAN MIKROORGANISME ANTAGONIS RHIZOSFER  
KEDELAI UNTUK MENEKAN PENYAKIT REBAH SEMAI *Sclerotium  
rolfsii* Sacc. PADA TANAMAN KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**IKA AGUSTIN RUSDIANA**



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

**PEMANFAATAN MIKROORGANISME ANTAGONIS RHIZOSFER  
KEDELAI UNTUK MENEKAN PENYAKIT REBAH SEMAI *Sclerotium  
rolfsii* Sacc. PADA TANAMAN KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)**

Oleh:  
**IKA AGUSTIN RUSDIANA**  
105040201111109

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**SKRIPSI**

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

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

repository.ub.ac.id

Judul Skripsi : Pemanfaatan Mikroorganisme Antagonis Rhizosfer  
Kedelai untuk Menekan Penyakit Rebah Semai  
*Sclerotium rolfsii* Sacc. pada Tanaman Kedelai (*Glycine  
max* (L.) Merrill).

Nama Mahasiswa : Ika Agustin Rusdiana  
N I M : 105040201111109  
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan  
Program Studi : Agroekoteknologi  
Menyetujui : Dosen Pembimbing

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat  
NIP. 19480109 197603 1 001

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

Mengetahui  
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan  
Ketua

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU.  
NIP. 19550403 198303 1 003

MENGESAHKAN  
MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Dr. Ir. Toto Himawan, SU  
NIP. 19551119 198303 1 002

Dr. Anton Muhibuddin, SP.,MP  
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji III

Penguji IV

Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat  
NIP. 19480109 197603 1 001

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

Tanggal Lulus :

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Maret 2015

Ika Agustin Rusdiana



## RINGKASAN

**Ika Agustin Rusdiana. 105040201111109. Pemanfaatan Mikroorganismen Antagonis Rhizosfer Kedelai untuk Menekan Penyakit Rebah Semai *Sclerotium rolfsii* Sacc. pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). Pembimbing Utama Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat dan Pembimbing Pendamping Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.**

---

*S. rolfsii* ialah penyakit potensial yang dapat menurunkan produksi kedelai karena dapat menyebabkan tanaman mati bahkan dapat menimbulkan kegagalan panen (Pontjoweni *et al.*, 1997). Sastrahidayat *et al.* (2007) menyatakan penyakit rebah semai dapat menyebabkan kehilangan hasil 75 hingga 100% pada tanaman kedelai dan kacang-kacangan. Seiring berkembangnya teknologi, banyak petani sadar akan pengendalian secara hayati. Mikroorganismen yang dapat hidup pada daerah rhizosfer sangat sesuai digunakan sebagai agens pengendalian hayati, mengingat bahwa rhizosfer adalah daerah utama dimana akar tumbuhan terbuka terhadap patogen. Jika terdapat mikroorganismen antagonis pada daerah ini, patogen akan berhadapan selama menyebar dan menginfeksi akar (Hassanudin, 2003).

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang dan rumah kaca di daerah Tanjung Malang pada bulan Oktober hingga Januari 2015. Penelitian ini terdapat 5 tahapan, yakni Isolasi dan identifikasi jamur patogen, Eksplorasi dan pendahuluan uji antagonis isolat rhizosfer kedelai, Uji antagonis mikroorganismen rhizosfer potensial terhadap patogen *S. rolfsii* dan pengujian antibiosis secara *in vitro* dan Pengujian pengaruh mikroorganismen potensial terhadap jamur *S. rolfsii* secara *in vivo*.

Hasil penelitian *in vitro* menunjukkan terdapat 5 isolat yang memiliki sifat antagonis yakni jamur *Trichoderma* sp. dengan mekanisme penghambatan hiperparasit dan 4 isolat dari golongan bakteri antagonis yang terdiri dari isolat 1, isolat 2, isolat 3 dan isolat 4 dengan mekanisme penghambatan antibiosis yang menyebabkan lisis pada hifa jamur *S. rolfsii*.

Hasil penelitian *in vivo* menunjukkan perlakuan pemberian isolat antagonis potensial berpengaruh terhadap persentase kejadian penyakit rebah semai. Persentase kejadian penyakit *S. rolfsii* tertinggi pada perlakuan kontrol atau tanpa antagonis sebesar 80,71% sedangkan persentase terendah terjadi pada perlakuan pemberian jamur antagonis *Trichoderma* sp. sebesar 24,76%.

## SUMMARY

**Ika Agustin Rusdiana. 105040201111109. The Use of Soybean Rhizosphere Microorganisms Antagonists to Suppress Damping-off Disease *Sclerotium rolfsii* Sacc. on Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). Supervised by Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat and Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.**

---

*S. rolfsii* is potential diseases that can reduce the production of soybean because it caused going to die and even lead to crop failure (Pontjoweni *et al.*, 1997). Sastrahidayat *et al.* (2007) stated that the damping-off can cause yield losses 75 to 100% of soybean and nuts. As the development of technology, many farmers are aware of biological control. Microorganisms that can live in the rhizosphere is suitable as a biological control, given that the rhizosphere is the main area where the roots of plants exposed to pathogens. If there are antagonist microorganisms in this area, the pathogen will be faced during the spread and infect the roots (Hassanudin, 2003).

The research was conducted at the Laboratory of Mycology Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University and greenhouse since October up to January 2015. This research are 5 stages, namely isolation and identification of pathogen fungi, exploration and preliminary antagonist test microorganisms of soybean rhizosphere, antagonist test of rhizosphere microorganisms potential against pathogens *S. rolfsii* and antibiosis test *in vitro* and testing the effectiveness of potential microorganisms against fungi *S. rolfsii in vivo*.

The results of *in vitro* research showed that there were 5 isolates that possess the antagonist fungi *Trichoderma* sp. the inhibition mechanism hiperparasit and 4 isolates of bacteria antagonist consisting of isolate 1, isolate 2, isolate 3 and isolate 4 with antibiosis mechanism that causes lysis of the fungi hyphae of *S. rolfsii*.

The results of *in vivo* research showed that treatment giving a potential antagonist microorganisms effect on the percentage of damping-off disease. The highest percentage of damping-off disease incidence in the control treatment or without antagonist by 80,71% while the lowest percentage in the treatment of antagonist fungi *Trichoderma* sp. by 24,71%.

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah memberikan hidayah kepada penulis sehingga mampu untuk menyelesaikan skripsi penelitian dengan judul “ Pemanfaatan mikroorganismen antagonis rhizosfer kedelai untuk menekan penyakit rebah semai *Sclerotium rolfsii* Sacc. pada tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) ”.

Penelitian ini membicarakan beberapa hal antara lain adalah mengenai patogen *S. rolfsii*, beberapa mikroorganismen potensial yang memiliki sifat antagonis, interaksi dari agens antagonis rhizosfer dengan patogen *S. rolfsii* dan lain sebagainya.

Dalam penyusunan skripsi penelitian ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Ika Rochdjatun Sastrahidayat dan Bapak Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan petunjuk, bimbingan dan dorongan selama penulis melakukan persiapan penelitian hingga berakhirnya penulisan skripsi penelitian ini. Penghargaan yang tulus penulis persembahkan kepada kedua orang tua dan keluarga atas do'a dan motivasi serta semua pihak-pihak yang membantu hingga terselesaikannya skripsi penelitian ini.

Penelitian ini merupakan pengalaman baru bagi penulis dan sehubungan dengan hal tersebut semoga penelitian ini dapat bermanfaat dan tak lupa kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Malang, Januari 2015

Hormat Penulis.

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kabupaten Mojokerto, Jawa Timur pada tanggal 18 Agustus 1993 dari pasangan ayah bernama Rusdi dan ibu bernama Nur Faudyah Rini sebagai putri pertama dari dua bersaudara.

Penulis menyelesaikan pendidikan formal di SD Negeri 1 Modopuro, SMP Negeri 1 Mojosari dan menyelesaikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Mojosari. Pada tahun 2010, penulis diterima di Universitas Brawijaya Malang untuk melanjutkan pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian melalui jalur PSB dan pada semester lima penulis memilih minat jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.



## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Tujuan penelitian .....	3
1.3. Hipotesis .....	3
1.4. Manfaat penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Tanaman kedelai.....	4
2.1.1. Taksonomi dan morfologi tanaman kedelai .....	4
2.2. Patogen <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.....	5
2.2.1. Klasifikasi patogen <i>S. rolfsii</i> .....	5
2.2.2. Gejala serangan patogen <i>S. rolfsii</i> .....	5
2.2.3. Morfologi patogen <i>S. rolfsii</i> .....	6
2.2.4. Daur hidup penyakit rebah semai .....	7
2.2.5. Faktor- faktor yang mempengaruhi tingkat serangan <i>S. rolfsii</i> .....	8
2.3. Rhizosfer .....	9
2.3.1. Hubungan antara rhizosfer dengan patogen .....	9
2.3.2. Mikroorganisme rhizosfer sebagai agens pengendali hayati.....	10
2.3.3. Pengaruh mikroba rhizosfer pada tanaman .....	12
2.3.4. Antagonis dan pengaruhnya di dalam rhizosfer .....	13
2.3.5. Faktor pertumbuhan mikroba dan rhizosfer .....	14
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>15</b>
3.1. Tempat dan waktu .....	15
3.2. Alat dan bahan.....	15
3.3. Metode penelitian .....	15
3.4. Persiapan penelitian .....	16
3.4.1. Penelitian secara <i>in vitro</i> .....	16
3.4.2. Penelitian secara <i>in vivo</i> .....	18

3.5. Pelaksanaan penelitian.....	19
3.5.1. Penelitian secara <i>in vitro</i> .....	19
3.5.2. Penelitian secara <i>in vivo</i> .....	23
3.6. Parameter pengamatan.....	24
3.7. Analisis data.....	25
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
4.1. Identifikasi jamur patogen <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	26
4.2. Eksplorasi dan identifikasi mikroorganisme antagonis potensial .....	28
4.3. Uji antagonis mikroorganisme rhizosfer.....	33
4.4. Luas miselium jamur patogen <i>S. rolfsii</i> pada uji antibiosis .....	37
4.5. Persentase kejadian penyakit.....	40
<b>V. PENUTUP .....</b>	<b>43</b>
5.1. Kesimpulan .....	43
5.2. Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>49</b>

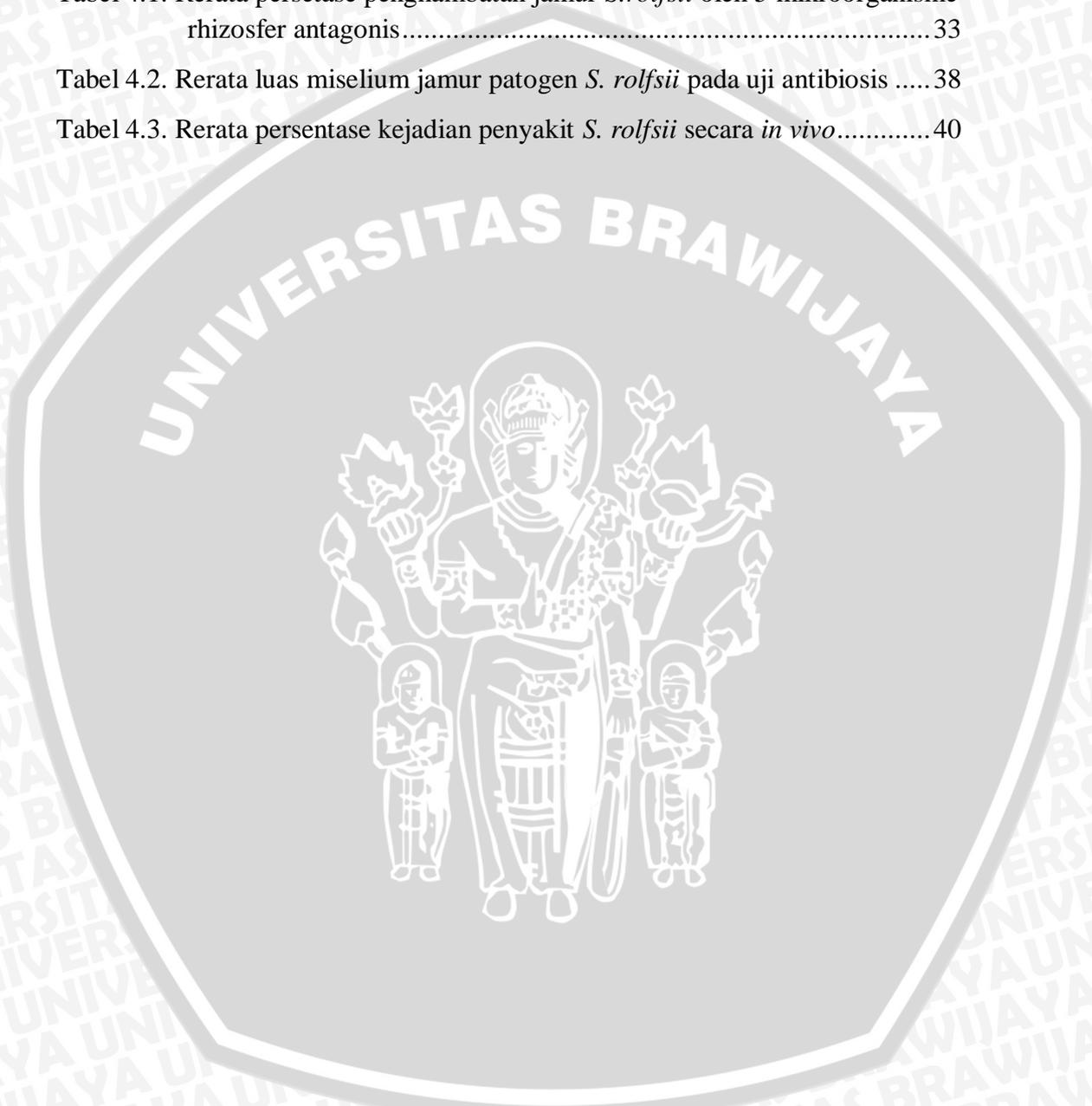


## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
Gambar 2.1.	Gejala serangan patogen <i>S. rolfsii</i> .....	6
Gambar 3.1.	Perbanyakkan jamur pada media semi sintesis dedak dextrose.....	18
Gambar 3.2.	Metode oposisi langsung .....	22
Gambar 4.1.	Gejala penyakit rebah semai tanaman kedelai di lapang .....	26
Gambar 4.2.	Jamur patogen <i>S. rolfsii</i> .....	27
Gambar 4.3.	Hasil eksplorasi mikroorganisme rhizosfer tanaman kedelai.....	28
Gambar 4.4.	Bakteri antagonis isolat 1 .....	29
Gambar 4.5.	Bakteri antagonis isolat 2 .....	30
Gambar 4.6.	Bakteri antagonis isolat 3 .....	30
Gambar 4.7.	Bakteri antagonis isolat 4 .....	31
Gambar 4.8.	Pengujian rekasi gram menggunakan KOH 3% .....	32
Gambar 4.9.	Jamur antagonis <i>Trichoderma</i> sp.....	33
Gambar 4.10.	Penghambatan pertumbuhan jamur <i>S. rolfsii</i> umur 5 hsi .....	34
Gambar 4.11.	Mekanisme penghambatan mikoparasit jamur <i>Trichoderma</i> sp. .	35
Gambar 4.12.	Lisis hifa <i>S. rolfsii</i> akibat interaksi dengan bakteri perlakuan .....	37
Gambar 4.13.	Penghambatan bakteri antagonis terhadap luas miselium <i>S. rolfsii</i>	39
Gambar 4.14.	Kejadian penyakit jamur patogen <i>S. rolfsii</i> di tray pembibitan.....	42

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
Tabel 4.1.	Rerata persentase penghambatan jamur <i>S.rolfsii</i> oleh 5 mikroorganisme rhizosfer antagonis.....	33
Tabel 4.2.	Rerata luas miselium jamur patogen <i>S. rolfsii</i> pada uji antibiosis .....	38
Tabel 4.3.	Rerata persentase kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vivo</i> .....	40



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
Lampiran 1.	Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada satu hsi .....	49
Lampiran 2.	Analisa ragam penghambatan <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada satu hsi.....	49
Lampiran 3.	Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada dua hsi .....	49
Lampiran 4.	Analisa ragam penghambatan <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada dua hsi .....	49
Lampiran 5.	Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada tiga hsi.....	50
Lampiran 6.	Analisa ragam penghambatan <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada tiga hsi .....	50
Lampiran 7.	Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada empat hsi .....	50
Lampiran 8.	Analisa ragam penghambatan <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis pada secara <i>in vitro</i> empat hsi.....	50
Lampiran 9.	Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada lima hsi.....	51
Lampiran 10.	Analisa ragam penghambatan <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vitro</i> pada lima hsi .....	51
Lampiran 11.	Luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada satu hsi .....	51
Lampiran 12.	Analisa ragam luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada satu hsi.....	51
Lampiran 13.	Luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada dua hsi.....	52
Lampiran 14.	Analisa ragam luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada dua hsi .....	52
Lampiran 15.	Luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada tiga hsi .....	52

Lampiran 16. Analisa ragam luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada tiga hsi .....	52
Lampiran 17. Luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada empat hsi.....	53
Lampiran 18. Analisa ragam luas miselium <i>S. rolfsii</i> oleh 4 isolat bakteri antagonis secara <i>in vitro</i> pada empat hsi.....	53
Lampiran 19. Persentase kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada dua hst .....	53
Lampiran 20. Analisa ragam kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada dua hst .....	53
Lampiran 21. Persentase kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada empat hst .....	54
Lampiran 22. Analisa ragam kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada empat hst .....	54
Lampiran 23. Persentase kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada enam hst .....	54
Lampiran 24. Analisa ragam kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada enam hst .....	55
Lampiran 25. Persentase kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada delapan hst.....	55
Lampiran 26. Analisa ragam kejadian penyakit <i>S. rolfsii</i> oleh 5 isolat mikroba antagonis secara <i>in vivo</i> pada delapan hst.....	55
Lampiran 27. Mikroorganisme rhizosfer hasil eksplorasi.....	56
Lampiran 28. Pendahuluan uji antagonis isolat hasil eksplorasi .....	59
Lampiran 29. Analisis kandungan unsur hara pada contoh tanah .....	60
Lampiran 30. Perkecambahan benih kedelai tanpa inokulasi jamur <i>S. rolfsii</i> ....	60
Lampiran 31. Media GNA, PDA dan NA.....	60
Lampiran 32. Deskripsi varietas kedelai.....	61
Lampiran 33. Denah rancangan penelitian.....	62

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) ialah komoditas multiguna yang dapat digunakan sebagai bahan makanan, pakan maupun bahan baku berbagai industri dan olahan. Dari data statistik, produksi kedelai nasional Indonesia tahun 2013 sebesar 779.992 ton dan 892.602 ton pada tahun 2014 atau produksi naik sebesar 112.610 ton (Badan Pusat Statistik, 2014). Dari data tersebut dapat diketahui bahwa produksi kedelai memiliki tingkat produktivitas yang cukup baik dan pada tahun 2015 yang diperkirakan produksi kedelai Indonesia mampu memenuhi atau menutupi kekurangan akan sumber pangan di Indonesia. Namun, disatu sisi terdapat upaya untuk membeli kedelai impor karena harga satuan per kilogramnya lebih murah dibandingkan harga di dalam negeri.

