

**BAKTERI ANTAGONIS DARI AIR SAWAH DAN UJI  
KEMAMPUAN ANTAGONISNYA TERHADAP PATOGEN  
*Rhizoctonia solani* PADA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.)**

Oleh :

**JENINTA EKESIA GINTING**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG  
2018**

**BAKTERI ANTAGONIS DARI AIR SAWAH DAN UJI  
KEMAMPUAN ANTAGONISNYA TERHADAP PATOGEN  
*Rhizoctonia solani* Pada TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.)**

**OLEH  
JENINTA EKESIA GINTING**

**145040201111127**

**MINAT STUDI PERLINDUNGAN TANAMAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**SKRIPSI**

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
2018**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul Penelitian : Bakteri Antagonis dari Air Sawah dan Uji Antagonisnya Terhadap Patogen *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.)  
Nama Mahasiswa : Jeninta Ekesia Ginting  
NIM : 14504020111127  
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan  
Program Studi : Agroekoteknologi

**Disetujui**

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

  
Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.  
NIP. 201304 841014 1 001

Diketahui,  
Ketua Jurusan  
Hama dan Penyakit Tumbuhan



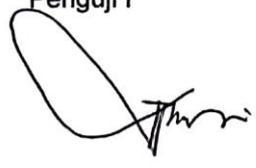
Dr. Ir. Eudji Pantia Astuti, MS.  
NIP. 19551018 198601 2 001

**Tanggal Persetujuan :**



**LEMBAR PENGESAHAN**

Mengesahkan  
**MAJELIS PENGUJI**

Penguji I  


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

Penguji II  


Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.  
NIP. 201304 841014 1 001

Penguji III  


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

Penguji IV  


Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.  
NIP. 19590705 198601 1 003

**Tanggal Lulus : 3 1 OCT 2018**



## PERNYATAAN

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

Malang, September 2018

Jeninta Ekesia Ginting



## RINGKASAN

**Jeninta Ekesia Ginting. 145040201111127. Bakteri Antagonis dari Air Sawah dan Uji Antagonisnya Terhadap *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L). Dibawah bimbingan Dr. Anton Muhibuddin., SP., MP. sebagai pembimbinga utama dan Antok Wahyu S., SP., MP. sebagai pembimbing pendamping.**

---

Mikroba antagonis adalah suatu jasad renik yang dapat menghambat, menekan atau memusnahkan mikroba lain. Salah satu penyakit tanaman penting di Indonesia adalah hawar pelepah pada tanaman padi yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*. Bakteri antagonis dapat ditemukan pada tanah, jaringan endofit dan air. Pada penelitian sebelumnya pada air sawah ditemukan bakteri *Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* dan *Lactobacillus*. Pengendalian penyakit tanaman hingga kini masih mengandalkan penggunaan pestisida kimia sintetis yang relatif mahal dan dapat mencemari lingkungan, sehingga dibutuhkan pengendalian yang ramah lingkungan. Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh bakteri antagonis dari air sawah dan mempelajari potensi anatagonis bakteri air sawah terhadap jamur *Rhizoctonia solani*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya mulai bulan Maret 2018 – September 2018 menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tujuh perlakuan. Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT (Duncan Multi Range Test) pada taraf 5%. Pada penelitian ini pengujian yang dilakukan adalah eksplorasi bakteri air sawah dan uji antagonis bakteri yang memiliki potensi terhadap *Rhizoctonia solani*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa air sawah memiliki beberapa genus bakteri antagonis yaitu *Bacillus*, *Pantoea*, dan *Pseudomonas*. Pada pengujian yang dilakukan secara *in vitro* genus bakteri yang ditemukan mampu menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* dengan daya hambat tertinggi pada isolat S14 kemampuan daya hambat ditunjukkan dengan pertumbuhan miselium jamur yang memendek dan terbentuk zona bening.

## SUMMARY

**Jeninta Ekesia Ginting. 14504020111127. Antagonistic Bacteria of Paddy Field Water and Their Antagonism Test for Inhibition of *Rhizoctonia solani* on Rice Plant (*Oryza sativa* L.). Supervised by Dr. Anton Muhibuddin., SP., MP. as main supervisor dan Antok Wahyu S., SP., MP. companion supervisor.**

---

Antagonistic microbes are microorganisms that can inhibit, suppress or destroy other microbes. One of the important plant diseases in Indonesia is the midrib blight on rice plants caused by *Rhizoctonia solani*. Antagonistic bacteria can be found on soil, endophytic tissue and water. In previous studies on paddy water found *Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* and *Lactobacillus* bacteria. Plant disease control is still relying on the use of synthetic chemical pesticides which are relatively expensive and can pollute the environment, so that environmentally friendly controls are needed. The purpose of this study was to obtain antagonistic bacteria from rice water and study the anatomic potential of paddy water bacteria against

*Rhizoctonia solani* this research was conducted at the Bacteriology Laboratory of the Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya, from March 2018 - September 2018 using a Completely Randomized Design with seven treatments. If there is a difference then proceed by using the DMRT (Duncan Multi Range Test) at the level of 5%. In this study the tests carried out were exploration of paddy water bacteria and bacterial antagonist tests which have potential against *Rhizoctonia solani*.

The results showed that paddy water had several antagonistic bacterial genera namely *Bacillus*, *Pantoea*, and *Pseudomonas*. In tests carried out in vitro the genus of bacteria found was able to inhibit the growth of *Rhizoctonia solani* with the highest inhibitory power on S14 isolates the ability of inhibitory power shown by the growth of fungal mycelium which shortened and formed clear zones.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan kasihNya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Bakteri Antagonis dari Air Sawah dan Uji Antagonisnya Terhadap *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.)”**

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada berbagai pihak yang telah memberikan dukungan

1. Kedua orangtua, kakak dan adik dan segenap keluarga serta orang-orang terdekat atas doa, motivasi, kasih sayang, dukungan, dan pengertian yang diberikan kepada penulis
2. Dr. Anton Muhibuddin SP., MP. selaku dosen pembimbing utama dan bapak Antok Wahyu S., SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping atas segala kesabaran, nasihat, arahan, dan bimbingannya kepada penulis.
3. Ketua Jurusan Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. atas nasehat dan bimbingan kepada penulis serta seluruh dosen dan karyawan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas segala arahan dan bimbingannya kepada penulis.
4. Teman - teman di Medan, teman – teman di Malang dan teman teman di lab bakteriologi atas doa, motivasi, bantuan, dan saran yang diberikan kepada penulis.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, September 2018

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Medan, 10 Januari 1996 sebagai putri kedua dari tiga bersaudara dari pasangan bapak Ringan Ginting dan ibu Linda Pinem.

Penulis menempuh pendidikan di TK Putri Sion pada tahun 2001, pendidikan sekolah dasar di SD Budi Murni 2 pada tahun 2002 sampai tahun 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMP Budi Murni 2 pada tahun 2011, dan pendidikan sekolah menengah atas diselesaikan di SMAN 2 Medan pada tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur melalui jalur seleksi Undangan (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Ilmu Penyakit Tanaman tahun 2018. Penulis aktif dalam organisasi fakultas yaitu Unit Kegiatan Mahasiswa Kristen (UKMK) Christian Community. Penulis pernah aktif sebagai panitia tingkat fakultas meliputi Perayaan Natal Christian Community 2014 sebagai divisi acara, sebagai bendahara pelaksana pada Perayaan Paskah 2015 dan aktif pada kegiatan – kegiatan Christian Community lainnya.

## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN .....</b>	<b>i</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>ix</b>
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan.....	2
1.4 Hipotesis.....	2
1.5 Manfaat.....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Karakteristik Tanaman Padi .....	4
2.2 Lahan Sawah .....	5
2.3 Bakteri Rhizosfer.....	6
2.4 Bakteri Lahan Sawah.....	7
2.5 <i>Rhizoctonia Solani</i> .....	7
2.5.1 Klasifikasi <i>Rhizoctonia Solani</i> .....	7
2.5.2 Tanaman Inang.....	7
2.5.3 Karakteristik <i>Rhizoctonia Solani</i> .....	9
2.6 Pengendalian Pada <i>Rhizoctonia Solani</i> .....	11
2.7 Pengendalian Hayati Dengan Agen Antagonis .....	12
2.8 Mekanisme Antagonis Oleh Agen Antagonis .....	12
2.8.1 Antibiosis .....	13
2.8.2 Kompetisi .....	13
2.8.3 Parasitisme .....	13
2.9 Hasil Penelitian Pengendali Antagonis Dengan Bakteri .....	13
<b>3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>15</b>

3.1	Tempat Dan Waktu Penelitian .....	15
3.2	Alat Dan Bahan Penelitian .....	15
3.3	Pelaksanaan Penelitian .....	15
3.3.1	Pengambilan Sampel.....	15
3.3.2	Isolasi Bakteri Air Sawah.....	15
3.3.3	Jamur Patogen .....	16
3.3.4	Seleksi Bakteri Air Sawah .....	18
3.3.5	Uji Antagonis Bakteri Air Sawah .....	19
3.3.6	Uji Hypersensitif.....	20
3.3.7	Identifikasi Bakteri .....	20
3.4	Variabel Pengamatan.....	22
3.5	Analisis Data .....	22
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1	Isolasi Jamur <i>Rhizoctonia Solani</i> .....	23
4.2	Hasil Eksplorasi.....	24
4.3	Seleksi Bakteri Antagonis .....	25
4.4	Karakteristik dan Identifikasi Bakteri .....	26
4.4.1	Karakteristik Morfologi .....	26
4.4.2	Karakteristik Fisiologi Dan Biokimia.....	30
4.4.3	Hasil Identifikasi.....	37
4.5	Presentase Daya Hambat Bakteri Dengan Jamur <i>Rhizoctonia Solani</i> Secara <i>In Vitro</i> .....	39
4.5.1	Bakteri Genus <i>Pseudomonas</i> sp.....	40
4.5.2	Bakteri Genus <i>Baccilus</i> sp. ....	41
4.5.3	Bakteri Genus <i>Pantoea</i> sp.....	42
<b>5.</b>	<b>PENUTUP.....</b>	<b>43</b>
5.1	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran.....	43
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>



## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan uji antagonis .....	19
2.	Persentasi hasil seleksi bakteri air sawah dengan jamur <i>R. solani</i> .....	25
3.	Karakteristik morfologi bakteri air sawah.....	27
4.	Karakteristik Fisiologi dan Biokimia.....	30
5.	Hasil Identifikasi .....	37
6.	Persentase Daya hambat Bakteri Air Sawah.....	40



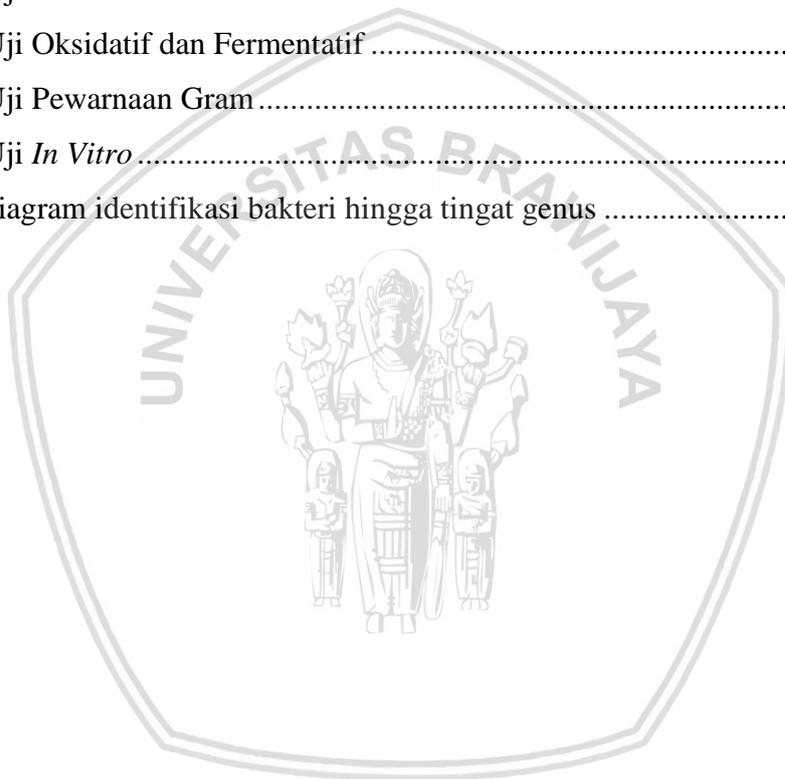
## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tanaman Padi.....	4
2.	Lahan Sawah .....	6
3.	Gejala tanaman padi yang terkena <i>Rhizoctonia solani</i> .....	9
4.	Sklerotia cendawan <i>Rhizoctonia solani</i> .....	10
5.	Hifa cendawan <i>R. solani</i> dengan perbesaran 10 x 100.....	10
6.	Hasil isolasi patogen <i>R. solani</i> .....	11
7.	Seleksi bakteri air sawah pada cawan petri.....	18
8.	Pengujian in vitro pada cawan petri .....	20
9.	Makroskopis miselium jamur <i>Rhizoctonia solani</i> pada media PDA pada umur 9 hari .....	23
10.	Mikroskopis jamur <i>Rhizoctonia solani</i> .....	24
11.	Bakteri hasil pengenceran .....	24
12.	Uji seleksi bakteri yang terpilih .....	26
13.	Morfologi isolat S14 .....	27
14.	Morfologi isolat S17 .....	28
15.	Morfologi isolat S18 .....	28
16.	Morfologi isolat S19 .....	29
17.	Morfologi isolat S16 .....	29
18.	Morfologi isolat S31 .....	30
19.	Uji hypersensitive pada daun tembakau yang diinokulasi .....	31
20.	Uji Katalase pada bakteri .....	31
21.	Uji pewarnaan gram pada bakteri .....	32
22.	Hasil uji KOH 3% pada bakteri .....	33
23.	Uji Oksidatif Fermentatif bakteri .....	34
24.	Pewarnaan spora pada bakteri <i>Baccilus</i> sp.....	35
25.	Uji fluorescens pada bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. Bakteri berpendar .....	35
26.	Uji pada media YDC koloni bewarna kuning.....	36



**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor	Tesk	Halaman
1.	Tabel ANOVA Persentase Penghambatan Pertumbuhan Jamur <i>R. solani</i> oleh Bakteri Filosfer secara in vitro .....	52
2.	Uji hypersensitive.....	54
3.	Uji KOH.....	55
4.	Uji katalase.....	56
5.	Uji fluorescens .....	57
6.	Uji Oksidatif dan Fermentatif .....	58
7.	Uji Pewarnaan Gram.....	59
8.	Uji <i>In Vitro</i> .....	60
9.	Diagram identifikasi bakteri hingga tingkat genus .....	61



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Mikroba antagonis adalah suatu jasad renik yang dapat menghambat, menekan atau memusnahkan mikroba lain. Mikroba antagonis dapat berupa bakteri, jamur, dan virus (Litbang,2018). Salah satu mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri. Bakteri memiliki potensi sebagai pengendali hayati dikarenakan memiliki kemampuan amilolitik, preteolitik, lipolitik, antibiosis dan selulolitik (Hatmatati, 2000). Kelebihan yang dimiliki oleh bakteri dalam mengendalikan patogen yaitu: (1) Penghambatan dengan antibiotik, senyawa organik volatile (VOC), toksin, agen anti jamur serta dapat memproduksi diacetylphloroglucinol (DAPG) dan hidrogen sianida, (2) memiliki kemampuan melarutkan dan mengikat besi dan fosfor dari tanah serta memiliki kemampuan persaingan yang baik dalam merebut nutrisi dan mineral dari agen patogen, (3) parasitisme, yang mungkin melibatkan produksi enzim-enzim ekstraseluler dinding-sel, seperti selulase, kitinase,  $\beta$ -1,3-glukanase, protease dan 17 lipase, yang dapat melisis dinding sel (Do Thi Xuan, 2012).

Kelompok bakteri antagonis dapat ditemukan di tanah, jaringan endofit dan air (Djaenuddin dan Muis, 2015). Dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Reche dan Fiuza (2005) pada air sawah ditemukan bakteri *Bacillus* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp., *Corynebacterium*, *Staphylococcus* dan *Lactobacillus*. *Bacillus* merupakan mikroba antagonis yang mampu menghasilkan enzim protease, amilase, lipase, serta kitinase sebagai enzim pengurai dinding sel patogen (Djaenuddin dan Muis, 2015). Hasil penelitian sebelumnya juga menyatakan kelompok bakteri genus *Baccilus* sp. dapat sebagai agensi pengendali hayati penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* pada kentang dengan menunda masa inkubasi, menekan indeks penyakit layu bakteri dengan efektivitas 64,9% (Prihatiningsih *et al.*, 2015). Menurut Budi dan Mariana (2013) menyatakan bahwa *Pseudomonas fluorescent* dapat sebagai agen hayati untuk mengurangi penyakit *Rhizoctonia solani* pada tanaman padi sebesar 58,7 % - 87, 29 %.