Indonesia merupakan negara agraris namun tidak mampu memenuhi kebutuhan dalam negeri. Salah satu faktor penyebab adalah masih rendah produksi kedelai di Indonesia, antara lain karena serangan patogen seperti *Sclerotium rolfsii* yang menyebabkan penyakit rebah semai pada tanaman kedelai. *S. rolfsii* merupakan salah satu jamur patogen tular tanah yang penyebarannya dapat melalui bekas tanaman kedelai yang terserang dan melalui irigasi serta drainase yang jelek (Abadi, 2004). *S. rolfsii* merupakan penyakit potensial yang dapat menurunkan produksi kedelai karena dapat menyebabkan tanaman mati bahkan dapat menimbulkan kegagalan panen (Pontjoweni *et al.*, 1997). Sastrahidayat *et al.* (2007) menyatakan bahwa penyakit rebah semai merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman kedelai dan jenis kacang-kacangan lainnya di Indonesia dan penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil 75 hingga 100%.

Penyakit yang disebabkan oleh *S. rolfsii* cukup sulit dikendalikan karena memiliki kisaran inang yang cukup banyak. Penyakit ini menyerang berbagai macam tanaman seperti sayuran, buah, bunga, legum, sereal, tanaman ternak dan rumput (Agrios, 1997). Abadi (2004) mengemukakan bahwa *S. rolfsii* merupakan patogen tular tanah yang mampu hidup dalam tanah sebagai saprofit meskipun tidak ada tanaman inang.

Pengendalian jamur patogen tular tanah ini sulit dilakukan karena jamur ini hidup saprofit dalam tanah dan dengan baik hidup pada berbagai bahan organik serta dapat bertahan hidup dalam periode yang panjang dalam tanah (Waluyo, 2005). Hingga saat ini, petani lebih cenderung menggunakan pestisida yang kurang bijaksana dalam menanggulangi berbagai penyakit tanaman khususnya pada tanaman kedelai. Hal tersebut dapat menimbulkan resistensi patogen serta pencemaran lingkungan, sehingga diusahakan suatu pengendalian yang mampu menekan patogen tetapi mempunyai efek samping sedikit (Istikorini, 2002).

Seiring berkembangnya teknologi, banyak petani yang sadar akan pengendalian secara hayati. Pengendalian hayati merupakan pengendalian dengan memanfaatkan musuh alami yang bersifat antagonis. Pengendalian tersebut merupakan alternatif pengendalian yang cukup aman dan ekonomis. Mikroorganisme yang bersifat sebagai agens biokontrol dapat hidup di daerah sekitar perakaran (rhizosfer). Rhizosfer adalah bagian dari tanah yang dipengaruhi oleh akar tanaman dan merupakan area yang dapat meningkatkan kegiatan jumlah organisme, serta adanya interaksi yang kompleks antara mikroorganisme dengan akar, dimana terdapat eksudat yang dikeluarkan akar sebagai nutrisi bagi mikroba itu sendiri. Jenis mikroorganisme di rhizosfer sangat melimpah dan jumlahnya berkurang seiring dengan bertambahnya jarak dari akar (Rao, 1994). Mikroorganisme yang dapat hidup pada rhizosfer sangat sesuai digunakan sebagai agens pengendalian hayati, mengingat bahwa rhizosfer adalah daerah yang utama dimana akar tumbuhan terbuka terhadap patogen. Jika terdapat mikroorganisme antagonis pada daerah ini, patogen akan berhadapan selama menyebar dan menginfeksi akar (Hassanudin, 2003).

Banyak jamur dan bakteri yang dapat bersaing secara antagonis. Hal ini dapat mempengaruhi keseimbangan alami mikroflora dalam tanah, filosfer ataupun rhizosfer sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati. Jamur parasit fakultatif dengan bantuan enzim dan senyawa toksik yang dapat dihasilkannya dapat merusak inangnya serta menyerap makanan dari sel-sel inang yang telah mati. Jamur mampu masuk melalui dinding hifa inang sehingga sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai agens pengendali hayati. Diantaranya adalah *Trichoderma* sp. yang digunakan untuk menekan jamur patogen seperti

*damping-off*. Jamur antagonis dengan modus aksi mikoparasitisme berpotensi untuk terus dikembangkan sebagai biofungisida karena mampu mengendalikan struktur istirahat patogen. Selain itu, kelompok *Pseudomonas fluorescense* dan actinomycetes banyak diteliti sebagai agens hayati. Hasil penelitian menunjukkan kedua kelompok mikroorganisme tersebut cukup efektif untuk menekan beberapa jenis patogen (Adams, 1990). Oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan sehingga diharapkan dapat menjadi alternatif dalam menekan penyakit rebah semai dengan pemanfaatan agens hayati yang berasal dari rhizosfer tanaman kedelai yang memiliki sifat antagonis.

### 1.2. Tujuan penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan mikroorganisme antagonis rhizosfer kedelai yang berpotensi menekan penyakit rebah semai *S. rolfisii* dan mengetahui mekanismenya.
2. Mengetahui pengaruh mikroorganisme antagonis potensial terhadap kejadian penyakit rebah semai pada tanaman kedelai secara *in vivo*.

### 1.3. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat mikroorganisme antagonis dari rhizosfer kedelai yang dapat berinteraksi dalam menekan serangan patogen *S. rolfisii* secara *in vitro*.
2. Aplikasi mikroorganisme antagonis potensial secara *in vivo* mampu menekan persentase kejadian penyakit rebah semai *S. rolfisii*.

### 1.4. Manfaat penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai alternatif pengendalian secara hayati terhadap penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfisii* pada tanaman kedelai.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tanaman kedelai

#### 2.1.1. Taksonomi dan morfologi tanaman kedelai

Taksonomi tanaman kedelai dapat diklasifikasikan sebagai berikut kerajaan Plantae, Divisi Spermatophyta, Sub divisi Angiospermae, Kelas Dicotyledonae, Ordo Polypetales, Famili Leguminose (Papilionaceae), Sub famili Papilionoideae, Genus *Glycine*, Spesies *Glycine max* (L.) Merill (Rukmana, 1996).

Kedelai merupakan tanaman semusim. Bentuk tanaman kedelai adalah semak, tumbuh tegak, berdaun lebat dengan morfologi beragam, tinggi tanaman antara 10-200 cm, dapat bercabang sedikit atau banyak tergantung kultivar dan lingkungan hidupnya. Secara morfologi susunan tubuh kedelai terdiri atas dua macam alat utama, yaitu organ vegetatif dan organ generatif. Organ vegetatif meliputi akar, batang dan daun yang fungsinya adalah sebagai alat pengambil, pengangkut, pengolah, pengedar dan penyimpan makanan sehingga disebut sebagai alat hara atau *organum nutritivum*. Sedangkan organ generatif meliputi bunga, buah dan biji yang berfungsi sebagai alat berkembangbiak atau *organum reproductivum* (Pitojo, 2003).

#### 2.1.2. Syarat tumbuh kedelai

**Iklim.** Kedelai merupakan tanaman daerah sub tropis yang mampu beradaptasi dengan baik didaerah tropis dan dapat tumbuh baik di antara garis lintang 0°-52°. Curah hujan diatas 500 mm setahun. Suhu optimal 25°-30°C. Penyinaran penuh minimal 10 jam/hari dengan kelembaban rata-rata 65%. Penanaman kedelai sebaiknya ditanam pada bulan-bulan kering tetapi air tanah masih cukup tersedia dan untuk pencegahan terjadinya akumulasi hama di suatu daerah baiknya penanaman dirotasikan dengan tanaman lain.

**Tanah.** Kedelai dapat tumbuh di berbagai jenis tanah dengan drainase dan aerasi tanah cukup baik. pH tanah yang cocok untuk kedelai adalah sekitar 5,8-7,0 tetapi pada pH 4,5 pun masih dapat menghasilkan. Pemberian kapur 1 - 2,5 ton/ha pada tanah dengan pH dibawah 5,5 pada umumnya dapat menaikkan hasil (Kementrian Pertanian Republik Indonesia, 2010).

## **2.2. Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc.**

### **2.2.1. Klasifikasi patogen *S. rolfsii***

Klasifikasi jamur *S. rolfsii* digolongkan ke dalam kerajaan Mycetozoa, divisi Amastigomycota, sub divisi Deuteromycotina, kelas Deuteromycetes, sub kelas Deuteromycetidae, ordo Agronomycetales, bangsa Agronomycetaceae, marga *Sclerotium*, jenis *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Alexopoulos dan Mims, 1979).

### **2.2.2. Gejala serangan patogen *S. rolfsii***

*S. rolfsii* merupakan patogen tular tanah yang umum terdapat di daerah tropis dan subtropis. Patogen ini merupakan penyebab penyakit potensial pada tanaman kedelai, karena langsung menyerang pada jaringan tanaman dengan memproduksi miselium yang berlimpah dan menghancurkannya dengan mensekresi asam oksalis, pektinolitik, selulolitik, dan enzim lain setelah penetrasi pada jaringan inang (Agrios, 1997). Jamur patogen *S. rolfsii* menyerang bagian batang utama tanaman inang, tapi terkadang dapat juga menyerang beberapa bagian tanaman termasuk akar, bunga, buah dan daun. Tanaman dipersemaian saat umur 2-3 minggu sangat rentan terhadap serangan jamur ini dan apabila terserang semai akan mati sejak terinfeksi. Pada tanaman tua yang terinfeksi *S. rolfsii* akan segera membentuk jaringan yang perlahan-lahan membentuk luka dan akhirnya mati. Jaringan yang terinfeksi berwarna coklat muda, lembut dan berair Ferreira dan Barley, 1992 (dalam Sastrahidayat, 2013).

Gejala tanaman yang terserang *S. rolfsii* memiliki ciri-ciri layu menguning perlahan-lahan. Pada pangkal batang dan permukaan tanah didekatnya terdapat benang-benang jamur berwarna putih seperti bulu (Gambar 2.1.). Benang-benang ini akan membentuk sklerotium atau gumpalan benang yang mula-mula berwarna putih yang akhirnya menjadi coklat seperti biji sawi dengan garis tengah 1-1,5 mm. Karena memiliki lapisan dinding yang keras, sklerotium dapat dipakai untuk mempertahankan diri dari kekeringan, suhu tinggi, dan keadaan lain-lain yang merugikan. Dalam keadaan yang sangat lembab jamur juga dapat menyerang daun, tangkai dan polong (Semangun, 2004).



Gambar 2.1. Gejala serangan patogen *S. rolfsii* (Sukamto dan wahyuno, 2013)  
Keterangan :A: Miselium pada permukaan batang  
B: Sklerotia yang terbentuk

### 2.2.3. Morfologi patogen *S. rolfsii*

Patogen *S. rolfsii* membentuk hifa berwarna putih dan meluas dengan miselium 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  $\mu\text{m}$ , hifa berwarna hialin dan sklerotia berdiameter 8-10 mm. Jamur ini memiliki koloni yang dapat tumbuh dengan cepat. Diameter koloni mencapai 9 cm setelah 3 hari di media pada suhu 23°C. Koloni jamur berwarna putih dengan banyak untaian hifa. Hifa primer konduktif dengan lebar 4,6-9  $\mu\text{m}$ , rapat dan besehat. Hifa sekunder dan tersier lebih sempit dengan lebar 1,5-2  $\mu\text{m}$  dan umumnya memiliki susunan yang tidak rapat (Domsch dan Gams, 1980).

Semangun (2004) mengemukakan bahwa jamur *S. rolfsii* mempunyai miselium yang terdiri dari benang-benang berwarna putih yang tersusun seperti bulu atau kapas. Jamur ini tidak memiliki spora dan untuk pemencaran serta mempertahankan diri, jamur membentuk sclerotium yang semula berwarna putih yang lama kelamaan menjadi coklat dengan garis tengah kurang lebih 1 mm. Sklerotia terbentuk dari tepi koloni, dinding halus, berwarna krem atau coklat dengan diameter 1-2 mm. Tabung pertama sempit rata-rata 2,2  $\mu\text{m}$ . Sel hifa pendek namun sesudah 15 jam berubah melebar.

#### 2.2.4. Daur hidup penyakit rebah semai

Jamur patogen *S. rolfii* merupakan parasit fakultatif yakni jamur yang dapat bertahan dalam tanah secara saprofitik apabila tidak dijumpai inang (Domsch dan Gams, 1980). *S. rolfii* dapat bertahan pada sisa-sisa tanaman dalam tanah. *S. rolfii* juga dapat bertahan pada sisa-sisa tanaman yang terserang sehingga menjadi sumber infeksi pada tanaman berikutnya. Rahayu (1997) menyatakan bahwa serasah tanaman yang terinfeksi oleh jamur patogen *S. rolfii* menjadi lingkungan yang kondusif bagi penyakit rebah semai di lahan. Patogen *S. rolfii* memiliki kisaran inang yang luas dan dapat hidup saprofit di dalam tanah yang agak basah. Patogen ini dapat membentuk sklerotia sekalipun tidak ada inang yang mendukung kehidupannya. Penyebarannya melalui tanah, bekas tanaman kedelai yang terserang dan melalui air irigasi (Djafaruddin, 2000).

*S. rolfii* tidak membentuk spora dalam siklus hidupnya. Selama musim semi atau panas, hifa akan memproduksi sklerotia. Hifa juga akan berkembang di dalam tanah dan akan menginfeksi tanaman. Hifa melakukan penetrasi dan menyerang batang bawah serta daerah perakaran. Pada daerah batang bawah yang terkena infeksi terdapat miselium berwarna putih dan sklerotia yang dihasilkan tampak pada permukaan tanah. Saat tanaman telah terinfeksi tampak menunjukkan gejala layu pada daun dan cabang rebah. Pada saat musim dingin miselium dan sklerotia akan bertahan pada tanaman yang telah terinfeksi, sisa-sisa tanaman atau pada tanah. Bila kondisi sesuai maka sklerotia akan menyebar melalui bantuan angin untuk menginfeksi pada daerah lain (Mullen, 2001).

Domsch dan Gams (1980) mengemukakan bahwa mekanisme bertahan hidup terutama adalah dengan membentuk struktur dorman yakni sklerotia. Sklerotia memiliki kulit yang tebal dan keras sehingga tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, terutama kekeringan dan suhu tinggi. Masa dorman akan berakhir jika kondisi lingkungan cocok untuk perkembangannya. Mekanisme lain untuk bertahan hidup adalah pada tanaman inang lain. Jamur patogen *S. rolfii* memiliki kisaran inang yang cukup banyak yakni dari famili Leguminoceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, tomat, pisang, jeruk, kentang, gandum, padi, tebu, bit gula dan tanaman obat-obatan.

### 2.2.5. Faktor- faktor yang mempengaruhi tingkat serangan *S. rolfsii*

Sebaran penyakit tular tanah di Indonesia sangat luas yakni meliputi Jawa, sumatera, kalimantan, Bali, Nusa Tenggara Barat, dan Nusa tenggara Timur. Dilaporkan hasil survei pada beberapa lokasi di lampung dan sumatera oleh Sumartini dan Yusnawan (2006) terdapat serangan petogen *S. rolfsii* pada kacang hijau. Semangun (2004) menambahkan bahwa penyakit dapat berkembang lebih cepat pada cuaca yang lembab, jamur dapat menginfeksi baik melalui luka maupun tanpa melalui luka.

Faktor yang mempengaruhi daya hidup *S. rolfsii* antara lain suhu, cahaya, kelembaban tanah, aerasi tanah, pH tanah, struktur propagul, kandungan oksigen dan karbondioksida. Suhu optimal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *S. rolfsii* adalah 25-35°C, dengan suhu minimum 8°C dan suhu maksimum 32°C. Berikut merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan jamur *S. rolfsii* menurut Tu dan Kimbrough, 1978 (*dalam* Sastrahidayat, 2013) adalah

#### a. Kedalaman sklerotia

Kedalaman sklerotia yang terpendam didalam tanah menjadi salah satu faktor dalam memepengaruhi tingkat serangan *S. rolfsii*. Apabila terdapat sklerotia yang terpendam pada kedalam lebih dari 15 cm dari tanah, biasanya sklerotia tersebut tidak akan berkecambah. Namun miselium dari patogen ini dapat diisolasi pada kedalaman 10 cm dari permukaan tanah.

#### b. Suhu dan kelembapan

Suhu optimal yang dibutuhkan untuk *S. rolfsii* berkisar antara 25°-30°C, sedangkan suhu minimum dan suhu maksimal yang diperlukan jamur *S. rolfsii* untuk tumbuh normal pada suhu 8°C dan 32° C. Kelembapan tanah untuk perkecambahan sklerotia yang maksimum berkisar antar 25-35%. Pada musim kemarau yang tinggi dapat memberikan keadaan kondusif bagi jamur *S. rolfsii* untuk dapat menyebabkan kerusakan pada tanaman inangnya.

#### c. pH tanah

pH tanah untuk pertumbuhan miselia yang baik yaitu 3-5 dan untuk perkecambahan sklerotia antara pH 2-5. Perkecambahan akan terhambat pada pH diatas 7.

d. Aerasi tanah

Jamur patogen *S. rolfisii* dapat membentuk sklerotium apabila kandungan oksigen didalam tanah sebanyak 15% dan kandungan karbondioksida kurang dari 4%, untuk perkecambahan sklerotia membutuhkan konsentrasi oksigen di atas 60% dan konsentrasi karbondioksida dibawah 10%.

## 2.3. Rhizosfer

### 2.3.1. Hubungan antara rhizosfer dengan patogen

Istilah rhizosfer diperkenalkan pada tahun 1904 oleh Hitler yang artinya untuk menunjukkan bagian tanah yang dipengaruhi oleh perakaran tanaman. Lingkungan tanah merupakan lingkungan yang terdiri dari lingkungan biotik dan abiotik. Gabungan dari kedua lingkungan ini dapat dijadikan satu wilayah yang dapat dijadikan sebagai tempat tinggal makhluk hidup salah satunya adalah mikroorganisme tanah. Mikroorganisme di daerah rhizosfer ada yang bermanfaat, tetapi ada juga yang merugikan khususnya di bidang pertanian. Mikroorganisme di sekitar rhizosfer banyak juga yang bersifat sebagai patogen tanaman. Untuk menekan kerugian di bidang pertanian akibat patogen ini banyak dilakukan pemberantasan, baik secara fisik, kimia maupun biologis (Rao, 1994).

Rebecca (2005) menyatakan bahwa rhizosfer merupakan tempat yang intensif untuk aktivitas kimia dan biologis mikroorganisme yang dipengaruhi oleh eksudat akar. Eksudat akar meliputi asam amino, asam organik, karbohidrat, gula, vitamin, getah dan protein yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan dari organisme. Penyedia makanan dari akar ini dapat menjadikan aktivitas mikroorganisme pada rhizosfer lebih banyak dibandingkan dengan non rhizosfer. Eksudat akar memodifikasi rhizosfer dalam rangka pengendalian kimia atau fisik dan memiliki kontribusi bagi pertumbuhan akar dan ketahanan tanaman. Hubungan antara organisme dan akar dapat menguntungkan, merusak, atau netral tetapi seiring pengaruhnya tergantung pada kondisi tanah. Akar menghasilkan eksudat atau getah akar yang dapat mempengaruhi perkembangbiakan dan kelestarian dari patogen yang menginfeksi perakaran di dalam tanah baik melalui fungistatis tanah maupun melalui penghambatan jumlah patogen di dalam rhizosfer. Istilah fungistatis tanah digunakan untuk menjelaskan ketidakmampuan

spora yang nondorman, sklerosia atau propagul untuk berkecambah walaupun berada dalam kondisi pH, temperatur dan kelembaban yang sesuai bagi pertumbuhannya dalam tanah. Fungistatis dapat dilepaskan atau dipecahkan oleh efek rhizosfer dari tanaman yang menciptakan lingkungan yang cocok bagi perkecambahan spora (Rao, 1994).

Sklerotia merupakan struktur penerus kehidupan dari patogen tanaman tertentu. Sklerosia dari banyak jamur patogen seperti *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Phytium*, *Colletotrichum* dan *Phytophthora* telah diketahui dapat berkecambah dengan adanya perangsang yang dihasilkan oleh getah akar dari tanaman inang yang peka. Perangsang-perangsang perkecambahan itu ternyata dapat dikaitkan dengan senyawa-senyawa yang dikeluarkan oleh perakaran tanaman yang membantu mengatasi sifat statis dari struktur reproduktif yang dorman didalam tanah dengan beberapa cara (Rao, 1994).

Getah akar makanan mungkin menghasilkan makanan dasar untuk perumbuhan antagonis yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen di dalam tanah. Dilaporkan bahwa di dalam rhizosfer dari varietas yang resisten terkandung lebih banyak *Streptomyces* dan *Trichoderma* daripada di dalam rhizosfer dari varietas yang peka. Kemudian getah akar yang mengandung senyawa beracun seperti glikosida dan asam hidrosianat mungkin menghambat pertumbuhan patogen. Salah satu kasus ditunjukkan oleh pengetahuan asam hidrosianat oleh varietas rami bison yang resisten terhadap *Fusarium*. Walaupun telah dilakukan berbagai cara untuk mengkorelasikan kandungan asam hidrosianat di dalam getah akar dengan resistensi terhadap penyakit, hasilnya tetap tidak menyakinkan. Jadi tidak ada bukti yang tegas mengenai senyawa khusus yang menghambat pertumbuhan dan kegiatan patogen pada kasus-kasus tanaman yang berbeda resisten terhadap penyakit (Rao, 1994).

### **2.3.2. Mikroorganisme rhizosfer sebagai agens pengendali hayati**

Secara alami tanah memiliki potensi mikroorganisme yang mampu menekan perkembangan patogen dalam tanah. Sebagian besar mikroorganisme antagonis tersebut hidup sebagai saprofit. Kemampuan organisme dalam beradaptasi terhadap berbagai keadaan lingkungan merupakan potensi besar untuk digunakan

sebagai agen pengendali hayati (Baker dan Cook, 1982). Mikroorganisme di dalam tanah saling berinteraksi satu dengan yang lain sehingga interaksinya dapat saling menguntungkan, merugikan atau bahkan tidak berpengaruh satu dengan yang lain. Persaingan terjadi karena ada kebutuhan yang sama terhadap faktor lingkungan yang terbatas jumlahnya (Jati, 2009).

Pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan mikroorganisme tanah akhir-akhir ini semakin memberi harapan. Mikroorganisme tanah pada umumnya lebih banyak terdapat dipermukaan tanah, semakin masuk ke dalam tanah populasinya akan semakin rendah. Mikroorganisme saprofit biasanya tumbuh lebih cepat daripada parasit karena mudah beradaptasi dengan lingkungan dan mampu hidup pada substrat yang mati. Selain itu saprofit juga lebih toleran terhadap antibiotik, fungisida, bakterisida dan zat kimia beracun serta mempunyai penyebaran yang luas (Cook dan Baker, 1982).

Mikroorganisme yang hidup pada daerah rhizosfer biasanya digunakan sebagai agen pengendalian hayati. Keberadaan mikroorganisme antagonis pada daerah rhizosfer dapat menghambat persebaran dan infeksi akar oleh patogen, keadaan ini disebut hambatan alamiah mikroba. Mikroba antagonis sangat potensial dikembangkan sebagai agen pengendalian hayati. Selain sebagai agen antagonis, mikroorganisme tanah juga dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman dengan memproduksi senyawa-senyawa stimulat pertumbuhan seperti auksin dan fitohormon (Waksman, 1952). Rhizosfer lebih banyak ditemukan bakteri, kemudian actinomycetes dan terendah adalah jamur. Tanah dilingkungan sekeliling akar sangat dipengaruhi oleh aktivitas metabolik akar, sehingga mikroorganisme tanah mendapatkan keuntungan dari pertumbuhan akar (Rao, 1994).

Dari golongan jamur dikenal beberapa antagonis yang penting, diantaranya adalah *Trichoderma* sp. yang sangat potensial sebagai agens pengendali hayati tumbuhan karena jamur tersebut memiliki sifat-sifat antagonis yang kuat diantaranya adalah mampu menghasilkan enzim pemecah khitin dan memproduksi antibiotik yang bervariasi serta merupakan kompetitor ruang dan nutrisi yang baik (Dennis dan Webster, 1971).

Actinomycetes juga memiliki kemampuan untuk menjadi agens antagonis pada patogen tanaman. Di Cina, selama 30 tahun penggunaan *Streptomyces griseus* strain 5406 dilaporkan dapat menekan patogen tular tanah *Rhizoctonia*, *Phytophthora infestans*, *Pseudomonas syringae* serta *Xantomonas campestris* (Gardener dan Fravel, 2002). Mekanisme antagonis yang dilakukan Actinomycetes adalah antibiosis yakni dengan mengeluarkan berbagai macam antibiotik, kompetisi terutama terhadap penggunaan karbon dan parasitisme dengan mengeluarkan enzim kitinase untuk merusak dinding sel jamur (Robert, 2002). Dalam penelitian Mujoko *et al.* (2005) menyebutkan bahwa dari hasil isolasi lapang didapatkan isolat actinomycetes Cangar, Wajak, Batu dan Karangploso. Dari 4 isolat tersebut, didapati bahwa isolat Wajak dan Batu bersifat antibiosis sedangkan isolat Cangar dan Karangploso mampu berkompetisi dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. Dari penelitian tersebut juga didapati bahwa isolat Batu dan isolat Karangploso efektif dalam menekan pertumbuhan *F. oxysporum* sampai 100%. Rao (1994) menyebutkan bahwa populasi Actinomycetes pada tanah rhizosfer akan semakin meningkat dengan bertambahnya umur tanaman pada kedalaman 8 inci dari permukaan tanah populasinya sangat melimpah.

### 2.3.3. Pengaruh mikroba rhizosfer pada tanaman

Banyak dilaporkan mengenai efek dari mikroba tanah pada tanaman, namun masih banyak perbedaan mengenai hubungan organisme rhizosfer dan nonrhizosfer. Bertambahnya konsentrasi CO<sub>2</sub> di rhizosfer berasal dari bertambahnya respirasi mikroba dan jaringan tanaman melalui proses mineralisasi dalam tanah. Hal menarik didapatkan Geretsen bahwa fosfat yang tidak larut menjadi larut karena peranan mikroba di sekitar akar tanaman dan ada hubungannya dengan fisiologis tanaman. Hal ini menunjukkan bertambahnya bahan organik akan diolah mikroba tersebut menjadi antibiotik, vitamin dan auxin (Sastrahidayat, 2012).

Perubahan keseimbangan mikroba dalam rhizosfer merupakan hal yang mungkin dapat terjadi. Kondisi patologi menghasilkan luka pada akar dan akan bertambahnya populasi mikroba, kemungkinan juga perubahan kualitatif dan

kuantitatif pada eksudat akar oleh bertambahnya dekomposisi jaringan mati. Perubahan kondisi tanah yang menghasilkan meningkatnya penyakit juga berpengaruh pada tanah dan mikroflora rhizosfer yang akan terjadi peningkatan jumlah mikroflora yang awal melakukan kolonisasi dan mengurangi yang datang kemudian serta akan mengecilkan R/S rasio. Walaupun demikian pengaruh rhizosfer tanaman dapat juga terjadi karena perubahan nutrisi atau perbaikan tanah. Modifikasi sesaat dari rhizosfer dapat dibuat dengan inokulasi benih atau tanah menggunakan mikroba, misalnya dengan azotobakter yang tidak efektif dalam pembuatan nitrogen untuk tanaman tetapi dapat membantu perkecambahan dan merangsang benih untuk memproduksi auxin (Sastrahidayat, 2012).

#### 2.3.4. Antagonis dan pengaruhnya di dalam rhizosfer

Pembuktian mengenai terjadinya stimulasi preferensi dalam rhizosfer terhadap mikroba antagonis masih banyak bertentangan. Kesulitannya adalah dalam hal menggambarkan secara visual pengaruh langsung. Demikian juga dengan terjadinya perubahan hubungan antagonis dengan karakteristik nutrisinya. Beberapa peneliti melaporkan bahwa persentase organisme antagonis pada rhizosfer lebih tinggi dari pada non rhizosfer. Proporsi dari tipe antagonis dalam rhizosfer dapat berubah dengan perbaikan tanah yang akhirnya berpengaruh pada penyakit akar. Suatu penelitian melaporkan bahwa ada hubungan dalam tanah yang ditanami kedelai sebagai tanaman penutup untuk mengurangi penyakit scab pada kentang yang ternyata mampu menaikkan persentase antagonis dari patogen penyebabnya yakni *Streptomyces scabies*. Hal yang menarik lainnya adalah makin tingginya jumlah antagonis dari *Phymatotrichum omnivorrum* yang dibandingkan dengan lebih tingginya bahan organik yang dimasukkan dalam tanah yang ditanami kapas, sehingga rata-rata kerusakan akibat penyakit menjadi rendah (Sastrahidayat, 2012).

Terdapat banyak tanah yang menarik untuk diteliti yang didasarkan oleh fenomena yang intensif dalam rhizosfer seperti adanya produksi substrat oleh organisme tertentu yang dibutuhkan oleh mikroorganisme lainnya. Misalnya adalah adanya kemampuan bakteri dalam mensintesis asam amino dengan hanya memerlukan makanan sederhana sedangkan hasil sintesanya diperlukan

organisme lain yang terstimulasi dalam rhizosfer. Substansi tertentu untuk pertumbuhan mikroba mungkin esensial sedangkan untuk mikroba lain mungkin hanya sebagai stimulator. Hal tersebut tentu menjadi masalah yang rumit dalam suatu hubungan dengan anggota rhizosfer lainnya (Ssatrahidayat, 2012).

### 2.3.5. Faktor pertumbuhan mikroba dan rhizosfer

Sebagian besar vitamin B yang merupakan faktor pertumbuhan bagi mikroba terdapat pada tanah subur yang terjadi melalui beberapa proses yakni (a) lepas dari tanaman yang mengandung vitamin, (b) dekomposisi residu binatang, (c) terlepasnya substrat dari akar tanaman dan (d) terjadinya sintesa oleh mikroba. Faktor tersebut dapat berubah tergantung dari sifat alami tanah, kecepatan penggunaan pupuk organik dan luasnya pertumbuhan tanaman. Kapasitas organisme mensintesis vitamin menjadi faktor penting dalam kontribusi suplai vitamin yang disebabkan oleh mikroba juga menggunakan vitamin hasil sintesis, maka konsentrasi faktor tumbuh tergantung pada keseimbangan antara agen sintesis dan pengguna. Hasil studi terhadap strain bakteri bahwa dari 534 strain yang diisolasi di lapangan dengan metode non selektif, ternyata 7,6% memerlukan vitamin B12 sebagai nutrisi essensi. Vitamin menjadi essensial baik berdiri sendiri maupun bersama faktor lainnya. Ada efek rhizosfer membuktikan bahwa bakteri memerlukan vitamin B12 dan suatu substansi pertumbuhan untuk *Arthrobacter terregens* dan beberapa spesies (Sastrahidayat, 2012).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang dan rumah kaca di daerah Tanjung Malang. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Oktober hingga Januari 2015.

#### 3.2. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, cawan petri berdiameter 9 cm, jarum ose, bunsen, kertas label, mikroskop, kaca preparat, *cover glass*, tabung reaksi, pipet, kertas saring berdiameter 0,5 cm, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), cetok, kantong plastik ukuran 2 kg, mistar, *cork borer* berdiameter 0,5 cm, timbangan, *vortex mixer*, kamera, cangkul dan *tray* pembibitan.

Adapun bahan yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Glucose Nitrat Agar* (GNA), media *Nutrient Agar* (NA), minyak immersi, media dedak dextrose, tanah dari rhizosfer kedelai, tanaman kedelai yang diduga terinfeksi *S. rolfii* dilapang, alkohol 70%, NaOCL 2%, alumunium foil, plastik *wrap*, kapas, *tissue*, air destilasi, larutan *laktofenol cotten blue*, spirtus bakar, tanah steril dan benih kedelai varietas burangrang.

#### 3.3. Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Dalam penelitian tersebut terdapat 5 tahapan, yakni:

1. Isolasi dan identifikasi jamur patogen *S. rolfii*.
2. Eksplorasi dan pendahuluan uji antagonis mikroorganisme rhizosfer kedelai serta identifikasi mikroorganisme antagonis potensial dari rhizosfer kedelai.
3. Uji antagonis mikroorganisme rhizosfer potensial terhadap patogen *S. rolfii* di laboratorium. Pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Adapun jenis perlakuan ini adalah tanpa mikroorganisme antagonis atau

kontrol, pemberian Isolat 1, pemberian Isolat 2, pemberian Isolat 3, pemberian Isolat 4 dan pemberian jamur *Trichoderma* sp.

4. Pengujian antibiosis di laboratorium. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh antibiotik yang dihasilkan oleh 4 isolat bakteri tersebut terhadap luas miselium jamur *S. rolfii*. Pada tahap penelitian ini menggunakan RAL dengan 5 perlakuan yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Adapun jenis perlakuannya adalah tanpa larutan antibiotik atau kontrol, pemberian antibiotik bakteri isolat 1, pemberian antibiotik bakteri isolat 2, pemberian antibiotik bakteri isolat 3 dan pemberian antibiotik bakteri isolat 4.
5. Pengujian pengaruh mikroorganisme potensial terhadap jamur *S. rolfii* di rumah kaca. Pada penelitian tahap kelima ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan. Adapun jenis perlakuan adalah kontrol atau tanpa antagonis (A0), pemberian bakteri isolat 1 (A1), pemberian bakteri isolat 2 (A2), pemberian bakteri isolat 3 (A3), pemberian bakteri isolat 4 (A4) dan pemberian jamur *Trichoderma* sp. (A5). Masing-masing perlakuan tersebut diulang sebanyak 4 kali dan pada masing-masing ulangan terdiri dari 105 tanaman kedelai.

### **3.4. Persiapan penelitian**

#### **3.4.1. Penelitian secara *in vitro***

##### **a. Penyediaan media PDA**

Pertama adalah mengupas kentang segar kemudian memotong kentang segar  $\pm 1$  cm. Kemudian menimbang kentang segar sebanyak 250 gr, agar-agar sebanyak 20 gr dan dextrose 20 gr. Selanjutnya merebus kentang dalam 750 ml aquades hingga lunak  $\pm 20$  menit, untuk mendapatkan ekstrak kentang yang akan dijadikan media PDA.

Kemudian mengambil gelas ukur dan menyaring kentang yang sudah lunak tersebut sehingga didapatkanlah ekstrak kentang. Setelah itu mencampur dextrose dan agar yang larutkan dalam 250 ml aquades, lalu mencampur dengan ekstrak kentang hingga volume dalam gelas ukur mencapai 1000 ml. Dextrose berguna sebagai nutrisi dalam media dan agar berfungsi untuk memadatkan

media dalam pembuatan media PDA. Selanjutnya yakni dengan mencampur semua bahan diatas kemudian menuang ke dalam botol media lalu mengambil kapas dan aluminium foil sebagai penutupnya. Terakhir, sterilkan dalam autoklaf selama  $\pm 1,5$  jam. Media PDA yang steril (Lampiran 31.) kemudian dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 15-20 ml. Media PDA siap digunakan untuk inokulasi jamur atau bakteri yang didapatkan.

#### **b. Penyediaan media GNA**

Media GNA terdiri dari glukosa 1 gram, agar 15 gram,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ , KCL dan  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  yang mana keempat bahan terakhir masing-masing diberikan 1 ml dari 10% larutan. Pada penelitian ini menggunakan media GNA karena kebanyakan bakteri dan jamur sulit tumbuh dalam media ini jadi hanya bakteri dan jamur tertentu yang dapat tumbuh (Sastrahidayat, 1996). Kemudian sterilkan dalam autoklaf selama  $\pm 1,5$  jam. Media GNA (Lampiran 31.) steril kemudian dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 15-20 ml. Media GNA siap digunakan untuk eksplorasi mikroorganisme rhizosfer kedelai.

#### **c. Penyediaan media NA**

Media NA sebanyak 1 liter dibuat dengan melarutkan 31 gr NA dalam 1000 ml akuades. Kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk dan dipanaskan hingga semua bahan larut. Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama  $\pm 1,5$  jam. Media NA (Lampiran 31.) yang sudah steril kemudian dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 15-20 ml. Media NA siap digunakan untuk inokulasi bakteri yang didapatkan.

#### **d. Pengambilan contoh tanah**

Pengambilan contoh tanah dilakukan satu kali dengan cara tanah diambil menggunakan cetok di BALITKABI Malang. Contoh tanah tersebut diisolasi dari tanah sekitar perakaran kedelai pada kedalaman 10-15 cm. Hal tersebut dikarenakan banyaknya keanekaragaman mikroorganisme tanah yang tumbuh dan sering berinteraksi dengan jamur patogen *S. rolfii* sehingga diharapkan memiliki kemampuan yang baik dalam menekan pertumbuhan patogen *S. rolfii* tersebut. Selanjutnya contoh tanah yang diambil tersebut dimasukkan kedalam kantong

plastik ukuran 2 kg dan diberi label serta dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengujian.

### 3.4.2. Penelitian secara *in vivo*

#### a. Persiapan dan perbanyak jamur patogen *S. rolfii*

Jamur patogen *S. rolfii* diperbanyak dengan media semi sintetis dedak dextrose (Gambar 3.1.). Media dedak dextrose merupakan media campuran dari dedak dan dextrose dengan perbandingan 20 gram dan 0,2 gram dengan ditambahkan aquades steril sebanyak 6 ml. Media yang tercampur dimasukkan dalam botol selai dan ditutup aluminium foil serta disterilkan dalam autoclave  $\pm$  30 menit. Setelah media tersebut dingin, masing-masing medium tersebut diberi lima potongan (*disk*) biakan jamur *S. rolfii* yang berumur 5 hari pada media PDA. Kemudian diinkubasi dalam suhu kamar selama 2 minggu. Media dedak dextrose digunakan juga untuk perbanyak jamur *Trichoderma* (Gambar 3.1.).



Gambar 3.1. Perbanyak jamur pada media semi sintetis dedak dextrose

Keterangan : A: Jamur patogen *S. rolfii*

B: Jamur *Trichoderma* sp.

#### b. Persiapan benih kedelai

Benih yang digunakan adalah varietas Burangrang (Lampiran 32.) yang diketahui sebagai benih dengan varietas rentan terhadap serangan penyakit rebah semai. Benih tersebut diperoleh dari BALITKABI Malang.

### c. Persiapan larutan antibiotik dari masing-masing isolat bakteri perlakuan

Larutan antibiotik didapatkan dengan mengambil 5 potongan bagian pada daerah zona bening yang dihasilkan dari uji antagonis yang memiliki mekanisme penghambatan antibiosis pada patogen *S. rolf sii*. Potongan-potongan tersebut dimasukkan pada tabung reaksi steril kemudian dicampur dengan 10 ml aquades steril. Lalu ujung tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan diberi label sesuai perlakuan isolat. Selanjutnya dilakukan pencampuran menggunakan *vortex mixer* selama 10 menit dan larutan antibiotik sudah siap untuk diuji.