Pengendalian penyakit tanaman hingga kini masih mengandalkan penggunaan pestisida kimia sintetis yang relatif mahal dan dapat mencemari

lingkungan, terutama jika diaplikasikan secara tidak terkendali (Nuryanto, 2018). Selain itu, penggunaan pestisida berlebihan dapat menyebabkan masalah baru, yakni adanya residu pestisida pada produk atau hasil pertanian dan pada akhirnya dapat membahayakan kesehatan (Mahyuni, 2015). Sehingga alternatif lain yang dapat digunakan adalah dengan menggunakan bakteri antagonis. Potensi bakteri sangat bagus sehingga perlu dikembangkan dan digunakan dalam mengendalikan penyakit tanaman salah satunya adalah penyakit hawar pelepah pada tanaman padi yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*.

Penelitian mengenai potensi bakteri air sawah belum ada diteliti di Indonesia sehingga dapat menjadi penelitian yang baru untuk dilakukan. Berdasarkan pernyataan diatas maka penelitian diperlukan agar mengetahui potensi bakteri antagonis yang didapatkan dari air sawah dapat mengendalikan penyakit hawar pelepah dan dapat mengurangi pemakaian pestisida kimia yang berlebihan yang berdampak negatif bagi lingkungan dan kesehatan.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah air sawah mengandung bakteri antagonis?
2. Apakah bakteri antagonis hasil isolasi dari air sawah memiliki kemampuan antagonis yang baik dalam menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani*?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Memperoleh bakteri antagonis dari air sawah.
2. Untuk mengetahui potensi anatagonis bakteri air sawah terhadap jamur *Rhizoctonia solani*.

### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Air sawah mengandung bakteri antagonis
2. Bakteri antagonis dari air sawah dapat menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani*.

### 1.5 Manfaat

Dari penelitian didapatkan isolat bakteri antagonis yang berkemampuan tinggi dalam menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* sehingga dapat dimanfaatkan dan dikembangkan menjadi agen antagonis yang dapat digunakan secara luas sehingga pemakaian bahan kimia (pestisida) dapat dikurangi.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Karakteristik Tanaman Padi

Tanaman padi termasuk divisi: *Spermathophyta*, Kelas: *Monokotiledon*, Ordo: *Glumeflorae*, Famili: *Gramineae*, Genus: *Oryza*, Spesies: *Oryza sativa* L. Dalam proses pertumbuhan tanaman padi dibagi menjadi tiga fase yaitu: fase vegetatif, fase reproduktif, dan proses pematangan. Fase vegetatif merupakan fase pertumbuhan organ vegetatif tanaman seperti penambahan jumlah anakan, tinggi tanaman, bobot, dan luas daun. Fase reproduktif ditandai dengan memanjangnya beberapa ruas teratas tanaman, berkurangnya jumlah anakan (matinya anakan yang tidak produktif), munculnya daun bendera dan pembunga. Proses pematangan merupakan proses pematangan (pembungaan sampai gabah matang) (Makarim dan Suhartatik, 2009).



Gambar 1. Tanaman Padi (Utami *et al.*, 2005)

Tanaman padi memiliki bentuk batang silindris agak pipih dan berlubang. Batang padi berwarna hijau tua dan ketika fase generatif warna batang berubah menjadi kekuningan (Utama, 2015). Pada permukaan stadia tumbuh batang terdiri atas pelepah- pelepah daun dan ruas-ruas yang bertumpuk padat. Ruas-ruas akan memanjang dan berongga pada stadia reproduktif (Makarim dan Suhartatik, 2009).

Daun tanaman padi tersusun selang- seling. Tiap daun terdiri dari ruas daun, helai daun, pelepah daun yang membungkus ruas telinga daun dan lidah daun

(Makarim dan Suhartatik, 2009). Helaian daun kasar dengan bagian ujung runcing. Helaian daun duduk, dengan bentuk garis dengan kedua sisi ibu tulang daun beberapa tulang daun yang sejajar. Pada saat memasuki masa panen daun berubah warna dari hijau tua menjadi kuning emas (Utama, 2015).

Akar tanaman berfungsi sebagai penguat tanaman agar dapat tumbuh tegak, menyerap hara dan air dari dalam tanah (Makarim dan Suhartatik, 2009). Akar pada tanaman padi adalah serabut yang terbagi menjadi dua yaitu: akar tumbuh dari kecambah (akar utama) dan akar yang tumbuh didekat batang (akar seminal) (Vergara, 1991).

Bunga padi atau malai merupakan bunga majemuk. Malai terdiri dari dasar malai dan tangkai malai. Setiap unit bunga dinamakan bulir. Bakal buah berbiji satu dinamakan dengan buah padi (*caryopsis*), sedangkan bulir padi yang belum dikupas dinamakan gabah. Fase pematangan menunjuk pada pertumbuhan biji yaitu penambahan berat, ukuran, pertumbuhan ukuran dan berat, perubahan warna biji dan penebaran daun (Yoshida, 1981).

## 2.2 Lahan Sawah

Lahan sawah merupakan agro-ekosistem yang unik, di mana sawah digenangi untuk sebagian besar periode penanaman padi dan dibiarkan dalam kondisi kering selama musim tanaman mati. Oleh karena itu, sawah terdiri dari habitat yang beragam untuk berbagai mikroorganisme, yang didukung oleh kondisi tanah aerob / anaerob, air tergenang, akar padi, jerami padi dan material yang dikomposkan.

Selain itu, gradien dari stagnan ke air perkolasi menyediakan lingkungan dengan tingkat oksigen yang berbeda. Habitat-habitat ini adalah lingkungan mikro yang berbeda secara abiotik yang dapat menunjukkan sifat-sifat biologis yang berbeda. Heterogenitas habitat semacam ini mempengaruhi struktur dan keragaman komunitas mikroba di ekosistem sawah secara keseluruhan dan dapat mendukung berbagai proses mikrobiologi yang terjadi di sawah, yang sebagian besar secara agronomis dan biogeokimia yang sangat penting (Kimura *et al*, 2001).



Gambar 2. Lahan Sawah (Xu an, 2012)

Bakteri pada lahan sawah yang tergenang sangat sensitif terhadap pH dengan kisaran optimum antara 6,7 dan 7,1. Dalam lingkungan asam, proses nitrifikasi berlangsung lambat. Bahkan di hadapan pasokan substrat yang memadai, spesies yang bertanggung jawab jarang atau sama sekali tidak ada pada keasaman besar.

### 2.3 Bakteri Rhizosfer

Rizosfer adalah daerah yang ideal untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba antagonis. Nutrisi yang diberikan tanaman ke dalam rizosfer banyak dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan selanjutnya mempengaruhi kelimpahan dan keragaman mikroba di daerah tersebut (Kuswinanti, 2014). Bakteri rhizosfer adalah bakteri yang berada disekitar daerah perakaran tanaman yang memiliki potensi sebagai pelindung dari serangan patogen. Beberapa jenis bakteri rhizosfer adalah *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Streptomyces* (Nurbaya *et al.* 2011). Jenis bakteri tersebut memiliki kemampuan menghambat yang berbeda beda sesuai dengan patogen dan keadaan lingkungannya. *Bacillus* sp. mampu berperan sebagai agens hayati bagi patogen tumbuhan melalui mekanisme antibiosis dengan menghasilkan senyawa penghambat di antaranya antibiotik, peptida, senyawa fenol dan enzim, alkaloid, dan siderofor (Haggag & Mohamed, 2007). Kelompok bakteri *Pseudomonas* sp. berperan sebagai agen antagonis melalui mekanisme dengan menghasilkan senyawa kitin sehingga dapat

mendegradasi kitin yang merupakan komponen penting pada dinding sel jamur (Wang dan Chang, 1997).

## 2.4 Bakteri Lahan Sawah

Lahan sawah merupakan salah satu lingkungan untuk tempat tinggal berbagai mikroorganisme untuk hidup, salah satunya adalah bakteri. Bakteri rhizosfer pada lahan sawah dapat ditemukan disekitar daerah perakaran tanaman yang memiliki potensi sebagai pelindung dari serangan patogen. Beberapa jenis bakteri yang ditemukan pada lahan sawah yaitu: *Corynebacterium* sp., *Lactobacillus* sp., *Proteus* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Pasteurella* sp., *Escherichia* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Burkholderia* sp., *Salmonella* sp., *Ochrobactrum* sp., *Pseudomonas*, *Pantoea* dan *Bacillus*. Jenis bakteri ini dapat ditemukan disekitar daerah perakaran tanaman pada lahan sawah. Bakteri yang ditemukan pada lahan sawah dapat berinteraksi dengan tanaman yang tumbuh disekitar pada lahan sawah seperti padi. Sehingga dapat mengurangi dampak lingkungan dari penggunaan bahan kimia dalam manajemen budidaya (Reche dan Fiuza 2005)

## 2.5 *Rhizoctonia Solani*

### 2.5.1 Klasifikasi *Rhizoctonia Solani*

Klasifikasi dari *Rhizoctonia solani* terdiri dari Kingdom: *Fungi*, Fillum: *Basidiomycota*, Kelas: *Agaricomycetes*, Order: *Cantharellales*, Family: *Ceratobasidiaceae*, Genus: *Rhizocto*, Species: *Rhizoctonia solani*. (Muhibuddin, 2012).

### 2.5.2 Tanaman Inang

Penyakit busuk pelepah atau hawar pelepah daun yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* merupakan salah satu penyakit utama pada padi dan penyebarannya semakin luas (Soenartiningih *et al.*, 2015). Cendawan *R. solani* mempunyai tanaman inang yang sangat luas, selain pada tanaman dari familia *gramineae* yaitu serealia, jagung, dan padi. *R. solani* juga menyerang familia *leguminoceae* yaitu Kacang - kacangan, *solanaceae* yaitu: terong, tomat dan tanaman budidaya lainnya seperti kentang, kapas, kubis, wortel, bit, bawang merah, krisan, dan tembakau (Semangun, 2008). Pada tanaman jagung serangan

patogen *R. solani* disebut dengan penyakit hawar pelepah. Patogen *R. solani* menyebabkan busuk pada benih (seed rot) dan busuk bibit (seedling blight) (Muis, 2007). Pada bagian tanaman yang terserang cukup parah, seluruh bagian tanaman menjadi berwarna coklat dan kering, kemudian tanaman mati. Pada bagian tanaman yang sudah mati terdapat sklerotia berwarna coklat (Nurhasanah, 2012).

Padi merupakan salah satu komoditas pangan yang menjadi tanaman inang bagi patogen *R. solani*. Patogen menyebabkan tanaman padi menjadi rebah sehingga pengisian malai menjadi tidak sempurna dan membuat gabah menjadi hampa. Pengisian malai yang tidak sempurna menyebabkan penurunan produksi padi secara kualitatif dan kuantitatif (Hiddink, 2005). Pelepah tanaman padi yang terserang cendawan *R. solani* terdapat bercak tidak beraturan berwarna coklat hingga hitam dengan pusat bercak berwarna putih, abu-abu atau coklat muda, biasanya cendawan tersebut menyerang pada bagian bawah pelepah kemudian akan terus menyebar ke bagian atas. Pelepah bagian atas yang terserang menjadi kering, sedangkan pelepah bagian bawah menjadi lembek dan mudah hancur atau patah karena pada bagian bawah pelepah memiliki kelembaban yang lebih tinggi (Nurhasanah, 2012). Keadaan lingkungan disekitar tanaman padi dapat menjadi sumber inokulum untuk tetap hidup baik dalam bentuk aktif (miselium) atau dalam bentuk dorman (sklerotium). Infeksi patogen dapat terjadi pada suhu optimum 28° - 35° dan kelembaban relatif 96% - 98% (Kobayashi *et al.*, 2005).

Perkembangan *Rhizoctonia solani* pada tanaman padi dapat didukung pemberian pupuk yang berlebihan terutama nitrogen, serta cara tanam dengan jarak yang rapat menyebabkan perkembangan hawar pelepah semakin parah. Gejala tanaman padi terserang patogen *R. solani* yaitu dengan adanya bercak – bercak berbentuk oval dan bertepi teratur pada pelepah tanaman padi. Bagian tepi berwarna kemerah – merahan dengan bagian tengah berwarna putih pucat. Apabila serangan berat maka daun akan menjadi kering dan tanaman menjadi mati (Hastuti *et al.*, 2014). Kehilangan hasil padi akibat penyakit hawar pelepah dapat mencapai 30% (Susanti, 2011).

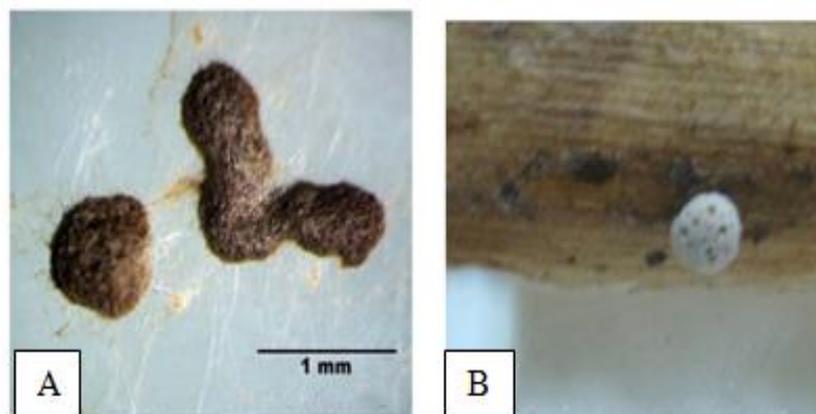


Gambar 3. Gejala tanaman padi yang terkena *Rhizoctonia solani* (Balai besar penelitian padi, 2014)

### 2.5.3 Karakteristik *Rhizoctonia Solani*

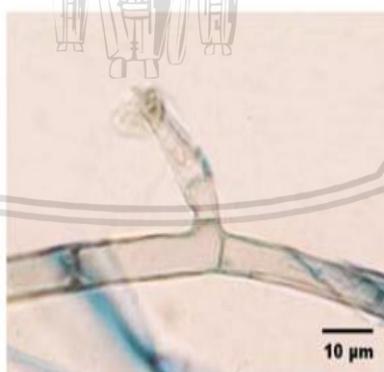
Secara umum, pertumbuhan *Rhizoctonia solani* berlangsung sangat cepat. Cendawan ini dapat hidup selama beberapa tahun dengan memproduksi sklerotia di tanah dan jaringan tanaman. *R. solani* juga bertahan hidup sebagai miselium dengan cara saprofit, yakni mengkolonisasi bahan-bahan organik tanah khususnya sebagai hasil aktivitas patogen tanaman. Sklerotia merupakan sekumpulan hifa yang mengalami pematangan, berwarna gelap dan mampu bertahan dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Agrios, 2005). Sklerotia merupakan struktur bertahan pada cendawan *R. solani*, terbentuk ketika cendawan dalam kondisi kekurangan nutrisi namun kelembaban cukup. Sklerotia *R. solani* memiliki permukaan kasar dengan bentuk yang tidak beraturan serta memiliki struktur yang keras (Nurhasanah, 2012).

Bentuk mikroskopis dari *Rhizoctonia solani* adalah memiliki septa pada hifa, percabangan hifa membentuk sudut 90° dan membentuk sklerotia yang menyebar pada koloni. Koloni *R. solani* berwarna putih, tidak menyebabkan terjadinya pigmentasi pada media, warna hifa hialin dengan diameter antara 7,5 - 10,0  $\mu\text{m}$ , sklerotium menyebar secara acak atau terpusat di pinggir koloni, berukuran 1 - 5 mm berwarna coklat kehitaman (Dovina *et al.*, 2013).