### d. Analisis kimia tanah

Analisis contoh tanah yang akan dijadikan bahan untuk penelitian eksplorasi meliputi pH, kandungan C-organik, N, P dan K (Lampiran 29). Analisis kimia tanah ini dilakukan di laboratorium kimia tanah Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

## 3.5. Pelaksanaan penelitian

### 3.5.1. Penelitian secara *in vitro*

#### a. Isolasi jamur patogen *S. rolf sii*

Penyediaan inokulum jamur patogen *S. rolf sii* dilakukan dengan isolasi tanaman kedelai yang diduga terserang *S. rolf sii* di lapang. Tanaman bergejala tersebut dicabut untuk bahan isolasi. Bagian tanaman kedelai bergejala dipotong  $\pm 1$  cm dengan keadaan potongan setengah bagian batang sehat dan setengah bagian batang sakit kemudian dibersihkan dengan air mengalir. Selanjutnya, merendam dengan NaOCL 2% sebanyak satu kali selama satu menit, alkohol 70% satu kali selama satu menit dan merendam dengan aquades sebanyak dua kali masing-masing selama satu menit. Potongan bagian tanaman tersebut diisolasi dengan cara meletakkan pada permukaan media PDA dalam cawan petri. Kemudian diinkubasi selama 3-6 hari dalam suhu ruang sampai miselium jamur memenuhi cawan petri atau sampai hifa-hifa tumbuh memenuhi cawan petri sampai akhirnya terbentuk sklerotia. Kemudian dilakukan identifikasi dengan menggunakan buku *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*.

### b. Isolasi mikroorganisme rhizosfer kedelai

Contoh tanah yang didapatkan ditimbang pada timbangan analitik sebanyak 1 gram. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi steril dan diencerkan dengan aquades steril sebanyak 9 ml. Setelah itu digojog dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian larutan diambil 1 ml dengan pipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah diisi dengan aquades steril 9 ml (pengenceran  $10^{-2}$ ). Demikian seterusnya sampai pengenceran  $10^{-6}$ . Pada pengenceran terakhir diambil 1 ml kemudian secara aseptis dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang berisi medium GNA yang masih cair lalu diratakan dengan cara digoyang. Selanjutnya menunggu hingga media tersebut padat dan direkatkan plastik *wrap*. Terakhir diinkubasi pada suhu ruang selama satu sampai tujuh hari. Setelah diinkubasikan, koloni yang didapat dimurnikan. Pemurnian dapat dilakukan pada setiap koloni mikroorganisme yang dianggap berbeda berdasarkan morfologi pada cawan petri. Kemudian diberi label dalam koleksi tersendiri dan dilakukan uji antagonisme guna mendapatkan mikroorganisme yang potensial serta dilakukan identifikasi. Identifikasi dilakukan hanya terhadap isolat yang potensial menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfii* untuk kepentingan aplikasi secara *in vivo*. Untuk identifikasi jamur berdasarkan buku *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* sedangkan dari bakteri berdasarkan Cappuccino dan Sherman, 2002 (dalam Hajar, 2012) mengenai karakterisasi morfologi koloni pada media NA kemudian dilanjutkan dengan uji reaksi gram (Lampiran 23.). Uji reaksi gram terhadap bakteri antagonis dilakukan dengan menggunakan dua pangujian yakni pengujian pewarnaan gram dan pengujian reaksi KOH 3%.

**Pengujian pewarnaan gram.** Isolat bakteri yang akan diuji terlebih dahulu dibuat suspensi dengan menggunakan aquades steril yang diletakkan di atas kaca preparat yang telah disterilkan. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan kristal violet 5% sebanyak 2 hingga 3 tetes kemudian diamkan selama  $\pm 20$  detik. Larutan kristal violet berfungsi sebagai cat utama yang mewarnai sel bakteri menjadi ungu. Kemudian di bilas dengan menggunakan aquades steril dan dibiarkan kering. Selanjutnya ditetesi dengan larutan iodine sebanyak 1-2 tetes dan diamkan selama 1 menit. Larutan iodine berfungsi sebagai mordant yang meningkatkan interaksi antara sel bakteri dan cat utama. Setelah satu

menit bilas kembali dengan menggunakan aquades steril dan keringkan. Selanjutnya tetesi dengan larutan safranin 0,1% dan diamkan selama  $\pm 20$  detik. Larutan safranin 0,1% berfungsi sebagai warna penutup yang akan memberikan warna merah pada sel bakteri. Kemudian bilas dengan aquades steril dan dikeringkan, terakhir amati dibawah mikroskop. Saat dilakukan pengamatan dimikroskop, preparat yang sudah disiapkan dalam pengecatan tersebut di beri minyak immersi agar bentuk sel bakteri terlihat lebih jelas. Bakteri yang menunjukkan gram negatif akan terlihat berwarna merah sedangkan bakteri yang menunjukkan gram positif akan terlihat berwarna ungu.

**Pengujian KOH 3%.** Isolat bakteri yang akan diuji terlebih dahulu dibuat suspensi dengan menggunakan aquades steril yang diletakkan di atas kaca preparat yang telah disterilkan. Kemudian di tetesi larutan KOH 3% dan di ratakan dengan menggunakan jarum ose lalu diangkat. Apabila suspensi bakteri tidak terangkat oleh jarum ose maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram positif sedangkan bakteri yang memiliki gram negatif akan menunjukkan reaksi KOH dengan menunjukkan kenampakan seperti lengket dan terlihat berlendir pada jarum ose.

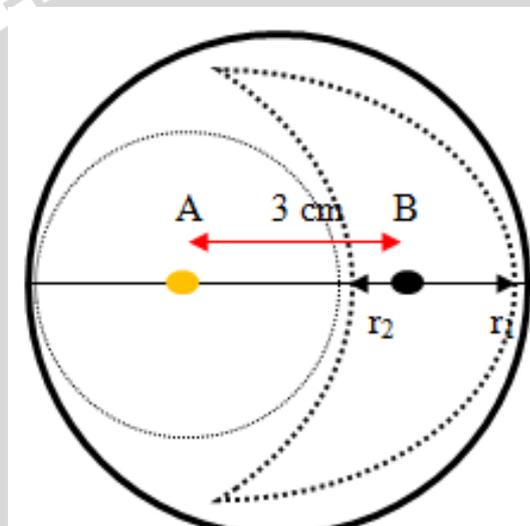
#### **c. Pendahuluan uji antagonis mikroorganisme potensial pada media PDA**

Pendahuluan uji antagonis dilakukan untuk mengetahui isolat dari hasil eksplorasi yang memiliki sifat antagonis terhadap patogen *S. rolfsii*. Isolat hasil eksplorasi ditempatkan pada tepi cawan petri secara presisi. Cawan petri yang digunakan telah diisi dengan media PDA tanpa antibakteri. Pada tepat tengah cawan petri diletakkan koloni jamur patogen *S. rolfsii* dan disekitar jamur patogen *S. rolfsii* diletakkan isolat hasil eksplorasi. Untuk isolat golongan bakteri, dilakukan dengan mencelupkan potongan kertas saring dalam suspensi bakteri yang akan diuji, sedangkan isolat dari golongan jamur dilakukan mengambil koloni menggunakan *cork borer* kemudian diletakkan di atas media PDA.

#### **d. Uji antagonis mikroorganisme potensial pada media PDA**

Uji antagonisme pada biakan media PDA dilakukan dengan metode oposisi langsung yakni dengan meletakkan inokulum jamur patogen dan satu jamur

rhizosfer kedelai secara berhadapan dalam satu cawan petri berdiameter 9 cm. Pemotongan jamur antagonis dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 0,5 cm. Untuk isolat bakteri antagonis, dilakukan dengan mencelupkan potongan kertas saring kedalam suspensi isolat bakteri antagonis yang akan diuji dan diletakkan diatas media PDA. Selanjutnya dapat diuji daya hambatnya dengan meletakkan potongan-potongan tersebut secara berhadapan. Diameter awal masing-masing jamur dan kertas saring untuk isolat bekteri adalah 0,5 cm. Jarak antar patogen dan mikroorganisme antagonis masing-masing adalah 3 cm (Gambar 3.2.). Untuk perlakuan kontrol, jamur patogen *S. rolfsii* diletakkan pada tengah-tengah cawan petri.



Gambar 3.2. Metode oposisi langsung

Keterangan : A: Mikroorganisme antagonis

B: Jamur patogen *S. rolfsii*

Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu kamar dan diamati sampai pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada perlakuan kontrol penuh pada cawan petri yakni sekitar 5 hari. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap jari-jari patogen yang tumbuh untuk perlakuan antagonis. Untuk perlakuan kontrol hanya dilakukan pengamatan mengenai diameter pertumbuhan jamur patogen tersebut. Pada saat pengamatan persentase penghambatan dilihat juga mengenai mekanisme penghambatan yang dilakukan jamur atau bakteri antagonis yang selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopis mengenai interaksi yang ditimbulkan

oleh jamur atau bakteri antagonis tersebut terhadap patogen *S. rolfii* dengan cara mengambil hifa pada bagian tepi yang berinteraksi langsung dengan jamur atau bakteri antagonis selanjutnya diamati dibawah mikroskop dan dokumentasi.

#### **e. Uji antibiosis isolat bakteri potensial dengan patogen *S. rolfii***

Uji tersebut dilakukan dengan mengambil larutan antibiotik sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet steril yang selanjutnya dicampur kedalam media PDA yang masih cair dengan suhu 35-40°C dengan cara digoyang-goyangkan dan ditunggu hingga media PDA tersebut mengeras. Setelah media PDA mengeras dilakukan inokulasi jamur patogen *S. rolfii* sebanyak 3 potongan (diameter 0,5 cm). Kemudian diinkubasi selama 1 hari dan dilakukan pengamatan terhadap luas miselium *S. rolfii* yang tumbuh. Setelah dilakukan perhitungan, dilakukan juga pengamatan mengenai interaksi dari larutan antibiotik terhadap hifa jamur patogen *S. rolfii*. Kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopis mengenai interaksi tersebut dengan mengambil hifa pada bagian tepi yang berinteraksi langsung dengan jamur atau bakteri antagonis selanjutnya diamati dibawah mikroskop dan dilakukan dokumentasi.

### **3.5.2. Penelitian secara *in vivo***

#### **a. Inokulasi jamur patogen *S. rolfii***

Inokulasi *S. rolfii* dilakukan pada saat 1 hari sebelum tanam. Cara untuk inokulasi jamur patogen *S. rolfii* adalah dengan mencampurkan tanah steril dan biakan jamur *S. rolfii* dengan perbandingan 1 kg tanah dicampur dengan 10 gram biakan jamur *S. rolfii* (Solichah, 2009).

#### **b. Inokulasi isolat bakteri antagonis**

Inokulasi isolat bakteri antagonis dilakukan dengan cara perendaman. Larutan yang digunakan untuk perendaman benih dilakukan dengan menyiapkan 100 ml aquades steril kemudian ditambahkan 2 ml larutan antibiotik dari masing-masing isolat bakteri perlakuan. Untuk perlakuan kontrol dan *Trichoderma* hanya direndam dengan menggunakan aquades steril. Selanjutnya dimasukkan benih kedelai sebanyak 100 butir. Perendaman benih dilakukan selama 10 menit.

### c. Inokulasi isolat jamur antagonis

Inokulasi *Trichoderma* dilakukan bersamaan dengan inokulasi *S. rolfsii* dengan mencampurkan tanah dan biakan *Trichoderma* sp. dengan perbandingan 1 kg tanah di campur 10 gram biakan *Trichoderma* sp. (Sastrahidayat, 2014).

### d. Penanaman kedelai

Penanaman kedelai dilakukan dengan mengisi satu lubang *tray* pembibitan dengan satu butir benih kedelai yang sudah diberikan perlakuan perendaman.

### d. Pemeliharaan tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman dilakukan 2 hari sekali dan penyiangan gulma bila ada gulma yang tumbuh.

## 3.6. Parameter pengamatan

### a. Persentase penghambatan

Pengamatan dilakukan setiap hari dan dihentikan saat patogen dalam perlakuan kontrol menyentuh tepi petri. Persentase penghambatan dihitung dalam rumus yang dikemukakan oleh Alfizar, *et al.* (2013) yakni:

$$P = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100 \%$$

Keterangan:

- P : Persentase penghambatan
- $r_1$  : Jari-jari patogen yang berlawanan arah dengan jamur antagonis
- $r_2$  : Jari-jari patogen menuju ke arah jamur antagonis

### b. Luas miselium jamur *S. rolfsii* pada uji antibiosis

Pengamatan dilakukan setiap hari dan dihentikan saat patogen pada perlakuan kontrol menyentuh tepi petri. Luas miselium jamur *S. rolfsii* dihitung menggunakan rumus luas lingkaran yakni

$$L = \pi r^2$$

Keterangan :

- L : luas lingkaran (cm<sup>2</sup>)
- $\pi$  : bilangan irrasional, nilainya 3,14 atau  $\frac{22}{7}$
- r : jari-jari lingkaran (cm)

### c. Persentase kejadian penyakit

Pengamatan dilakukan setiap 2 hari sekali setelah tanam. Berikut merupakan rumus menghitung persentase kejadian penyakit.

$$I = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

I : intensitas atau tingkat serangan

a : jumlah tanaman yang terserang penyakit

b : jumlah populasi tanaman yang diamati

### 3.7. Analisis data

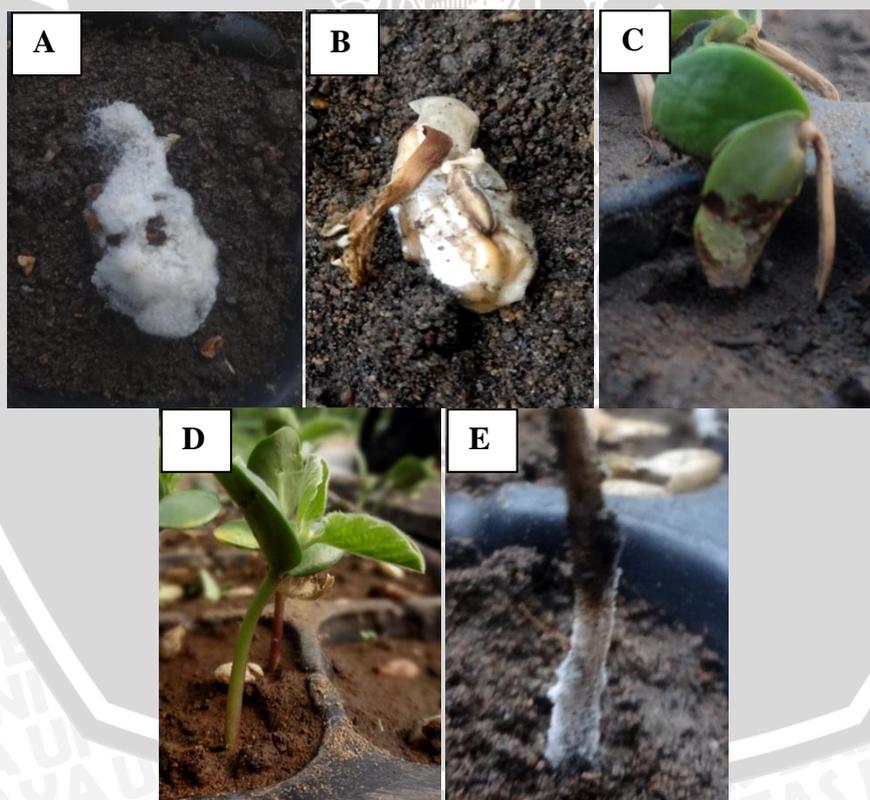
Data yang didapatkan kemudian dianalisis secara statistika dengan menggunakan ANOVA dan apabila dalam pengujian analisis ragam diperoleh pengaruh perlakuan berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan yang diteliti.



#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1. Identifikasi jamur patogen *Sclerotium rolfsii*

Gejala serangan penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfsii* dapat diketahui di lapang dengan ciri-ciri pada benih terdapat miselium berwarna putih yang menyelimuti benih kedelai sehingga benih akan terhambat pertumbuhannya bahkan benih tidak dapat tumbuh. Patogen *S. rolfsii* dapat juga menyerang kecambah kedelai yang sudah muncul ke permukaan tanah yang ditandai dengan adanya ujung kecambah terlihat lebih keriput dari pada ujung kecambah sehat. Selain itu, pada tanaman kedelai gejala yang dapat ditimbulkan adalah adanya pangkal batang dan sebagian daun berwarna kuning kecoklatan dan agak keriput dibandingkan dengan batang dan daun kedelai sehat lalu tanaman sakit menjadi layu dan rebah serta akhirnya mati (Gambar 4.1.).



Gambar 4.1. Gejala penyakit rebah semai tanaman kedelai di lapang

Keterangan: A: Benih belum berkecambah

B: Benih berkecambah

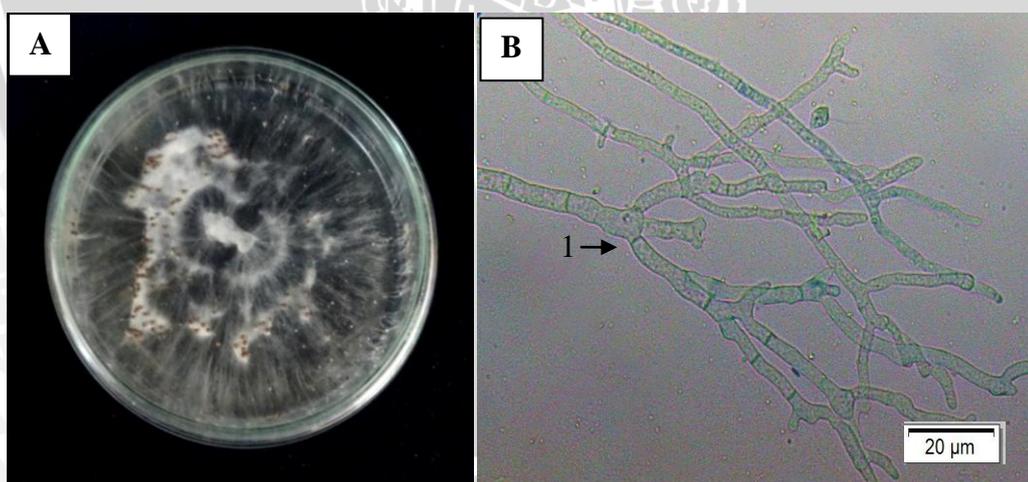
C: Tanaman kedelai sakit

D: Tanaman kedelai sehat

E: Miselium *S. rolfsii* pada pangkal batang kedelai

Hasil pengamatan tersebut sesuai Semangun (2000) menyatakan bahwa gejala serangan penyakit rebah semai dapat muncul pada tanaman di persemaian, baik sebelum muncul ke permukaan tanah (*Pre emergence damping-off*) maupun setelah muncul ke permukaan tanah (*Post emergence damping-off*), pada tanaman dewasa menyebabkan daun-daun menjadi pucat, tanaman layu dan mati. Menurut Sukanto dan Wahyuno (2013) menyatakan gejala rebah semai ditandai dengan adanya jamur yang berkembang pada batang tanaman, dekat permukaan tanah dan daun seperti tersiram air panas kemudian setelah batang dan beberapa daun bagian bawah terserang, tanaman layu dan akhirnya mati.

Hasil biakan murni dari isolasi tanaman kedelai sakit memiliki ciri-ciri makroskopis koloni pada media PDA berwarna putih, berserabut menyerupai kapas dengan pertumbuhan menyebar. Pada hari kelima koloni jamur *S. rolfsii* mampu tumbuh baik dengan pertumbuhan miselium memenuhi cawan petri berdiameter 9 cm dan pada pengamatan 7-15 hari telah tampak sklerotia terbentuk pada tepi koloni dengan membentuk butiran bulat hingga lonjong dengan mula-mula warna putih kemudian menjadi coklat dalam waktu 3 sampai 5 hari. Hasil pengamatan mikroskopis terlihat jamur *S. rolfsii* tidak memiliki spora namun memiliki bentuk hifa bercabang berwarna hyalin dan bersekat (Gambar 4.2.).