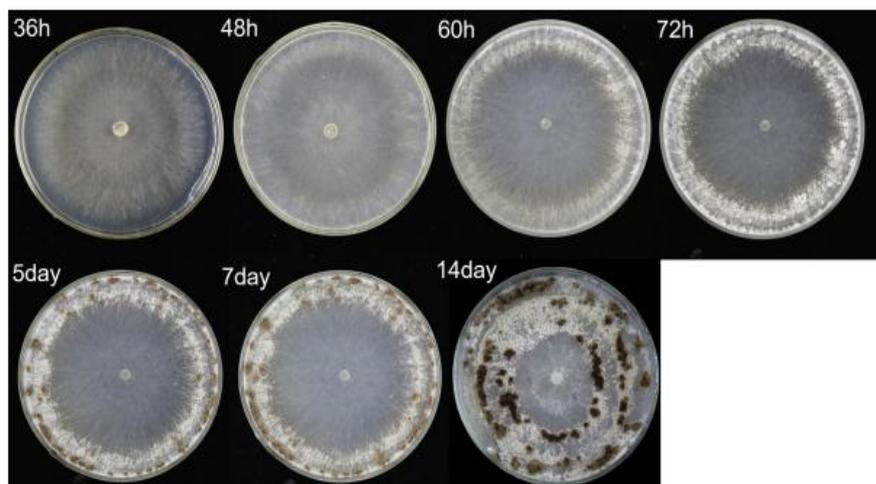


Gambar 4. Sklerotia cendawan *Rhizoctonia solani*. (a) Sklerotia muda; (b) sklerotia tua (Nurhasanah, 2012)

Diameter hifa jamur *Rhizoctonia solani* bergantung pada isolat dan jenis medium yang digunakan. *R. solani* yang diisolasi dengan medium PDA mempunyai diameter 4 - 6  $\mu\text{m}$ , dan yang diisolasi dengan medium *Hopkins syntetic* agar mencapai 6 - 13  $\mu\text{m}$ . Setiap isolat mempunyai diameter 8 - 12  $\mu\text{m}$ , tetapi ada yang berdiameter 6,20 - 9,50  $\mu\text{m}$ . Sklerotium dari *R. solani* terbentuk dari hifa yang mengalami agregasi menjadi massa yang kompak. Sklerotium pada awal pertumbuhan berwarna putih dan setelah dewasa berubah menjadi coklat. Bentuk sklerotium pada umumnya bulat atau tidak beraturan, dan ukurannya bervariasi, bergantung pada isolatnya (Soenartiningih, 2009).



Gambar 5. Hifa cendawan *R. solani* dengan perbesaran 10 x 100 (Nurhasanah, 2012)



Gambar 6. Hasil isolasi patogen *R. solani* (Wang, 2018)

### 2.6 Pengendalian Pada *Rhizoctonia Solani*

Pengendalian yang telah dilakukan pada penyakit hawar pelepah yang disebabkan oleh patogen *Rhizoctonia solani* yang paling umum adalah menggunakan pestisida/ pengendalian kimia. Pengendalian kimia yang digunakan untuk mengedalikan penyakit hawar pelepah yaitu dengan fungisida baik berbahan organik maupun non organik. Fungisida berbahan non organik memiliki kandungan kalsium polisulfida. Kalsium polisulfida merupakan bahan aktif yang sering digunakan dalam produk fungisida maupun insektisida dan termasuk dalam kelompok pestisida kimia anorganik yang mengandung bahan-bahan yang mudah terdegradasi menjadi kalsium hidroksida dan sulfur baik di alam maupun tubuh manusia (sehingga termasuk dalam kelompok pestisida yang ramah lingkungan), namun demikian kalsium polisulfida tersebut mudah menimbulkan iritasi pada kulit dan mata karena memiliki kandungan pH yang tinggi (Hidayah *et al.*, 2005). Penggunaan pestisida kimia dalam pengendalian penyakit hawar pelepah yang telah digunakan adalah dengan penggunaan fungisida berbahan benomyl, mankozeb dan karbendazym (Djunaedy, 2008) .

Selain menggunakan pengendalian kimia, pengendalian untuk menekan perumbuhan *Rhizoctonia solani* dilakukan dengan cara manipulasi lingkungan atau rekayasa ekologi. Hal ini dapat dilakukan dengan mengelola komponen budidaya secara selektif, di antaranya pemilihan varietas tahan, penggunaan benih sehat, pengolahan tanah sempurna, penggunaan bahan organik, keserempakan tanam pada waktu yang tepat, pemupukan berimbang dan pengaturan pengairan

tanaman. Selain efektif, teknologi pengendalian penyakit berdasarkan komponen epidemik ini juga dapat menekan biaya produksi hingga 60% dan mengurangi tingkat kehilangan hasil padi sampai 30% (Nuryanto, 2018)

### **2.7 Pengendalian Hayati Dengan Agen Antagonis**

Agens hayati merupakan mikroorganisme yang dapat berperan sebagai pengendali Organisme Pengganggu Tanaman (OPT). Pengendalian menggunakan agens hayati disebut sebagai pengendalian hayati. Pengendalian hayati dapat didefinisikan sebagai proses pengurangan atau penurunan hama atau penyakit pada tanaman budidaya sebagai hasil kinerja dari musuh alaminya (Purnomo, 2010). Kriteria pengendalian hayati yang baik antara lain biaya yang dikeluarkan efisien, mikroba antagonis yang digunakan dapat digunakan dalam jangka waktu yang cukup ramah lingkungan atau tidak merusak lingkungan dan mikroba antagonis terbukti secara konsisten mampu menekan pertumbuhan patogen (Ma *et al.*, 2015). Populasi semua organisme hidup seperti patogen tanaman dapat menurun karena aksi atau tekanan alami dari musuh alaminya seperti mikroba antagonis. Contoh mikroba yang dapat digunakan untuk mengendalikan patogen tanaman yaitu bakteri dan jamur (Wignjopranto *et al.*, 2015).

Mikroorganisme seperti *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*, dan merupakan contoh mikroorganisme yang dapat berperan sebagai mikroba antagonis untuk mengendalikan patogen tanaman. *B. subtilis*, dan *P. fluorescens* merupakan mikroba antagonis yang mampu mengendalikan patogen yang terbawa tanah sampai 70% dan mampu meningkatkan produksi tanaman sampai 40% (Hanudin *et al.*, 2012). Selain sebagai pengendali patogen, konsorsium mikroba antagonis seperti *B. subtilis*, dan *P. fluorescens*, dapat digunakan sebagai pengendali patogen dan berperan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang dapat meningkatkan ketersediaan hara.

### **2.8 Mekanisme Antagonis Oleh Agen Antagonis**

Pengendalian dengan agens hayati salah satunya bertujuan untuk memenangkan kompetisi dalam mendapatkan nutrisi. Pengendalian hayati oleh mikroorganisme baik bakteri maupun jamur dapat terjadi melalui 3 mekanisme yaitu: antibiosis, kompetisi, dan parasitisme (Berlian, 2013).

### 2.8.1 Antibiosis

Antibiosis merupakan mekanisme antagonis dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik atau senyawa mirip antibiotik seperti enzim pelisis, senyawa yang mudah menguap, siderofor, dan substansi toksik lainnya. Hasil antibiosis yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan pada bagian antagonis yang ditumbuhkan pada medium secara berlapis dengan bakteri patogen (Berlian, 2013). Terbentuknya zona kosong di antara jamur patogen dengan jamur antagonis, terdapat perubahan bentuk hifa patogen, dan dihasilkan pigmen di permukaan bawah koloni jamur antagonis (Amaria, 2015).

### 2.8.2 Kompetisi

Kompetisi merupakan mekanisme antagonis dengan cara merebut nutrisi dari patogen (Berlian, 2013). Hasil kompetisi dapat dilihat dengan adanya koloni jamur antagonis menutupi koloni patogen dan pertumbuhan jamur antagonis lebih cepat untuk memenuhi cawan petri berdiameter 9 cm. Pada daerah kontak, hifa patogen mengalami lisis (Amaria, 2015).