Gambar 4.2. Jamur patogen *S. rolfsii*.

Keterangan: A: Makroskopis dan sklerotia umur 12 hari

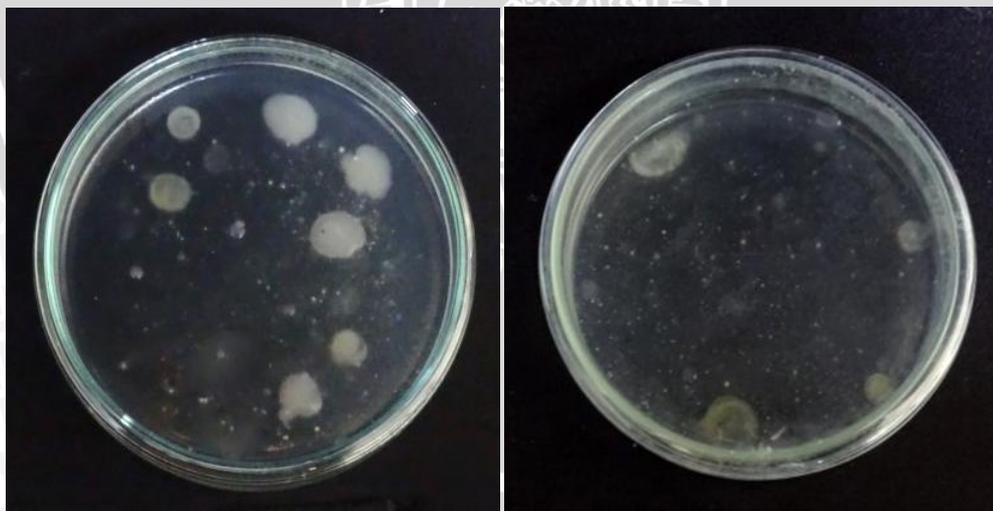
B: Mikroskopis. 1. Hifa bersekat dan bercabang

Hasil tersebut sesuai Domsch dan Gams (1980) mengemukakan jamur patogen *S. rolfsii* membentuk koloni berwarna putih dengan banyak untaian hifa,

kasar dan tumbuh meluas. Hifa berwarna hyalin, dapat tumbuh dengan cepat dan memiliki sklerotia berdiameter 8-10 mm. Diameter koloni mencapai 9 cm setelah 3 hari di media pada suhu 23°C.

#### 4.2. Eksplorasi dan identifikasi mikroorganisme antagonis potensial

Hasil eksplorasi mikroorganisme yang berasal dari rhizosfer kedelai ditemukan sebanyak 13 isolat (Gambar 4.3.) yang terdiri dari 11 isolat bakteri, 1 isolat jamur dan 1 isolat actinomycetes (Lampiran 27). Hasil tersebut menunjukkan dalam rhizosfer kedelai jumlah bakteri yang ditemukan lebih banyak dari pada actinomycetes dan jamur. Menurut Sastrahidayat (2012) menyebutkan jumlah yang paling besar dalam rhizosfer adalah bakteri kemudian kelompok actinomycetes, jamur, alga dan protozoa dimana kondisi lingkungannya ditentukan oleh efek rhizosfer. Hal tersebut sesuai juga dengan Sutedjo *et al.* (1996) menyatakan jumlah bakteri di rhizosfer lebih banyak yakni sekitar 3.000.000 per gram tanah, actinomycetes 1.150.000 per gram tanah dan jamur sekitar 60.000 per gram tanah. Ditemukannya populasi bakteri lebih banyak pada rhizosfer diketahui karena bakteri merupakan kelompok mikroorganisme tanah yang paling dominan dalam segala macam tipe tanah (Rao, 1994).

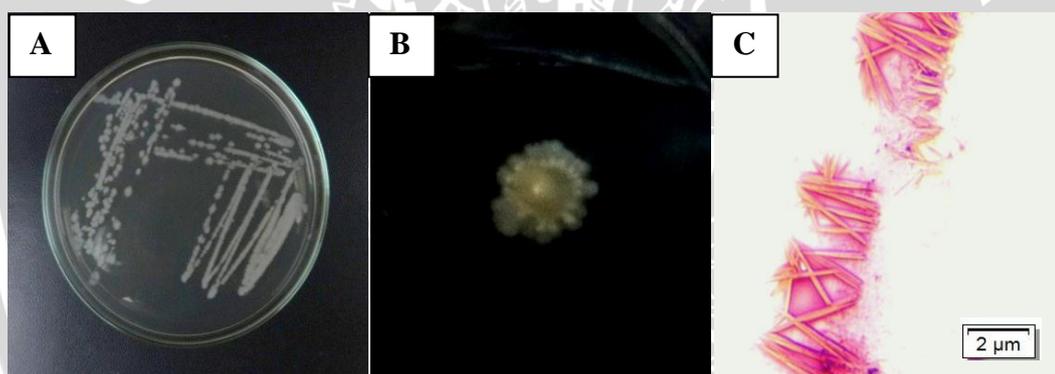


Gambar 4.3. Hasil eksplorasi mikroorganisme rhizosfer tanaman kedelai

Hasil pendahuluan uji antagonis (Lampiran 28.) diketahui isolat mikroorganisme rhizosfer kedelai yang memiliki sifat antagonis terhadap jamur

patogen *S. rolfii* sebanyak 5 isolat potensial yang terdiri dari 4 isolat bakteri antagonis dan 1 isolat jamur antagonis. Keempat isolat bakteri antagonis ialah Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3 dan Isolat 4. Dalam melakukan identifikasi bakteri penting dalam mengetahui ciri-ciri morfologi koloni karena setiap bakteri memiliki ciri morfologi koloni yang berbeda-beda. Selain itu dilakukan juga pengujian reaksi gram pada masing-masing bakteri antagonis tersebut. Identifikasi berdasarkan morfologi koloni dan pengujian reaksi gram penting digunakan sebagai dasar untuk melanjutkan identifikasi bakteri secara biokimia.

**Bakteri isolat 1.** Berdasarkan Gambar 4.4, menunjukkan ciri-ciri bentuk koloni tidak teratur, memiliki permukaan cembung, berwarna putih kecoklatan, tepi koloni berlekuk dan memiliki bentuk sel basil atau batang dengan ujung lancip seperti jarum serta termasuk bakteri gram negatif karena pada pewarnaan gram menunjukkan warna merah pada sel.



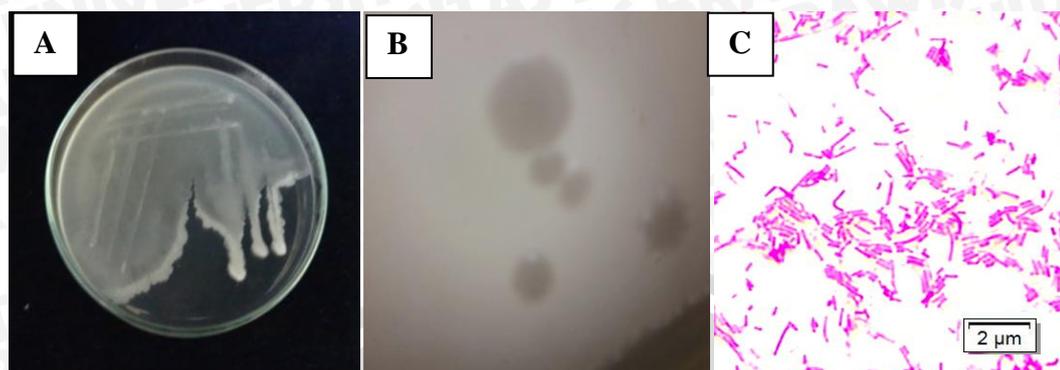
Gambar 4.4. Bakteri antagonis isolat 1

Keterangan : A: Makroskopis bakteri umur 48 jam

B: Koloni tunggal

C: Kenampakan mikroskopis setelah pewarnaan gram

**Bakteri isolat 2.** Berdasarkan Gambar 4.5, di bawah ini menunjukkan ciri-ciri bentuk koloni bulat, memiliki permukaan datar, berwarna putih, tepi koloni rata, memiliki bentuk sel basil atau batang dan ujung sel nampak sedikit tumpul serta termasuk bakteri gram positif karena pada pewarnaan gram menunjukkan warna ungu pada sel.



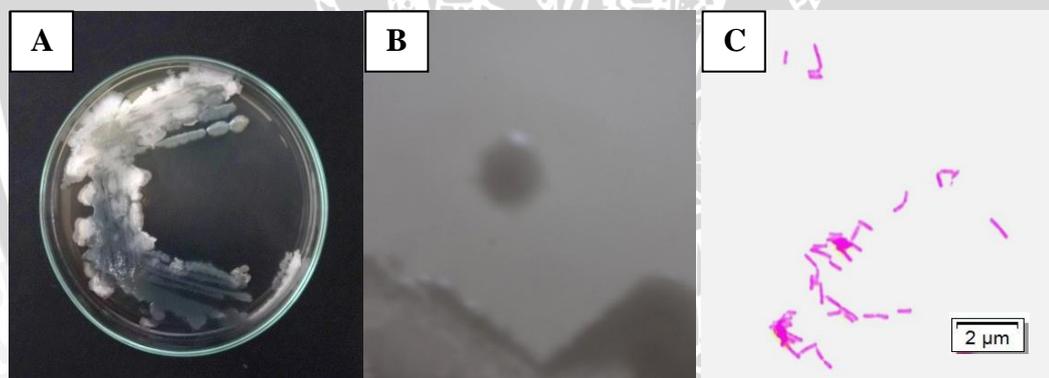
Gambar 4.5. Bakteri antagonis isolat 2

Keterangan : A: Makroskopis bakteri umur 48 jam

B: Koloni tunggal

C: Kenampakan mikroskopis setelah pewarnaan gram

**Bakteri isolat 3.** Hasil Gambar 4.6. di bawah ini menunjukkan ciri-ciri bentuk koloni bulat, memiliki permukaan cembung, berwarna putih sampai kehijauan pada media NA, tepi koloni rata, memiliki bentuk sel basil atau batang dengan ujung sel sedikit tumpul serta termasuk bakteri gram positif karena pada pewarnaan gram menunjukkan warna ungu pada sel.



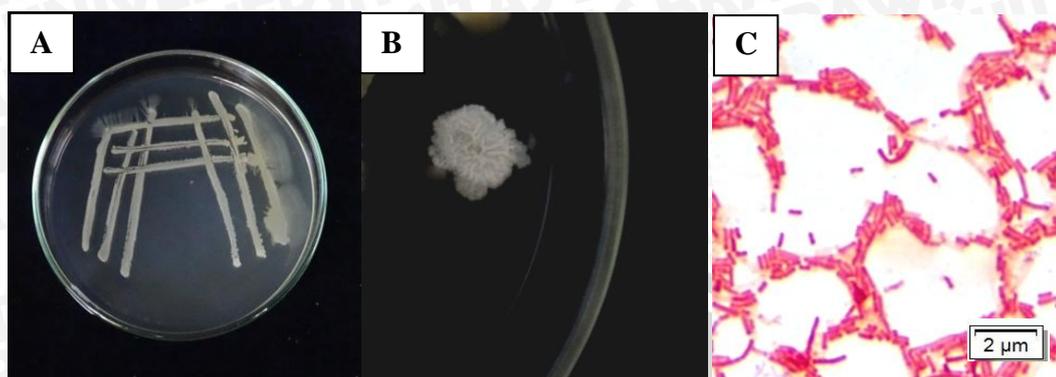
Gambar 4.6. Bakteri antagonis isolat 3

Keterangan : A: Makroskopis bakteri umur 48 jam

B: Koloni tunggal

C: Kenampakan mikroskopis setelah pewarnaan gram

**Bakteri isolat 4** memiliki ciri-ciri dengan bentuk koloni bulat, permukaan cembung, berwarna putih pada media NA, tepi koloni seperti akar, memiliki bentuk sel basil atau batang dengan ujung sel nampak sedikit tumpul serta termasuk bakteri gram negatif karena pada pewarnaan gram menunjukkan warna merah (Gambar 4.7.).



Gambar 4.7. Bakteri antagonis isolat 4

Keterangan : A: Makroskopis bakteri umur 48 jam

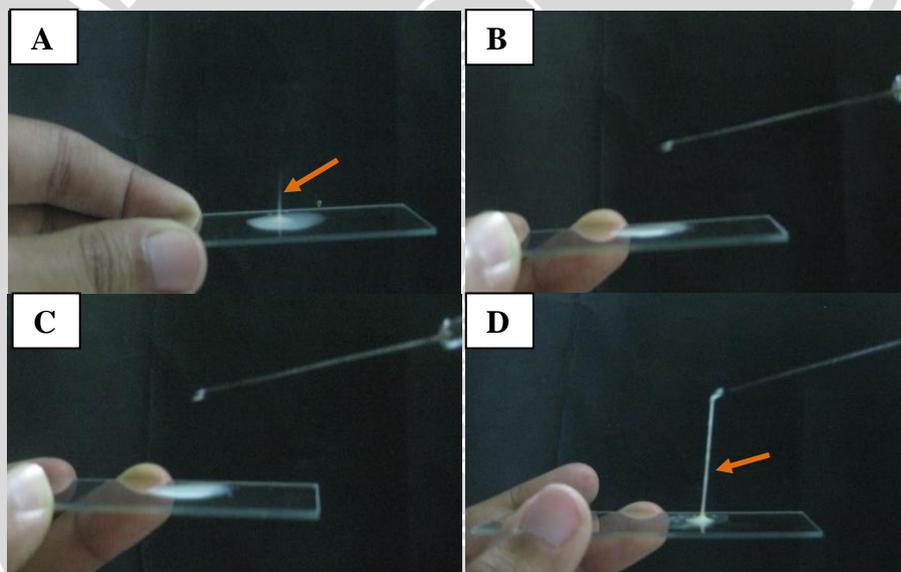
B: Koloni tunggal

C: Kenampakan mikroskopis setelah pewarnaan gram

Hasil reaksi gram menggunakan pewarnaan gram menunjukkan bahwa terdapat 2 isolat yang termasuk dalam gram negatif yakni isolat 1 dan 4, sedangkan yang termasuk dalam gram positif adalah isolat 2 dan isolat 3. Perbedaan dua kelompok bakteri tersebut didasarkan pada kemampuan dinding sel bakteri dalam mengikat warna ungu dari larutan kristal violet. Bakteri gram positif tidak mengalami perubahan karena memiliki dinding sel yang lebih tebal sehingga tetap mengikat warna ungu yang dihasilkan oleh kristal violet. Berbeda halnya dengan bakteri gram negatif yang mengalami perubahan karena memiliki dinding sel yang lebih tipis sehingga tidak mampu mempertahankan warna ungu dari kristal violet yang diberikan dan pada tahap akhir pengecatan sel bakteri menjadi merah akibat dari larutan safranin yang digunakan. Hasil tersebut sesuai Sastrahidayat (2011) menyatakan bahwa bakteri dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif didasarkan pada perbedaan dinding sel. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam *teichoic* sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan luar liposakarida yang terdiri atas membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis terletak pada periplasma.

Hasil reaksi gram menggunakan KOH 3% menunjukkan hal yang sama dengan pengujian menggunakan pewarnaan. Pada uji menggunakan KOH 3% diketahui bahwa bakteri yang memiliki gram negatif akan menunjukkan reaksi KOH dengan kenampakan seperti lengket dan terlihat seperti berlendir pada jarum

ose yang ditunjukkan dengan panah berwarna oranye sedangkan bakteri gram positif akan menunjukkan reaksi KOH dengan tidak berlendir pada jarum ose (Gambar 4.8). Lendir yang terlihat pada bakteri gram negatif diduga karena bakteri tersebut memiliki dinding sel yang tipis sehingga akibat pengaruh KOH akan menyebabkan dinding sel bakteri tersebut hancur berbeda halnya dengan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel lebih tebal sehingga tidak mudah hancur karena pengaruh KOH. Hal tersebut sesuai Sastrahidayat (2011) menyatakan ketebalan dinding sel pada bakteri gram positif tergolong tebal yakni 20-80 nm sedangkan pada bakteri gram negatif tergolong tipis yakni hanya 10 nm dan antibiotika dapat merusak dinding sel karena menghambat sintesis dari peptidoglikan sebagai bahan dasar dinding sel.



Gambar 4.8. Pengujian reaksi gram menggunakan KOH 3%

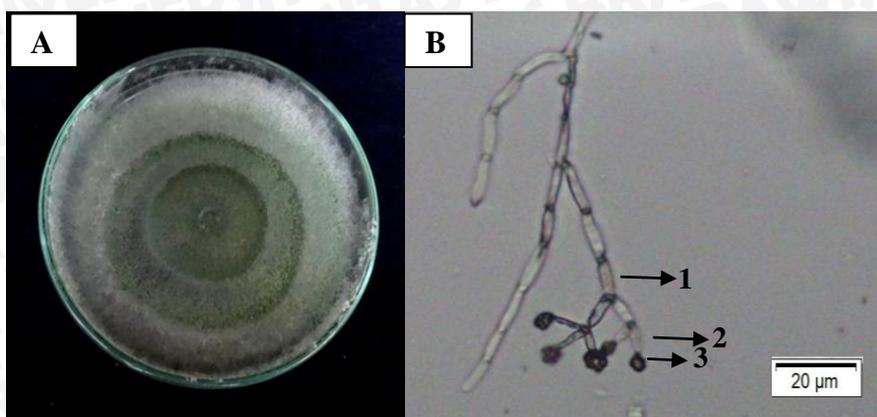
Keterangan: A: Isolat 1

B: Isolat 2

C: Isolat 3

D: Isolat 4

**Jamur Isolat 7** termasuk dalam genus *Trichoderma* yang memiliki ciri-ciri pada media PDA koloni jamur pada hari pertama berwarna putih lama kelamaan akan berubah menjadi kehijauan setelah itu terlihat sebagian besar berwarna hijau ada di tengah koloni dengan dikelilingi miselium yang masih berwarna putih dan pada saat jamur tersebut tumbuh menutupi semua media, miselium akan berwarna hijau yang memiliki garis konsentris (Gambar 4.9.).



Gambar 4.9. Jamur antagonis *Trichoderma* sp.

Keterangan: A: Makroskopis *Trichoderma* sp. umur 3 hari

B: Mikroskopis. 1. Konidiofor; 2. Fialid; 3. Konidia

Diameter koloni pada cawan petri mencapai 9 cm dalam waktu 3 hari. Pengamatan mikroskopis isolat 7 menunjukkan konidiofor hyalin, percabangan banyak, bersekat-sekat dan memiliki struktur seperti botol yang ujungnya terdapat konidia. Ciri-ciri tersebut sesuai genus *Trichoderma* di dalam Barnett dan Hunter (1972) yang menyatakan bentuk konidiofor ramping, sistem percabangan sederhana, fialid terbagi menjadi 3 cabang dan tidak menggerombol.