### 2.8.3 Parasitisme

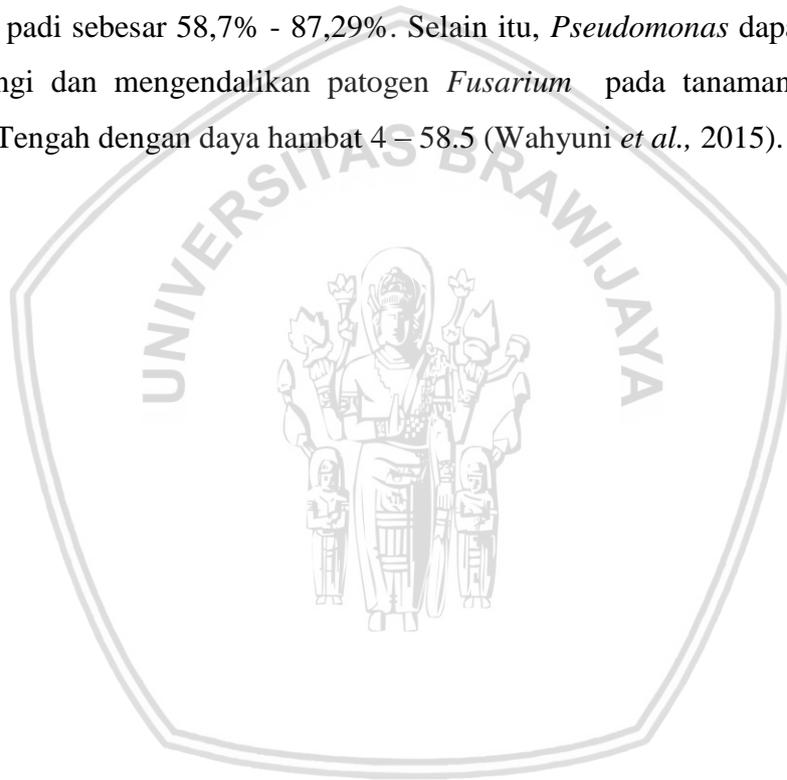
Parasitisme merupakan mekanisme antagonis dengan cara menyerap nutrisi dari organisme lain, namun biasanya menggunakan mekanisme bersama mekanisme lain yaitu kompetisi dan antibiosis (Berlian, 2013). Hasil antagonis dapat terlihat apabila hifa jamur antagonis tumbuh di atas hifa patogen, pada daerah kontak ditemukan hifa jamur antagonis melilit hifa patogen, serta mengalami lisis (Amaria, 2015).

## 2.9 Hasil Penelitian Pengendali Antagonis Dengan Bakteri

Pengendalian menggunakan bakteri antagonis sangat baik digunakan dikarenakan tidak memiliki efek negatif bagi lingkungan dan sangat efektif dalam mengendalikan penyakit pada tanaman budidaya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Suriani dan Muis (2016) *Bacillus subtilis* merupakan salah satu bakteri antagonis yang banyak digunakan dalam pengendalian patogen tular tanah. Efektivitas *B. subtilis* dalam pengendalian patogen tular tanah pada tanaman jagung telah dibuktikan oleh beberapa peneliti. *B. subtilis* mampu menghambat perkembangan *Fusarium Verticillioides* hingga 98,5% pada level rhizoplane dan 99,86% pada endorhizosfer jagung. *B. subtilis* juga mampu menekan

perkembangan *F. solani* hingga 82,1%. Bakteri antagonis genus *Bacillus* sp. dapat sebagai agensi pengendali hayati penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* pada kentang dengan menunda masa inkubasi, menekan indeks penyakit layu bakteri dengan efektivitas 64,9% (Prihatiningsih *et al.*, 2015)

Bakteri antagonis genus *Pseudomonas* sp. dapat menjadi biokontrol terhadap *Rhizoctonia solani* pada tanaman kacang di Iran (Tohid *et al.*, 2017). Menurut Budi dan Mariana (2013) menyatakan bahwa *Pseudomonas fluorescent* dapat sebagai agen hayati untuk mengurangi penyakit *Rhizoctonia solani* pada tanaman padi sebesar 58,7% - 87,29%. Selain itu, *Pseudomonas* dapat berpotensi melindungi dan mengendalikan patogen *Fusarium* pada tanaman gaharu dia Bangka Tengah dengan daya hambat 4 – 58.5 (Wahyuni *et al.*, 2015).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Maret sampai Agustus 2018.

#### 3.2 Alat Dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoclave, tabung reaksi, botol UC, pipit tetes, jarum *Ose*, gelang ukur, tabung elemeyer, spritus, label, timbangan, cawan petri, mikroskop, pingset, kaca objek, pulpen, alumunium foil, plastic wrapping, kompor, panci, spatula, secer, microtube, mikro pipit dan LAFC.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air genangan lahan sawah, kertas saring, aquades steril, media *Nutrient Agar* (NA), media PDA, tissue steril, KOH 3%, alkohol 70%, Katalase, Safranin, Iodin, dan Kristal violet 3%.

#### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

##### 3.3.1 Pengambilan Sampel

###### a. Pengambilan Sampel Bakteri Air Sawah

Pengambilan sampel bakteri air sawah berasal dari air sawah lahan Jatimulyo, Malang, Jawa Timur. Lahan tersebut merupakan lahan penelitian mahasiswa Universitas Brawijaya. Pengambilan sampel dilakukan pada lahan sawah yang mengalami penggenangan. Pengambilan sampel air sawah dilakukan pada 5 titik lahan dengan pengulangan 2 kali. Setiap titik diambil sebanyak 10 ml kemudian di kompositkan (Reche *et al.*, 2013).

###### b. Pengambilan Sampel Patogen *Rhizoctonia solani*

Sampel berasal dari pelepah tanaman padi yang terserang penyakit hawar pelepah yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*. Pengambilan sampel jamur patogen pada padi dari daerah Karangploso, Malang, Jawa Timur.

##### 3.3.2 Isolasi Bakteri Air Sawah

###### a. Isolasi Bakteri Air Sawah

Sampel air sawah diambil sebanyak 1 ml kemudian dicampur aquades steril sebanyak 9 ml. Kemudian dilakukan pengenceran hingga  $10^{-9}$  (Diarta *et al.*,

2016). Tujuan pengenceran adalah agar diperoleh isolat yang tidak begitu padat dan mewakili semua jenis bakteri yang terdapat pada sampel. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 9 ml aquades steril dan 1 ml larutan pengenceran sebelumnya (Wasteson and Hornes, 2009).

#### b. Purifikasi

Setelah dilakukan pengenceran, koloni yang memiliki karakteristik berbeda selanjutnya dipurifikasi dengan cara *streak plate* untuk pemindahan koloni yang berbeda. Pemindahan koloni bakteri dengan menggunakan jarum *Ose* yang kemudian dipindahkan ke media NA yang baru dengan metode “*Streak*” atau gores (Sastrahidayat *et al.*, 2011).

### 3.3.3 Jamur Patogen

#### a. Isolasi Jamur Patogen

Jamur patogen didapat dari tanaman padi yang terserang penyakit *Rhizoctonia solani*. Cara untuk inokulasi patogen mengacu pada metode Shofiana. *et al.*, (2015) yaitu dengan cara memotong bagian tanaman yang terserang sepanjang  $\pm 1$  cm. Potongan bagian tanaman yang sakit atau sampel disterilkan dengan cara dicuci dengan larutan NaCl selama 1 menit dan kemudian direndam dengan alkohol selama 1 menit, dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Kemudian sampel dibilas dengan akuades selama 1 menit dan dilakukan pengulangan kembali sebanyak 2 kali. Setelah itu dikeringkan diatas tisu steril. Setelah Kering, potongan sampel ditanam pada media PDA didalam cawan petri. Kemudian sampel diinkubasi hingga 7 hari pada suhu ruang atau sampai jamur tumbuh memenuhi cawan petri.

#### b. Purifikasi

Purifikasi atau pemurnian dilakukan pada hasil isolasi jamur yang telah diinkubasi selama 5-7 hari untuk mendapatkan biakan murni (Umayatul *et al.*, 2015). Pemurnian dilakukan pada setiap jamur yang dianggap berbeda berdasarkan morfologi makroskopis yang dapat dilihat dari penampakan warna, bentuk, dan pola persebaran (Sastrahidayat *et al.*, 2014 dan Zuhriah *et al.*, 2016).

Masing-masing jamur dipisahkan dan diambil dengan menggunakan jarum *Ose*. Kemudian, ditumbuhkan kembali pada media PDA baru.

c. Identifikasi jamur patogen

Setelah dilakukan purifikasi tahap selanjutnya melakukan identifikasi untuk memastikan bahwa jamur yang telah didapat merupakan jamur *Rhizoctonia solani*. Cara identifikasi yang dilakukan mengacu pada Shofiana., *et al* (2015) yaitu dengan menyiapkan *object glass*, kemudian mengambil sedikit bagian media PDA baru dan diletakan diatas permukaan *object glass*. Ini bertujuan agar nutrisi selama jamur tersebut berada di preparat dapat terjaga pada saat dilakukan inkubasi. Kemudian diambil jamur menggunakan jarum *Ose* dan diletakan diatas *object glass* yang terdapat pada media PDA dan ditutup dengan *cover glass*, lalu preparat ditaruh dalam wadah berisi tisu basah steril dan diinkubasi selama 2 - 7 hari setelah purifikasi (Umayatul *et al.*, 2015). Tujuan dari inkubasi adalah untuk menumbuhkan spora jamur pada preparat sehingga lebih mudah pada saat dilakukan determinasi dengan menggunakan mikroskop.