#### 4.3. Uji antagonis mikroorganisme rhizosfer

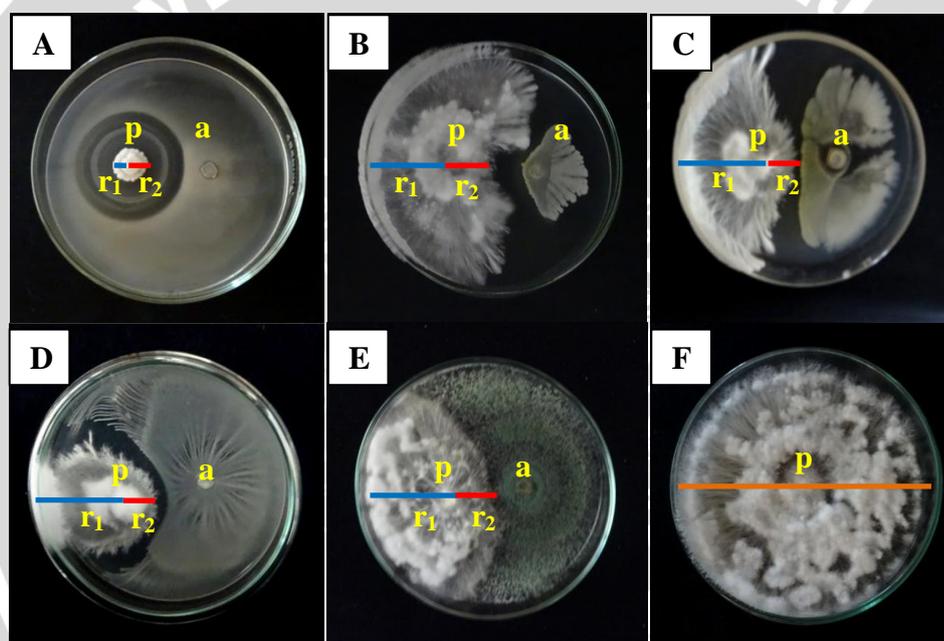
Berdasarkan hasil analisis ragam (Tabel 4.1.) pengujian kelima isolat antagonis pada pengamatan satu sampai lima hari setelah inokulasi (hsi) menunjukkan bahwa pemberian kelima isolat antagonis berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfii* (Lampiran 1 sampai 10.).

Tabel 4.1. Rerata persentase penghambatan jamur *S. rolfii* oleh 5 mikroorganisme rhizosfer antagonis

Perlakuan	Persentase penghambatan hari setelah inokulasi				
	1	2	3	4	5
Kontrol	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
Isolat 1	0,00a	16,13bc	21,33ab	18,00ab	24,36bc
Isolat 2	5,00ab	17,44bc	19,82ab	18,44ab	18,94ab
Isolat 3	0,00a	7,94ab	22,13ab	25,33bc	27,02bc
Isolat 4	12,78b	27,78c	35,33bc	31,33bc	31,33bc
<i>Trichoderma</i> sp.	5,83ab	29,68c	45,80c	45,33c	47,33c

Keterangan : Nilai rerata diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf 5%

Tabel 4.1. menunjukkan isolat jamur antagonis *Trichoderma* sp. memiliki nilai penghambatan tertinggi dibandingkan dengan keempat isolat bakteri antagonis. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai persentase penghambatan yang berbeda nyata pada pengamatan 5 hsi. Jamur *Trichoderma* sp. mampu menghasilkan persentase hambatan tertinggi sebesar 47,33% dan nilai tersebut berbeda nyata dengan perlakuan isolat 2 dan kontrol. Semakin besar nilai penghambatan oleh mikroorganisme antagonis maka semakin efektif dalam menekan pertumbuhan jamur patogen *S. rolf sii*. Berikut disajikan mengenai dokumentasi hasil uji antagonisme masing-masing mikroorganisme antagonis yang ditampilkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10. Penghambatan pertumbuhan jamur *S. rolf sii* umur 5 hsi

Keterangan: A: Perlakuan isolat 1

B: Perlakuan isolat 2

C: Perlakuan isolat 3

D: Perlakuan isolat 4

E: Perlakuan *Trichoderma* sp.

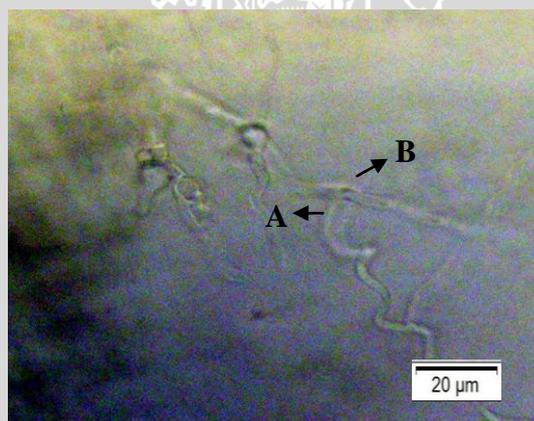
F: Perlakuan kontrol jamur *S. rolf sii*

p: Jamur patogen *S. rolf sii*

a: Mikroorganisme antagonis

Jamur *Trichoderma* sp. memiliki hambatan tertinggi karena pertumbuhan jamur *Trichoderma* sp. lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan jamur patogen *S. rolf sii*. Pada media PDA dalam cawan petri, jamur *Trichoderma* sp.

mampu memenuhi cawan petri dalam waktu 3 hari, namun untuk jamur patogen *S.rolfsii* membutuhkan waktu 5 hari. Hal ini menjadikan *Trichoderma* sebagai kompetitor yang kuat terhadap jamur patogen lawannya. Cook dan Baker (1982) menyatakan bahwa *Trichoderma* sp. merupakan kompetitor yang sangat agresif terhadap jamur patogen. *Trichoderma* juga mampu melakukan parasitasi pada sel inangnya yang disebut dengan mekanisme mikoparasit. Mekanisme mikoparasit (Gambar 4.11.) terjadi jika hifa *Trichoderma* menembus hifa inang dan berkembang di dalamnya. Jamur *Trichoderma* akan mengambil semua nutrisi inang hingga menyebabkan hifa mengkerut dan rusak kemudian mati dengan cepat seperti yang dikemukakan oleh Hall (1996) bahwa hifa *Trichoderma* dapat tumbuh di dalam hifa inang yang didahului dengan mengkait kemudian membelitnya.

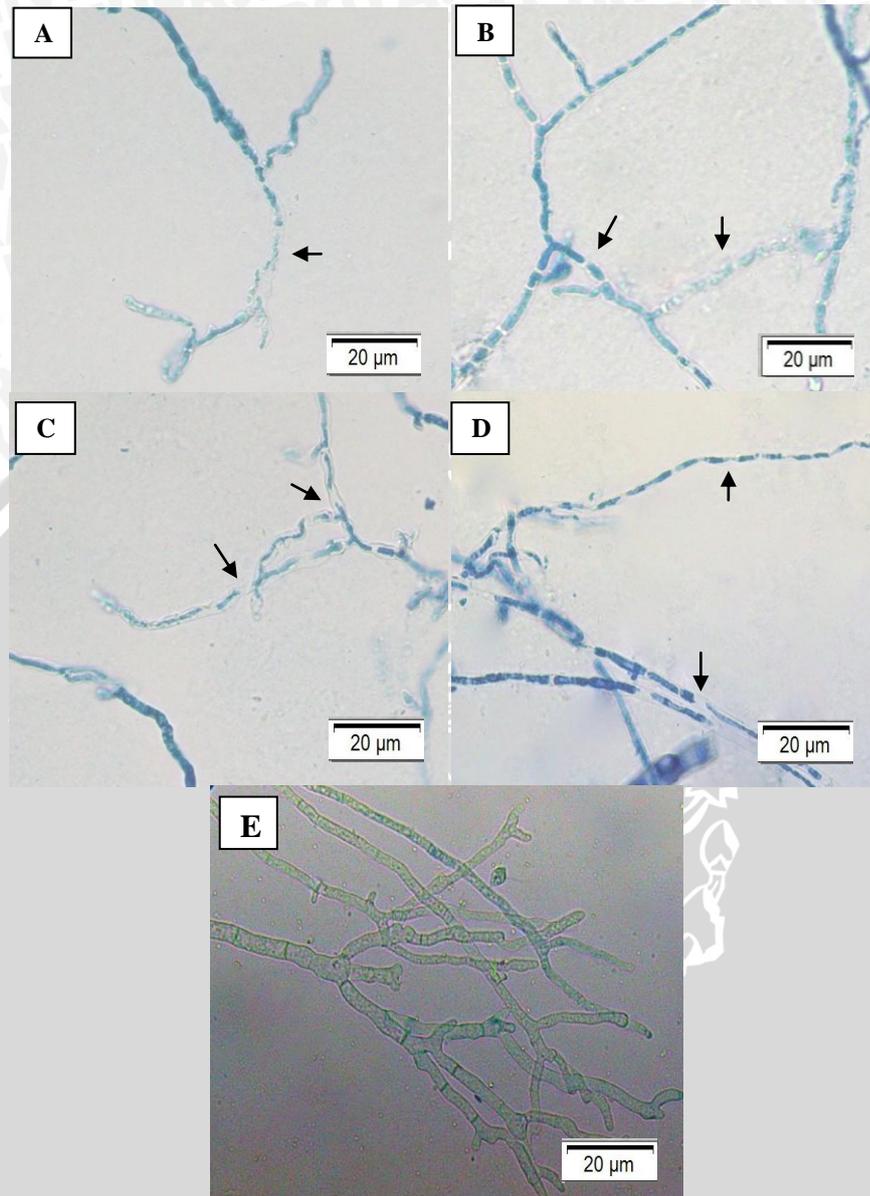


Gambar 4.11. Mekanisme penghambatan mikoparasit jamur *Trichoderma* sp.  
Keterangan: A:Hifa *Trichoderma* sp.  
B:Hifa *S. rolfsii*

Hasil pengamatan uji antagonis di laboratorium, diketahui mekanisme antagonis antara semua isolat bakteri yakni Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3 dan Isolat 4 dengan jamur patogen *S. rolfsii* adalah antibiosis karena mikroorganisme tersebut menghasilkan senyawa kimia yang dapat menghambat mikroorganisme lain. Mekanisme antibiosis ditunjukkan dengan adanya zona penghambatan oleh isolat bakteri antagonis terhadap jamur patogen *S. rolfsii*. Hal tersebut sesuai dengan Asnawi *et al.* (2012) menyatakan terbentuknya zona hambat menandakan agens biokontrol kemungkinan memproduksi suatu senyawa antimikrobal baik berupa enzim, toksin maupun antibiotik.

Mekanisme antibiosis yang ditunjukkan oleh semua isolat bakteri antagonis menunjukkan bahwa pertumbuhan miselium patogen yang berhadapan langsung dengan masing-masing bakteri antagonis akan berubah menjadi warna kuning. Warna kuning ini diduga akibat antibiotik yang dikeluarkan oleh masing-masing perlakuan bakteri antagonis. Tepi koloni jamur patogen menjadi berubah warna menjadi agak gelap hingga kemerahan, terlihat lebih tipis dan agak kering di bandingkan dengan hifa *S. rolf sii* sehat. Hal tersebut diduga karena sel-sel yang mati akibat zat beracun yang dikeluarkan bakteri antagonis tersebut menumpuk. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa adanya hambatan senyawa antibiotik yang dihasilkan agens antagonis akan menyebabkan terjadinya penekanan pada pertumbuhan jamur patogen *S. rolf sii*. Nurzannah *et al.* (2014) menyatakan bahwa mekanisme kerja senyawa antimikroba dalam melawan mikroorganisme patogen dengan cara merusak dinding sel, mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis sel mikoba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein dan asam nukleat sel mikroba.

Hasil pengamatan yang telah dilakukan pada uji antagonisme bakteri antagonis dengan jamur patogen *S. rolf sii* diketahui bahwa secara mikroskopis bentuk interaksinya adalah struktur sel pada hifa jamur mengalami kerusakan. Kerusakan hifa yang teramati berupa warna hifa lebih jernih dibandingkan dengan hifa *S. rolf sii* sehat dan hifa terpotong-potong kemudian hancur. Hifa tersebut mengalami lisis (Gambar 4.12.) sehingga akan menyebabkan kematian pada jamur patogen lawan. Berbeda halnya dengan struktur hifa *S. rolf sii* yang sehat terlihat utuh, berisi, terlihat kokoh dan memiliki warna lebih keruh. Hasil tersebut sesuai Sastrahidayat (2012) yang menyatakan bahwa tipe antagonis yang ditunjukkan dengan adanya lisis hifa jamur setelah bertemu dengan antagonis, hifa jamur patogen mengalami *die back* dan penguraian. Hal tersebut juga sesuai pernyataan Eliza *et al.* (2007) bahwa senyawa antifungal yang dihasilkan oleh bakteri secara umum mengakibatkan terjadinya pertumbuhan abnormal dan lisis pada hifa yang disebabkan karena bakteri menghasilkan enzim kitinase yang dapat melisis dinding sel patogen, dinding sel beberapa cendawan patogen dilaporkan disusun oleh senyawa kitin.



Gambar 4.12. Lisis hifa *S. rolfsii* akibat interaksi dengan bakteri perlakuan

Keterangan : A: Isolat 1

B: Isolat 2

C: Isolat 3

D: Isolat 4

E: Hifa *S. rolfsii* normal

#### 4.4. Luas miselium jamur patogen *S. rolfsii* pada uji antibiosis

Berdasarkan hasil analisis ragam pengujian keempat isolat bakteri antagonis terhadap *S. rolfsii* pada pengamatan tiga dan empat hari menunjukkan pemberian larutan antibiotik dari keempat isolat bakteri antagonis berpengaruh nyata terhadap luas miselium jamur patogen *S. rolfsii* (Lampiran 15 sampai 18).

Tabel 4.2. Rerata luas miselium jamur patogen *S. rolfsii* pada uji antibiosis

Bakteri antagonis	Luas miselium <i>S. rolfsii</i> (cm <sup>2</sup> ) pada hsi			
	1	2	3	4
Kontrol	1,40a	6,96b	16,29b	24,22b
Bakteri isolat 1	1,21a	3,70ab	6,58a	7,64a
Bakteri isolat 2	1,25a	4,84ab	7,84a	8,96a
Bakteri isolat 3	1,42a	6,38ab	9,91ab	11,48a
Bakteri isolat 4	0,83a	2,61a	6,14a	8,97a

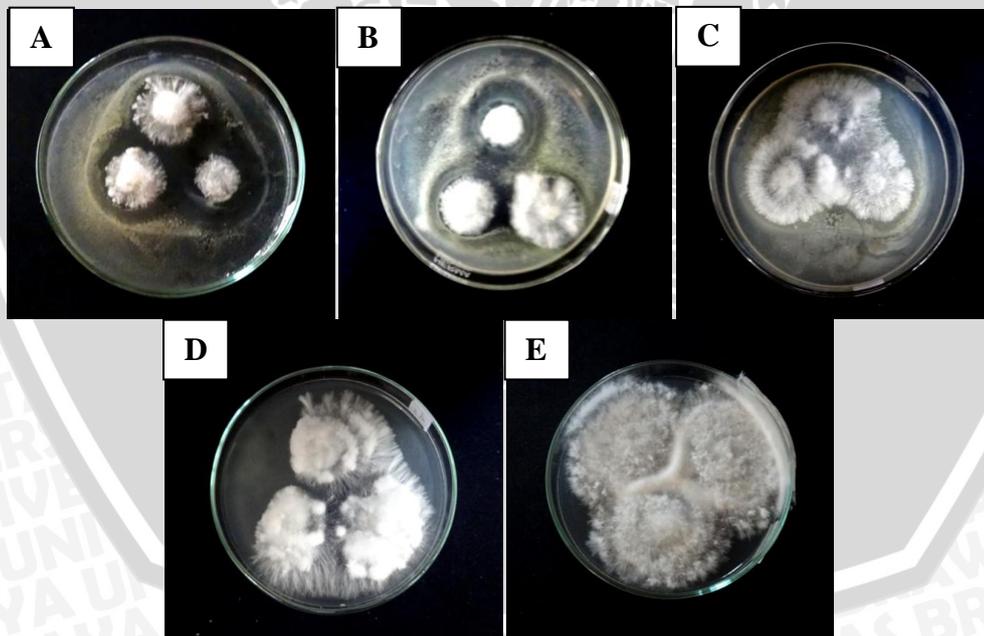
Keterangan :Nilai rerata diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%

Tabel 4.2. menunjukkan bahwa pada pengamatan 2 hsi perlakuan pemberian antibiotik bakteri isolat 4 berbeda nyata dengan perlakuan kontrol sedangkan pada pengamatan 3 hsi perlakuan kontrol berbeda dengan perlakuan pemberian antibiotik dari bakteri isolat 1, isolat 2 dan isolat 4. Pada pengamatan 4 hsi menunjukkan nilai berbeda nyata mengenai luas miselium jamur *S. rolfsii* antara perlakuan kontrol terhadap semua perlakuan bakteri antagonis yang digunakan namun antar masing-masing isolat bakteri antagonis tidak berbeda nyata. Tidak adanya perbedaan antar isolat bakteri antagonis diduga karena senyawa kimia berupa antibiotik yang dihasilkan oleh keempat bakteri tersebut sama sehingga menyebabkan luas miselium jamur *S. rolfsii* oleh keempat bakteri antagonis tidak berbeda nyata. Kemungkinan senyawa kimia yang dihasilkan dari keempat isolat bakteri antagonis tersebut lebih sesuai dengan enzim jamur sehingga metabolisme jamur *S. rolfsii* terhambat dan mempengaruhi luas miselium jamur *S. rolfsii*. Hal tersebut sesuai dengan Goto (1990) yang mengemukakan bahwa antibiotik bekerja sebagai anti metabolit yang mempengaruhi aktivitas enzim.

Perbedaan luas miselium jamur *S. rolfsii* antara keempat isolat bakteri antagonis dengan perlakuan kontrol diduga karena kemampuan menyesuaikan dari jamur patogen *S. rolfsii* dengan kondisi media tumbuh yang dicampurkan antibiotik dari keempat isolat bakteri perlakuan sehingga hifa jamur *S. rolfsii* akan mengalami perubahan akibat mekanisme antibiosis yang disebabkan oleh masing-masing perlakuan bakteri antagonis. Hal tersebut sesuai Sugiharso (1980) mengemukakan jamur dapat mengalami perubahan ketahanan terhadap toksin karena beberapa faktor diantaranya adalah perkembangan atau peningkatan jalur metabolit alternatif oleh jalur yang dihambat toksin, pengurangan kebutuhan zat

yang dihambat toksin, modifikasi enzim oleh jamur sehingga tidak mudah dirusak oleh toksin, meningkatnya produksi zat yang menghancurkan atau menginaktifkan toksin dan menurunnya permeabilitas dari hifa atau spora terhadap toksin.

Hasil pengamatan secara makroskopis (Gambar 4.13.) menunjukkan penghambatan pertumbuhan miselium jamur patogen *S. rolfsii* yang ditandai dengan adanya zona hambat disekitar daerah tumbuhnya miselium jamur yang menunjukkan adanya aktivitas antibiosis bakteri antagonis yang dapat menyebabkan lisis terhadap sel-sel jamur. Parwati *et al.* (2014) menyatakan hasil metabolit sekunder dari bakteri berupa senyawa-senyawa antibiotik, kitinase, dan senyawa-senyawa yang bersifat toksin lainnya akan melisiskan hifa *S. rolfsii* sehingga pertumbuhan *S. rolfsii* akan terhambat. Telah dilaporkan oleh Sunarwati dan Yoza (2010) bahwa mekanisme lisis pada hifa patogen ditandai dengan berubahnya warna hifa patogen menjadi jernih dan kosong karena isi sel dimanfaatkan oleh agen hayati sebagai nutrisi serta kemampuan agen hayati menghasilkan enzim yang dapat melisiskan dinding sel patogen.



Gambar 4.13. Penghambatan bakteri antagonis terhadap luas miselium *S. rolfsii*

- Keterangan: A:Perlakuan isolat 1  
B:Perlakuan isolat 2  
C:Perlakuan isolat 3  
D:Perlakuan isolat 4  
E:Perlakuan kontrol

Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan adanya interaksi antara penambahan antibiotik dari masing-masing isolat bakteri antagonis terhadap hifa jamur patogen *S. rolf sii*. Bentuk interaksi ditandai dengan adanya hifa *S. rolf sii* yang tidak utuh dan tipis serta memiliki warna lebih jernih dibandingkan dengan hifa jamur yang normal. Hal tersebut sesuai dengan Asnawi *et al.* (2012) yang menyatakan mekanisme agens biokontrol dalam menghambat patogen yaitu dengan lisis. Lisis ialah miselium dari agens antagonis yang mampu menghancurkan dan atau memotong-motong miselium dari patogen, sehingga pada akhirnya menyebabkan kematian pada patogen tersebut.

#### 4.5. Persentase kejadian penyakit

Berdasarkan analisis ragam pengujian lima isolat antagonis potensial terhadap jamur patogen *S. rolf sii* pada pengamatan empat, enam dan delapan hari setelah tanam (hst) menunjukkan bahwa pemberian perlakuan kelima isolat antagonis potensial tersebut berpengaruh nyata terhadap persentase kejadian penyakit jamur patogen *S. rolf sii* secara *in vivo* (Lampiran 21 sampai 26 ). Berikut disajikan mengenai rerata persentase kejadian penyakit jamur patogen *S. rolf sii* secara *in vivo*.

Tabel 4.3. Rerata persentase kejadian penyakit *S. rolf sii* secara *in vivo*

Perlakuan	Rerata persentase kejadian penyakit <i>S. rolf sii</i>			
	2 hst	4 hst	6 hst	8 hst
Kontrol	0,95b	20,95d	79,29d	80,71d
Bakteri isolat 1	0,00a	11,90bc	56,67c	58,81bc
Bakteri isolat 2	0,00a	14,76c	59,05c	62,38c
Bakteri isolat 3	0,00a	15,24c	40,48b	45,48b
Bakteri isolat 4	0,00a	7,38ab	20,71a	25,00a
<i>Trichoderma</i> sp.	0,00a	3,33a	20,95a	24,76a

Keterangan :Nilai rerata yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf 5%

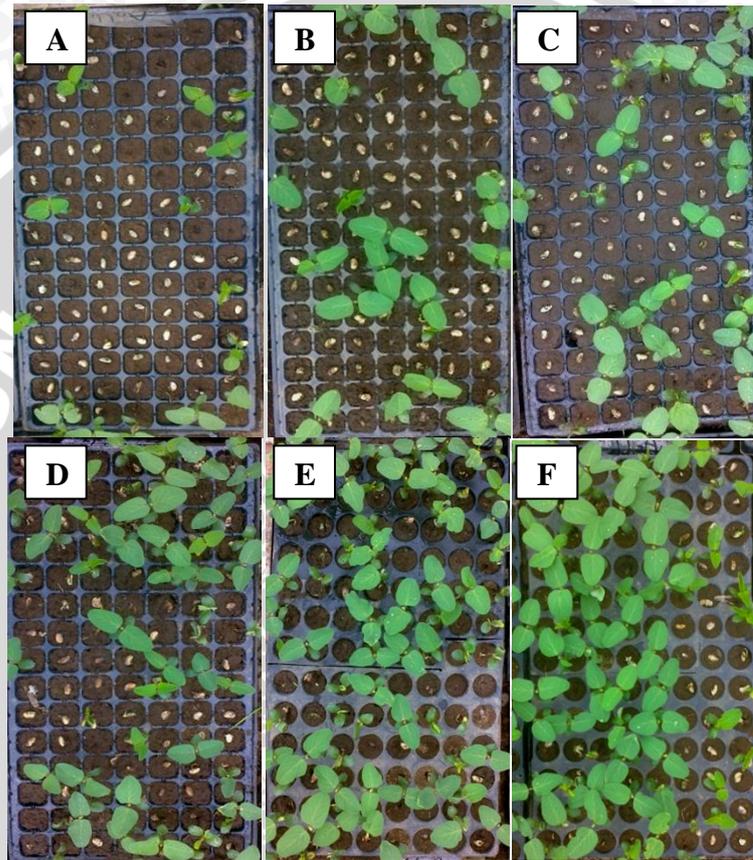
Tabel 4.3. menunjukkan bahwa pada pengamatan 4 hst, 6 hst dan 8 hst menunjukkan bahwa perlakuan kontrol berbeda nyata dengan semua perlakuan yakni perlakuan jamur *Trichoderma* sp., bakteri isolat 1, bakteri isolat 2, bakteri isolat 3 dan bakteri isolat 4. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan

kelima isolat antagonis potensial berpengaruh nyata dalam menekan serangan penyakit rebah semai *S. rolfsii* pada rumah kaca.

Perlakuan kontrol memiliki nilai persentase kejadian penyakit lebih besar daripada perlakuan lainnya karena pada perlakuan tersebut tidak ada faktor yang menghambat perkembangan jamur patogen *S. rolfsii*. Berbeda halnya dengan perlakuan jamur antagonis *Trichoderma* sp. yang memiliki tingkat serangan paling rendah yakni sebesar 24,76% pada pengamatan 8 hst. Hal tersebut diduga karena jamur antagonis *Trichoderma* sp. mampu berkembang pada kondisi yang sesuai dan mampu untuk berkompetisi dengan jamur patogen sehingga dapat menekan perkembangan patogen *S. rolfsii*. Telah dilaporkan oleh Hall (1996) bahwa pada kondisi yang sesuai, jamur *Trichoderma* mampu memproduksi konidia yang berlimpah sehingga efektif menghambat jamur patogen. Kondisi ini sesuai dengan percobaan di laboratorium, dimana *Trichoderma* sp. mempunyai persentase hambatan tertinggi. Selain itu, Harman (2006) menyatakan *Trichoderma* memiliki kemampuan bersaing menghasilkan senyawa antibiotik dan bersifat mikoparasit dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen. Beberapa jenis *Trichoderma* berkompetisi dalam memanfaatkan ruang, nutrisi, dan oksigen, atau mengeluarkan suatu senyawa yang dapat menghambat atau mematikan *Rhizoctonia* dan *Sclerotium* (Sumartini, 2011).

Persentase kejadian penyakit pada isolat bakteri antagonis memiliki nilai lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal tersebut diduga karena berdasarkan hasil uji pendahuluan diketahui bahwa bakteri yang digunakan tidak bersifat patogen bagi tanaman kedelai melainkan senyawa kimia atau antibiotik yang dihasilkan oleh masing-masing isolat bakteri antagonis tersebut dijadikan sebagai langkah awal perlindungan terhadap benih kedelai sehingga dapat menekan serangan jamur patogen *S. rolfsii*. Hal tersebut sesuai Purwantisari *et al.* (2005) menyatakan bahwa senyawa yang dihasilkan bakteri dapat berfungsi sebagai inhibitor terhadap suatu enzim yang dihasilkan oleh jamur. Telah dilaporkan oleh Jatnika (2013) bahwa bakteri mampu mengeluarkan senyawa-senyawa antibiosis yang dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen, selain itu senyawa antibiosis yang dikeluarkan oleh bakteri juga mampu memberikan sinyal terhadap tanaman yang terserang agar melakukan pertahanan diri. Hasil

tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin rendah persentase kejadian penyakit jamur patogen *S. rolfsii* maka semakin baik potensi senyawa kimia yang dikeluarkan oleh bakteri antagonis tersebut. Berikut disajikan mengenai dokumentasi kejadian penyakit rebah semai *S. rolfsii* pada masing-masing perlakuan secara *in vivo* pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14. Kejadian penyakit jamur patogen *S. rolfsii* di tray pembibitan

Keterangan: A: Perlakuan kontrol

B: Perlakuan isolat 1

C: Perlakuan isolat 2

D: Perlakuan isolat 3

E: Perlakuan isolat 4

F: Perlakuan *Trichoderma* sp.

## V. PENUTUP

### 5.1. Kesimpulan

1. Hasil eksplorasi diperoleh 13 isolat dan hanya 5 isolat bersifat antagonis yang terdiri dari 4 isolat dengan mekanisme penghambatan antibiosis serta 1 isolat memiliki mekanisme mikoparasit terhadap jamur *S. rolfsii*.
2. Isolat antagonis mampu menekan penyakit rebah semai. Kejadian penyakit tertinggi pada kontrol sebesar 80,71% dan terendah pada *Trichoderma* sp. sebesar 24,76%.

### 5.2. Saran

1. Perlu dilakukan identifikasi dengan pengujian biokimia dari isolat bakteri antagonis yang didapatkan.
2. Sebaiknya pada saat melakukan uji antagonis isolat actinomycetes ditumbuhkan terlebih dahulu dari pada jamur *S. rolfsii* pada media supaya dapat diketahui kemampuan penghambatannya.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai frekuensi pengaplikasian mikroorganisme antagonis pada skala lapang sehingga dapat lebih efektif dalam menekan perkembangan penyakit rebah semai *S. rolfsii* di lapang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A.L. 2004. Patogen dalam tanah. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 68h.
- Adams, P. B. 1990. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annun.rev.phytopathol*, 28:59-72h.
- Alfizar, Marlina, dan Susanti. 2013. Kemampuan antagonis *Trichoderma* sp. terhadap beberapa jamur patogen *in vitro*. Universitas Syiah Kuala. Aceh. 8:45-51h.
- Agrios, G.N. 1997. Plant pathology. Fourth edition. Academic press. Sandiego. 635h.
- Alexopaulus, C.J. dan C.W. Mims. 1979. Laboratory manual for introductory mycology. Third edition. Burgess publishing company. USA. 632h.
- Asnawi., R. Iswati dan H.F.J. Motulo. 2012. Eksplorasi agens biokontrol *Phytophthora palmivora* penyebab penyakit gugur buah kelapa. *JATT* 1 (2) 61-66h.
- Badan Pusat Statistik. 2014. Tanaman pangan di Indonesia. Diunduh dari [http://www.bps.go.id/tnmn\\_pgn.php?kat=3&id\\_subyek=53&notab=0](http://www.bps.go.id/tnmn_pgn.php?kat=3&id_subyek=53&notab=0) pada 2 Juli 2014.
- Baker, K.F. dan R.J. Cook. 1982. Biological control of plant pathogen. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnsota. 433h.
- Barnett, H. L. dan B. B. Hunter. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. APS press. St. Paul. 218h.
- Denis dan Webster. 1971. Antagonistic properties of species. Group of *Trichoderma* II. Production of non volatole antibiotik. *Trams. Br Mycol. Soc.* 57:25-39h.
- Djafaruddin. 2000. Dasar-dasar pengendalian penyakit tanaman. Bumi aksara. Jakarta. 217h.
- Domsch, K.H dan W. Gams. 1980. Compedium of soil fungi. Academic press. London. 405h.
- Eliza, A. Munif., I. Djatnika dan Widodo. 2007. Karakter fisiologis dan peranan antibiosis bakteri perakaran gramineae terhadap *Fusaium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok.

- Fichtner, E.J. 2010. *Sclerotium rolfsii* of the fungal world. Diakses dari <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Sclerotium/Srolfsii.html> pada 13 Januari 2015.
- Gardener, B.B.M dan D.R. Fravel. 2002. Biological control of plant pathogen. Research. Commercialization and application in USA. Online. Plant health progressdoi:10.1094/PH-2002-0510-01-RV.
- Goto, M. 1990. Fundamental of bacteria plant pathology. Academic press. Faculty of Agric. Shizuoka of University. Boston. 443h.
- Hajar, D. 2012. Isolasi, identifikasi dan analisis kemampuan degradasi hidrokarbon bakteri tanah sampel B Cilegon Banten. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Biologi. Universitas Indonesia. Depok. 74h.
- Hall, R.1996. Principles and practice of managing soilborn plant pathogens. APS press. The American Phytopathology Society. St.Paul. Minnesota.
- Harman, G.E. 2006. Overview of machanism and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology. 96:190-194h.
- Hasanuddin. 2003. Peningkatan peranan mikroorganisme dalam sistem pengendalian penyakit tumbuhan secara terpadu, Makalah, Jurusan HPT Pertanian USU.
- Istikorini, Y. 2002. Pengendalian penyakit tumbuhan secara hayati yang ekologis dan berkelanjutan. Diunduh dari <http://rudycctripod.com/Scml.023/Yunik.Istikorini.htm>.66h pada 31 Desember 2014
- Jati, W. 2009. Peran mikroorganisme dalam pengendalian hayati. Diunduh dari <http://rudyct.com/PPS702-ipb/05123/yunikistikoniri.html>. pada tanggal 30 Oktober 2014.
- Jatnika, W. 2013. Pengaruh aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap perkembangan penyakit bulai disebabkan oleh jamur *Peronoslerospora maydis* pada tanaman jagung. Jurnal HPT Vol.1(4):19-29h.
- Kementrian Pertanian Republik Indonesia. 2010. Diunduh dari <http://epetani.deptan.go.id> pada 11 Maret 2015.
- Mujoko, T.I., I.R. Sastrahidayat dan T. Hadiastono. 2005. Pemanfaatan actinomycetes antagonis sebagai pengendali hayati *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersicum* pada tanaman tomat. Agrivita Vol.27 No. 41-56h.

- Mullen, J. 2001. Southern blight, southern stem blight, white mold. Diunduh dari <http://www.apsnet.org/education/lessonsPlantPath/SouthernBlight/text/figo1.html>. pada 27 Februari 2014.
- Nurzannah, S.E., Lisnawati dan D. Bakti. 2014. Potensi jamur endofit asal cabai sebagai agens hayati untuk mengendalikan layu fusarium (*Fusarium oxysporum*) pada cabai dan interaksinya. Jurnal Online Agroekoteknologi 2(3):1230- 1238h.
- Parwati, G.A.C., K. Khalimi dan W. Adiartayasa. 2014. Uji efikasi formulasi rizobakteri *Pantoea agglomerans* GTA24 dalam mengendalikan penyakit rebah semai yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii* pada tanaman kedelai. E-jurnal agroekoteknologi tropika 3(4):218-229h.
- Pitojo, S. 2003. Benih kedelai. Kanisius. Yogyakarta. 79h.
- Pontjoweni, E., V. Supartini dan M.S. Poerwoko. 1997. Inventarisasi jamur penyebab penyakit pada genotipe kedelai (*Glycine max* L.). Prosiding kongres XIV dan seminar ilmiah PFI Palembang. 205-212h.
- Purwantisari, S., S. Pujiyanto dan R. Ferniah. 2005. Uji efektivitas bakteri kitinolitik sebagai pengendali pertumbuhan kapang patogen penyebab penyakit utama tanaman sayuran dan potensinya sebagai bahan biofungisida ramah lingkungan. laporan penelitian FMIPA UNDIP. Semarang.
- Rahayu, M.1997. Upaya pengendalian penyakit tular tanah pada kacang hijau melalui sanitasi seresah tanaman terinfeksi dan varietas tahan dalam komponen teknologi peningkatan produksi tanaman kacang-kacangan dan umbi-umbian. balai penelitian tanaman kacang-kacangan dan umbi-umbian. Malang. 305-315h.
- Rao, N.S. 1994. Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan tanaman. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 353h.
- Rebecca. 2005. Soil Biology basic the rhizosphere. Departement of Primary Industries. State of New south wales.
- Robert, M.A. 2002. Actinomycetes biocontrol questions and answer. Diunduh dari [http://www.fungi4school.org/Documentation/Print\\_ALL](http://www.fungi4school.org/Documentation/Print_ALL) pada 25 Februari 2014
- Rukmana, R. 1996. Kedelai budidaya dan pasca panen. Kanisius. Yogyakarta. 85h.

- Sastrahidayat, I.R. 1996. Medium buatan untuk jamur dan bakteri. Lembaga penerbitan Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 109h.
- Sastrahidayat, I.R., S. Djauhari, dan N. Saleh. 2007. Pemanfaatan teknologi pellet mengandung saproba antagonis dan endomikoriza (VAM) untuk mengendalikan penyakit rebah semai (*Sclerotium rolfsii*) dan meningkatkan produksi kedelai. Laporan hasil kerjasama kemitraan pertanian penelitian pertanian dengan perguruan tinggi (KKP3T). Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang. 89h.
- Sastrahidayat, I.R. 2011. Fitopatologi ilmu penyakit tumbuhan. UB Press. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 281h.
- Sastrahidayat, I.R. 2012. Pengendalian hayati penyakit tumbuhan dan cara uji laboratorium. UB Press. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 263h.
- Sastrahidayat, I.R. 2014. Engineering technology for increasing soybean production and control damping-off disease using biological fertilization mixture. Research journal of life science 1 (1): 12-19h.
- Sastrahidayat, I.R., S. Djauhari dan N. Saleh. 2013. Potensi mikroba sebagai agens hayati bagi pengendalian rebah semai *Sclerotium rolfsii* pada kedelai. UB Press. Malang. 186h.
- Semangun, H. 2000. Penyakit-penyakit tanaman hortikultura. Gadjah Mada University press. Yogyakarta. 850h.
- Semangun, H. 2004. Penyakit – penyakit tanaman pangan di Indonesia. Gadjah Mada University press. Yogyakarta. 451h.
- Solichah, N. 2009. Potensi ekstrak beberapa tanaman dalam mengendalikan penyakit rebah semai (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) pada tanaman kedelai. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sugiharso, M.S. 1980. Diktat fungisida. Departemen Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan. FP. IPB. Bogor. 86h.
- Sukamto dan D. Wahyuno. 2013. Identifikasi dan karakterisasi *Sclerotium rolfsii* Sacc. penyebab busuk batang nilam. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor. 35-41h.
- 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):27-34h.

Sumartini dan E. Yusnawan. 2006. Potensi cendawan antagonis *Trichoderma* sp. tular tanah asal Lampung dan Sumatera Selatan. Jurnal Agritek 14(5): 1103–1109h.

Sunarwati, D. dan R. Yoza. 2010. Kemampuan *Trichoderma* dan *Penicillium* dalam menghambat pertumbuhan cendawan penyebab penyakit busuk akar durian (*Phytophthora palmivora*) secara *In Vitro*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Seminar nasional program dan strategi pengembangan buah nusantara. Solok. 176-189h.

Sutedjo, M.M., A.G. Kartasapoetra dan R.D.S. Sastroatmodjo. 1996. Mikrobiologi tanah. cetakan ketiga. Rineka cipta. Jakarta. 446h.

Waksman, S.A. 1952. Soil microbiology. New York:John Willey dan Sons. 237h.

Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi umum. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Prees. 344h.