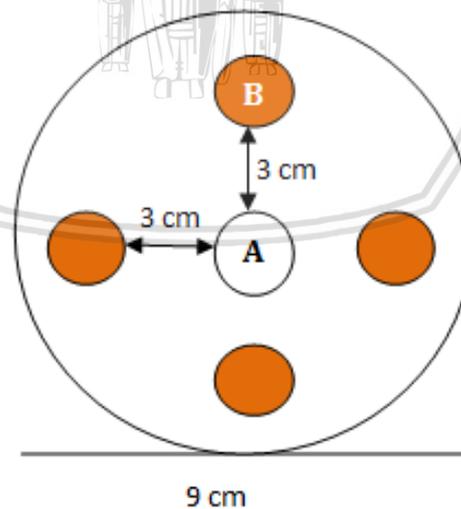
Identifikasi jamur dapat dilakukan dengan cara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dapat dilakukan dengan cara mengamati kenampakan koloni jamur secara makroskopis yang meliputi warna, pola penyebaran miselium pada cawan petri, tekstur dan waktu yang dibutuhkan untuk memenuhi cawan petri . Pengamatan warna dapat dilakukan dengan melihat bagian permukaan dan dasar karena kadangkala terdapat perbedaan antara warna dasar dan warna permukaan. Pengamatan pola persebaran koloni yang dilakukan dengan mengamati bentuk dalam cawan petri. Pola persebaran non konsentris dapat berupa bentuk yang tidak beraturan, menggunung, atau menyamping. Pengamatan teksutur koloni dapat melihat kasar dan halus nya, rapat dan renggang, serta tebal dan tipis nya koloni yang tumbuh pada media (Muhibuddin *et al.*, 2018)

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengamati kenampakan morfologi koloni jamur dengan menggunakan mikroskopis yang meliputi ada atau tidak nya septa pada hifa, pertumbuhan hifa, ukuran hifa, warna hifa, warna, ukuran, bentuk serta pola persebaran hifa yang terbentuk. Pengamatan ada atau tidak nya septa pada hifa dilakukan dengan mengamati ada tidak nya sekat

pada hifa. Sekat yang terlihat dapat rapat maupun jarang. Pengamatan pertumbuhan hifa dapat dilihat dengan mengamati percabangan hifa, bercabang atau tidak bercabang. Hifa menyebar tunggal, berantai atau tidak berantai, serta bentuk kumpulan konidia. Pengamatan mikroskopis terhadap kenampakan konidiofor yaitu hifa khusus yang merupakan tangkai dari konidia serta ciri lain yang ditemukan. Pengamatan ada atau tidaknya septa pada konidiofor dan pertumbuhan konidiofor (bercabang atau tidak bercabang, panjang atau pendek) (Tanzil *et al.*, 2015, Pasaribu *et al.*, 2016 dan Sastrahidayat *et al.*, 2018 )

### 3.3.4 Seleksi Bakteri Air Sawah

Seleksi bakteri air sawah bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memiliki potensi sebagai agen antagonis. Seleksi dilakukan dengan menempatkan bakteri air sawah dan jamur *Rhizoctonia solani* dalam satu cawan petri. Dalam melakukan seleksi, bakteri dibuat menjadi suspensi sebanyak 2 *Ose* kemudian dicampur aquades steril sebanyak 1 ml. Kertas saring direndam pada suspensi kemudian dikering anginkan selama 4 jam. Kertas saring ditanamkan pada media NA dengan menggunakan metode 4 kuadran dan pada tengah ditanamkan jamur *R. solani*. Isolat bakteri yang memiliki kemampuan sebagai agen antagonis ditandai dengan adanya zona bening.



Gambar 7. Seleksi bakteri air sawah pada cawan petri. a: Jamur *Rhizoctonia solani*, b: baktei air sawah

### 3.3.5 Uji Antagonis Bakteri Air Sawah

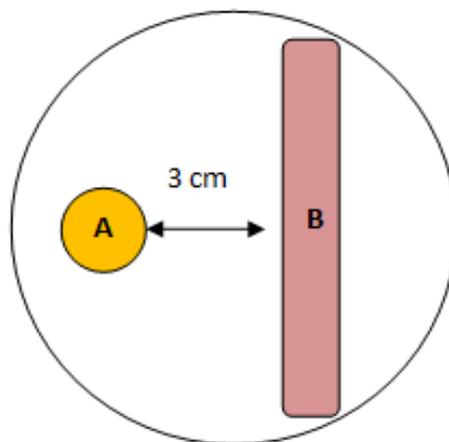
#### a. Uji *In vitro* pada Cawan Petri

Uji *in vitro* dilakukan sebagai uji antagonis untuk mengetahui kemampuan bakteri air sawah sebagai agen antagonis hayati terhadap patogen *Rhizoctonia solani* pada cawan petri. Uji antagonis dilakukan pada lingkungan laboratorium. Pengujian antagonis secara *in vitro* menggunakan biakan murni bakteri air sawah yang berumur 24 jam dan biakan murni jamur *R. solani* yang telah berumur 7 hari. Bakteri yang memiliki kemampuan antagonis diuji dengan metode oposisi langsung dengan modifikasi bakteri ditarik garis lurus, yakni menempatkan bakteri air sawah dan jamur *R. solani* pada satu cawan petri (Nawangsih *et al*, 2014). Bakteri yang sudah didapatkan digoreskan pada media PDA pada cawan petri. Selanjutnya biakan jamur *R. solani* diambil dengan menggunakan *coke borer* dan ditumbuhkan pada cawan petri dengan jarak 3 cm dari goresan bakteri air sawah (Gambar 8).

Rancangan penelitian yang digunakan ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan yang diulang sebanyak 4 kali ulangan, dengan 1 kontrol yaitu menggunakan aquades. Kontrol berfungsi untuk mengetahui aquades apakah aquades mempunyai efek terhadap patogen.

Tabel 1. Perlakuan uji antagonis

Perlakuan	Ulangan.			
	1	2	3	4
P0	P0	P0	P0	P0
P1	P1	P1	P1	P1
P2	P2	P2	P2	P2
P3	P3	P3	P3	P3
P4	P4	P4	P4	P4
P5	P5	P5	P5	P5
P6	P6	P6	P6	P6



Gambar 8. Pengujian in vitro pada cawan petri. a: Jamur, b: Bakteri

### 3.3.6 Uji Hypersensitif

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang didapatkan memiliki sifat sebagai patogen atau tidak. Pengujian dilakukan pada tanaman tembakau yang dilukai pada daunnya menggunakan jarum suntik, yang kemudian disuntikan suspensi bakteri sebanyak 1 ml. Isolat bakteri yang mengakibatkan nekrosis pada daun, dengan tanda daun berwarna kuning diduga bakteri memiliki sifat sebagai patogen.

### 3.3.7 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri antagonis meliputi karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia. Identifikasi didasarkan pada Bergey's manual of determinative bacteriology (1994) dan Schaad *et al.* (2001).

**Pewarnaan Gram.** Pengujian warna gram bertujuan untuk mengetahui bakteri yang diuji apakah gram positif atau gram negatif. Bakteri yang digunakan adalah bakteri yang memiliki umur 24 jam. Pengujian dilakukan pada kaca preparat kemudian diamati dengan mikroskop. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan jarum *Ose* dan diletakkan pada gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan di atas bunsen. Isolat ditetesi dengan larutan Kristal violet 5% sebanyak 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya ditetesi dengan iodine sebanyak 1-2 tetes dan didiamkan selama 1 menit yang selanjutnya dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Tahap terakhir yakni isolat ditetesi dengan larutan safranin 0,15 dan didiamkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Isolat siap

damati dengan mikroskop. Bakteri dengan gram positif akan menunjukkan warna ungu, sedangkan bakteri negatif akan berwarna merah.