## LAMPIRAN

Lampiran 1. Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada satu hsi

Perlakuan	Hambatan (%)					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 2	0,00	12,50	0,00	12,50	0,00	5,00
Isolat 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 4	0,00	22,22	16,67	25,00	0,00	12,78
<i>Trichoderma</i> sp.	0,00	0,00	12,50	16,67	0,00	5,83

Lampiran 2. Analisa ragam penghambatan *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada satu hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	646,959	129,392	3,010*	2,62
Galat	24	1031,692	42,987		
Total	29	1678,651			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28
JNT	8,56	8,99	9,23	9,43	9,61

Lampiran 3. Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada dua hsi

Perlakuan	Hambatan (%)					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 1	11,11	20,00	0,00	17,39	32,14	16,13
Isolat 2	35,71	15,38	25,00	11,11	0,00	17,44
Isolat 3	5,26	0,00	5,88	28,57	0,00	7,94
Isolat 4	22,22	33,33	50,00	33,33	0,00	27,78
<i>Trichoderma</i> sp.	23,81	31,25	26,67	33,33	33,33	29,68

Lampiran 4. Analisa ragam penghambatan *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada dua hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	3236,595	647,319	4,720*	2,62
Galat	24	3291,387	137,141		
Total	29	6527,982			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28
JNT	15,29	16,09	16,51	16,87	17,19

Lampiran 5. Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada tiga hsi

Perlakuan	Hambatan (%)					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 1	16,67	16,67	0,00	36,67	36,67	21,33
Isolat 2	48,00	40,00	11,11	0,00	0,00	19,82
Isolat 3	37,93	0,00	22,72	50,00	0,00	22,13
Isolat 4	30,00	33,33	60,00	33,33	20,00	35,33
<i>Trichoderma</i> sp.	46,67	43,48	52,17	40,00	46,67	45,80

Lampiran 6. Analisa ragam penghambatan *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada tiga hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	6037,753	1207,551	4,831*	2,62
Galat	24	5999,249	249,969		
Total	29	12037,003			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28
JNT	20,65	21,70	22,27	22,77	23,19

Lampiran 7. Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada empat hsi

Perlakuan	Hambatan (%)					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 1	16,67	0,00	0,00	36,67	36,67	18,00
Isolat 2	53,33	16,67	11,11	11,11	0,00	18,44
Isolat 3	43,33	0,00	33,33	50,00	0,00	25,33
Isolat 4	30,00	33,33	60,00	33,33	0,00	31,33
<i>Trichoderma</i> sp.	46,67	53,33	56,67	36,67	33,33	45,33

Lampiran 8. Analisa ragam penghambatan *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis pada secara *in vitro* empat hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	5741,934	1148,387	3,664*	2,62
Galat	24	7521,481	313,395		
Total	29	13263,416			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28
JNT	23,12	24,31	24,95	25,50	25,98

Lampiran 9. Persentase hambatan oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada lima hsi

Perlakuan	Hambatan (%)					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 1	23,08	14,29	11,11	36,67	36,67	24,36
Isolat 2	53,33	6,67	11,11	11,11	12,5	18,94
Isolat 3	40,00	0,00	36,00	50,00	9,09	27,02
Isolat 4	30,00	33,33	60,00	33,33	0,00	31,33
<i>Trichoderma</i> sp.	46,67	60,00	63,33	36,67	30,00	47,33

Lampiran 10. Analisa ragam penghambatan *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vitro* pada lima hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	6018,503	1203,701	4,413*	2,62
Galat	24	6546,105	272,754		
Total	29	12564,608			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28
JNT	21,57	22,69	23,28	23,79	24,24

Lampiran 11. Luas miselium *S. rolfsii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada satu hsi

Perlakuan	Luas miselium (cm <sup>2</sup> )					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	1,65	1,53	1,25	1,22	1,2	1,40
Isolat 1	1,13	2,22	0,83	0,98	0,90	1,21
Isolat 2	1,00	1,17	1,89	0,74	1,47	1,25
Isolat 3	2,19	1,54	2,27	0,57	0,54	1,42
Isolat 4	0,90	0,68	0,95	0,61	1,00	0,83

Lampiran 12. Analisa ragam luas miselium *S. rolfsii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada satu hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	1,144	0,286	1,050	2,87
Galat	20	5,449	0,272		
Total	24	6,594			

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,95	3,10	3,18	3,25	3,30
JNT	0,69	0,71	0,73	0,75	0,76

Lampiran 13. Luas miselium *S. rolfsii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada dua hsi

Perlakuan	Luas miselium (cm <sup>2</sup> )					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	7,40	9,34	6,60	5,31	6,15	6,96
Isolat 1	2,92	4,08	3,40	3,08	5,02	3,70
Isolat 2	3,36	2,49	6,92	1,70	9,73	4,84
Isolat 3	11,94	9,62	6,51	1,65	2,19	6,38
Isolat 4	3,20	1,49	2,35	2,69	3,30	2,61

Lampiran 14. Analisa ragam luas miselium *S. rolfsii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada dua hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	65,719	16,430	2,320	2,87
Galat	20	141,663	7,083		
Total	24	207,382			

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,95	3,10	3,18	3,25	3,30
JNT	3,51	3,69	3,78	3,87	3,93

Lampiran 15. Luas miselium *S. rolfsii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada tiga hsi

Perlakuan	Luas miselium (cm <sup>2</sup> )					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	14,85	20,98	15,76	14,65	15,20	16,29
Isolat 1	3,30	4,79	4,83	4,23	15,76	6,58
Isolat 2	5,02	3,70	7,69	1,96	20,82	7,84
Isolat 3	16,61	16,04	9,89	3,56	3,46	9,91
Isolat 4	5,85	2,63	7,54	9,78	4,91	6,14

Lampiran 16. Analisa ragam luas miselium *S. rolfsii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada tiga hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	343,509	85,877	3,085*	2,87
Galat	20	556,698	27,835		
Total	24	900,207			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,95	3,10	3,18	3,25	3,30
JNT	6,96	7,32	7,50	7,67	7,79

Lampiran 17. Luas miselium *S. rolf sii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada empat hsi

Perlakuan	Luas miselium (cm <sup>2</sup> )					Rerata
	U1	U2	U3	U4	U5	
Kontrol	24,35	29,98	23,06	21,39	22,30	24,22
Isolat 1	3,46	5,31	5,02	5,18	18,31	7,46
Isolat 2	4,64	6,51	8,04	2,49	23,15	8,96
Isolat 3	16,61	20,26	11,04	3,90	5,60	11,48
Isolat 4	8,97	2,92	12,12	15,54	5,31	8,97

Lampiran 18. Analisa ragam luas miselium *S. rolf sii* oleh 4 isolat bakteri antagonis secara *in vitro* pada empat hsi

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	941,506	235,376	6,168*	2,87
Galat	20	763,187	38,159		
Total	24	1704,693			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4	5
JND 5%	2,95	3,10	3,18	3,25	3,30
JNT	8,15	8,56	8,78	8,97	9,11

Lampiran 19. Persentase kejadian penyakit *S. rolf sii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada dua hst

Perlakuan	Kejadian penyakit (%)				Rerata
	U1	U2	U3	U4	
Kontrol	0,95	0,00	0,00	2,86	0,95
Isolat 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isolat 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Trichoderma sp.</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Lampiran 20. Analisa ragam kejadian penyakit *S. rolf sii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada dua hst

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	3,023	0,605	2,000	2,90
Ulangan	3	0,907	0,302	1,000	3,29
Galat	15	4,535	0,302		
Total	23	8,466			

	1	2	3	4
JND 5%	3,01	3,16	3,25	3,31
JNT	0,83	0,85	0,88	0,89

Lampiran 21. Persentase kejadian penyakit *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada empat hst

Perlakuan	Kejadian penyakit (%)				Rerata
	U1	U2	U3	U4	
Kontrol	22,86	20,95	19,05	20,95	20,95
Isolat 1	17,14	9,52	9,52	11,43	11,90
Isolat 2	15,24	15,24	17,14	11,43	14,76
Isolat 3	19,05	19,05	8,57	12,29	15,24
Isolat 4	4,76	6,67	6,67	11,43	7,38
<i>Trichoderma</i> sp.	1,90	4,76	0,95	5,71	3,33

Lampiran 22. Analisa ragam kejadian penyakit *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada empat hst

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	777,211	155,442	16,172*	2,90
Ulangan	3	33,371	11,124	1,157	3,29
Galat	15	144,180	9,612		
Total	23	954,762			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4
JND 5%	3,01	3,16	3,25	3,31
JNT	4,67	4,90	5,04	5,13

Lampiran 23. Persentase kejadian penyakit *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada enam hst

Perlakuan	Kejadian penyakit (%)				Rerata
	U1	U2	U3	U4	
Kontrol	80	71,43	87,62	78,09	79,29
Isolat 1	68,57	53,33	57,14	47,62	56,67
Isolat 2	62,86	60	65,71	47,62	59,05
Isolat 3	44,76	61,90	21,90	33,33	40,48
Isolat 4	24,76	25,71	13,33	19,05	20,71
<i>Trichoderma</i> sp.	14,28	25,71	20	23,81	20,95

Lampiran 24. Analisa ragam kejadian penyakit *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada enam hst

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	10756,009	2151,202	24,259*	2,90
Ulangan	3	276,644	92,215	1,040	3,29
Galat	15	1330,159	88,667		
Total	23	63568,254			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4
JND 5%	3,01	3,16	3,25	3,31
JNT	14,17	14,88	15,31	15,59

Lampiran 25. Persentase kejadian penyakit *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada delapan hst

Perlakuan	Kejadian penyakit (%)				Rerata
	U1	U2	U3	U4	
Kontrol	80,95	71,43	90,48	80	80,71
Isolat 1	71,43	55,24	60,95	47,62	58,81
Isolat 2	69,52	66,67	65,71	47,62	62,38
Isolat 3	48,57	71,43	28,57	33,33	45,48
Isolat 4	27,62	31,43	18,09	22,86	25,00
<i>Trichoderma</i> sp.	17,14	25,71	27,62	28,57	24,76

Lampiran 26. Analisa ragam kejadian penyakit *S. rolfsii* oleh 5 isolat mikroba antagonis secara *in vivo* pada delapan hst

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	9821,315	1964,263	17,449*	2,90
Ulangan	3	329,139	130,713	1,161	3,29
Galat	15	1688,587	112,572		
Total	23	11902,041			

Ket: \* = berbeda nyata

	1	2	3	4
JND 5%	3,01	3,16	3,25	3,31
JNT	15,97	16,75	17,22	17,54

Lampiran 27. Mikroorganisme rhizosfer hasil eksplorasi

Antagonis	Dokumentasi	Ciri-ciri
Bakteri Isolat 1		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Berwarna putih kecoklatan pada media NA</li> <li>• Bentuk koloni bulat</li> <li>• Permukaan cembung</li> <li>• Gram negatif</li> </ul>
Bakteri Isolat 2		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pada media NA berwarna putih</li> <li>• Bentuk koloni bulat</li> <li>• Permukaan datar</li> <li>• Tepi koloni rata</li> <li>• Gram positif</li> </ul>
Bakteri Isolat 3		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pada media NA berwarna putih sampai kehijauan</li> <li>• Bentuk koloni bulat</li> <li>• Permukaan cembung</li> <li>• Tepi koloni rata</li> <li>• Gram positif</li> </ul>
Bakteri Isolat 4		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pada media NA berwarna putih</li> <li>• Bentuk koloni tidak teratur</li> <li>• Permukaan cembung</li> <li>• Tepi koloni membentuk seperti akar</li> <li>• Gram negatif</li> </ul>

Bakteri Isolat 5



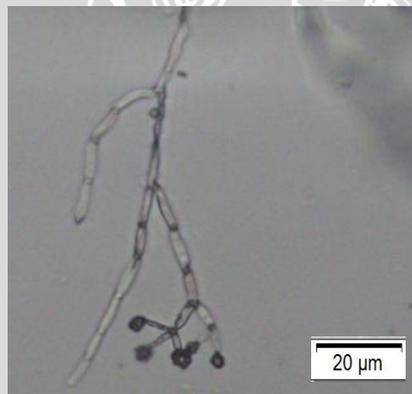
- Pada media NA berwarna coklat tua kemerahan.
- Bentuk bulat
- Permukaan datar
- Tepi koloni rata

Bakteri Isolat 6



- Berwarna putih kekuningan pada media NA
- Bentuk bulat
- Permukaan cembung

Jamur *Trichoderma* (Isolat 7)



- Berwarna putih sampai hijau pada media PDA
- Konidiofor hyalin
- Memiliki percabangan dan bersekat-sekat
- Memiliki fialid yang ujungnya terdapat konidia

Actinomycetes (Isolat 8)



- Berwarna oranye hingga merah pada media GNA
- Koloni memiliki tepung dan melekat pada media
- Secara mikroskopis memiliki spora berantai
- Bau seperti tanah

Bakteri Isolat 9



- Berwarna putih kecoklatan pada media NA
- Bentuk koloni bulat
- Permukaan cembung
- Tepi koloni rata

Bakteri Isolat 10



- Berwarna putih kekuningan pada media NA
- Permukaan rata
- Tepi koloni rata

Bakteri Isolat 11



- Berwarna putih pada media NA
- Permukaan cembung
- Bentuk koloni tidak teratur

Bakteri Isolat 12



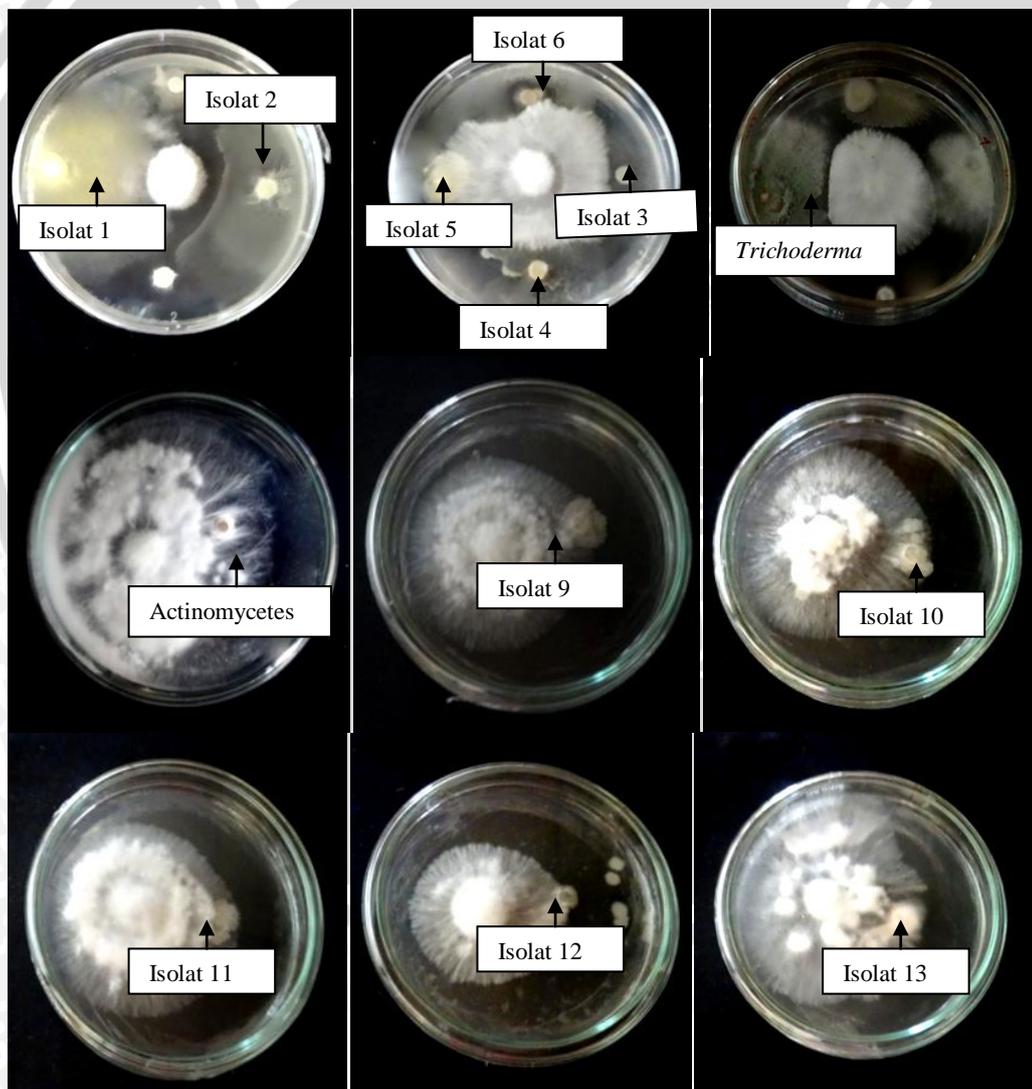
- Berwarna putih pada media NA
- Permukaan datar

Bakteri Isolat 13



- Berwarna putih pada media NA
- Permukaan rata

Lampiran 28. Pendahuluan uji antagonis isolat hasil eksplorasi



Lampiran 29. Analisis kandungan unsur hara pada contoh tanah

Kandungan unsur hara tanah	Tanah
pH	6,05
N-total	0,22%
P – total	0,04%
K-tersedia	0,004%
C/N rasio	0,79%

Lampiran 30. Perkecambah benih kedelai tanpa inokulasi jamur *S. rolfsii* (%)



→ 98%

Lampiran 31. Media GNA, PDA dan NA

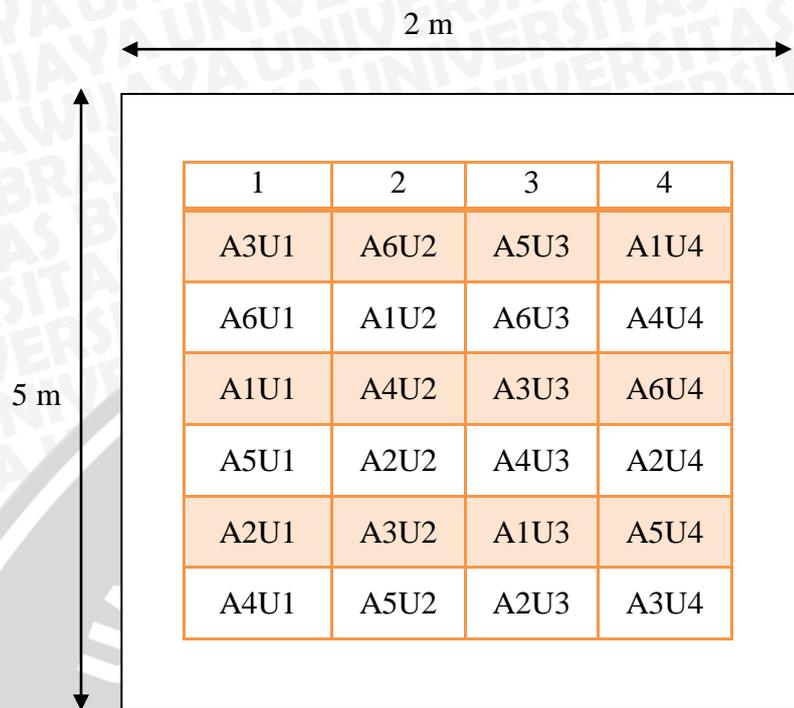


## Lampiran 32. Deskripsi varietas kedelai

## BURANGRANG

Dilepas tahun	: 1999
No galur	: C1-1-2/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 t/ha
Warna hipokotil	: ungu
Warna bulu	: 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 gram
Ukuran biji	: besar
Kandungan protein	: 39%
Kandungan minyak	: 20%
Kerebahan	: tidak mudah rebah
Ketahanan terhadap penyakit	: toleran karat daun
Keterangan	: sesuai untuk bahan baku susu kedelai, tempe, dan tahu
Pemulia	: Rodiah S., Ono Sutrisno, Gatot Kustiyono, Sumarno, dan Soegito
Benih penjenis	: dipertahankan di BPTP Karangploso, Balitkabi, dan Puslitbang Tanaman Pangan Bogor.

Lampiran 33. Denah rancangan penelitian



Keterangan :

- A0 :Kontrol atau tanpa isolat antagonis
- A1 :Perlakuan bakteri isolat 1
- A2 :Perlakuan bakteri isolat 2
- A3 :Perlakuan bakteri isolat 3
- A4 :Perlakuan bakteri isolat 4
- A5 :Perlakuan jamur *Trichoderma* sp.
- U1 :Ulangan ke-1
- U2 :Ulangan ke-2
- U3 :Ulangan ke-3
- U4 :Ulangan ke-4