**Uji KOH 3%.** Pengujian dengan menggunakan KOH 3% digunakan untuk menentukan sifat gram positif maupun gram negatif dari bakteri berdasarkan pembentukan lendir dari isolat bakteri yang direaksikan dengan KOH 3%. Isolat bakteri yang akan diuji diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri ditarik-tarik menggunakan jarum *Ose* secara cepat dan berkali-kali. Pada bakteri negatif akan tampak lendir pada saat diangkat, sedangkan pada bakteri positif akan tetap encer atau tidak menunjukkan reaksi. Perlakuan KOH 3% terhadap massa bakteri Gram negatif akan menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri dan melepas DNA yang merupakan komponen yang bersifat *viscid* atau seperti lendir (Lay, 1994).

**Uji Katalase.** Uji Katalase digunakan untuk mengetahui aktifitas katalase pada bakteri yang diuji. Uji Katalase dilakukan dengan meletakkan satu sampai dua *Ose* koloni bakteri pada objek glass yang telah steril. Kemudian bakteri ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Koloni positif menghasilkan enzim katalase dengan dihasilkan buih/ gelembung (Kismiyati *et al.*, 2009)

**Uji Oksidatif-Fermentatif.** Uji OF dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan isolat bakteri apakah bersifat aerob atau anaerob fakultatif. Bahan yang dibutuhkan untuk 1 L media uji OF yaitu : pepton 2 g; NaCl 5 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3 g; agar 3,0 g dan bromotymol blue 1% 3,0 ml. Bahan-bahan dilarutkan dan diatur pada ph 7,1 kemudian media dituang kedalam tabung reaksi berdiameter 13 mm sebanyak 4,5 ml per tabung. Media disterilisasi pada 121°C selama 20 menit. Setelah steril, setiap tabung ditambah larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml. Inokulasi bakteri dengan cara menusukkan bakteri dengan jarum *Ose* pada media. Inokulasi dilakukan pada dua tabung, tabung pertama ditambahkan water agar 2 ml sebagai penutup (kondisi anaerob), tabung kedua tanpa diberi water agar (kondisi aerob). Tabung dibiarkan di ruang terbuka kemudian diinkubasi selama 7 - 14 hari. Inkubasi pada suhu ruang dan pengamatan pada perubahan warna yang terjadi. Apabila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung maka bakteri menunjukkan bahwa bersifat anaerob fakultatif.

**Uji Pigmen Fluorecens.** Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang didapatkan termasuk kedalam kelompok bakteri menghasilkan *pigmen fluorecens*. Pengujian ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media King'B dan diinkubasi selama 24 jam. Bakteri kemudian diamati dibawah sinar UV untuk melihat adanya pigmen fluoreccens, ditandai dengan bakteri yang berpendar. Apabila bakteri berpendar maka termasuk pada genus *Pseudomonas* sp.

**Uji Pertumbuhan pada media YDC.** Pengujian ini dilakukan jika bakteri termasuk pada kelompok gram negatif dan pada pengujian OF menghasilkan warna kuning. Pengujian ini dilakukan dengan melakukan *streak* pada media YDC dan diinkubasi selama 48 jam. Jika bakteri yang muncul berwarna kuning maka termasuk kedalam kelompok *Pantoea* sp. jika berwarna putih maka termasuk kedalam kelompok *Erwinia* sp.

### 3.4 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada perlakuan *in vitro* adalah diameter pertumbuhan/ perkembangan miselium dari jamur *Rhizoctonia solani*. Pertumbuhan miselium jamur *R. solani* diamati dari hari pertama perlakuan hingga miselium jamur *R. solani* menyentuh tepi cawan petri.

Persentase daya hambat bakteri air sawah terhadap jamur *Rhizoctonia solani* dengan membandingkan pertumbuhan jamur *R. solani* yang diberikan perlakuan bakteri air sawah dan tanpa pemberian perlakuan air sawah, serta dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus Abidin (2015):

$$I = \frac{C-T}{C} \times 100 \%$$

Keterangan:

I : Persentase penghambatan

C : Jari-jari miselium jamur patogen pada perlakuan kontrol.

T : Jari-jari miselium jamur patogen pada perlakuan non control.

### 3.5 Analisis Data

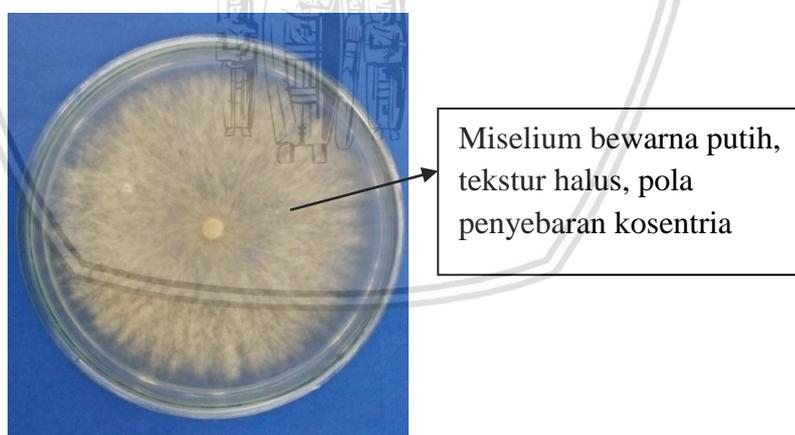
Pengaruh dari seluruh percobaan diketahui dengan menggunakan uji F pada taraf 5%. Apabila parameter yang diamati terdapat pengaruh nyata atau tidak nyata maka setiap perlakuan diuji lanjut dengan menggunakan uji DMRT (*Duncan Multi Range Test*) pada taraf 5%. Analisis data diolah dengan menggunakan aplikasi SPSS dan Microsoft exel 2007.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Isolasi Jamur *Rhizoctonia Solani*

Isolasi jamur *Rhizoctonia solani* didapatkan dari tanaman padi yang memiliki gejala terserang hawar pelepah padi. Isolat jamur yang telah didapatkan kemudian diidentifikasi berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Isolat diisolasi pada media PDA.

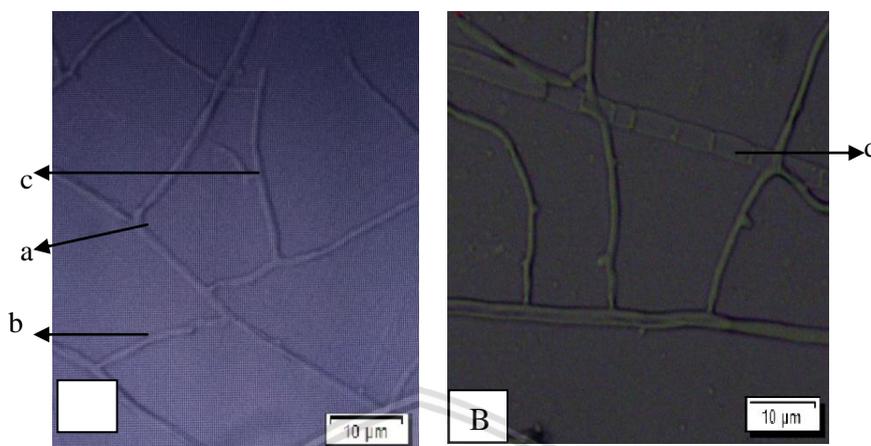
Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa isolat jamur yang diperoleh menunjukkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis yang jamur *Rhizoctonia solani*. Kenampakan makroskopis jamur *R. solani* meliputi miselium berwarna putih dengan tekstur yang halus serta pola penyebaran yang kosentris. Pada isolat tidak ditemukan sklerotia, dikarenakan nutrisi pada media yang digunakan dapat memenuhi pertumbuhan jamur dan kondisi lingkungan yang menguntungkan bagi pertumbuhan jamur. Hasil pengamatan ini sesuai dengan pernyataan Moni *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa miselium pada jamur *R. solani* berwarna putih atau berwarna coklat muda. Perubahan warna miselium jamur *R. solani* asal tanaman padi dimulai dari tengah koloni dan terus bertambah gelap hingga bagian pinggir koloni (Nurhasanah, 2012).



Gambar 9. Makroskopis miselium jamur *Rhizoctonia solani* pada media PDA pada umur 9 hari

Pengamatan mikroskopis pada jamur *Rhizoctonia solani* menunjukkan bahwa isolat jamur *R. solani* memiliki hifa hialin, hifa yang bersekat, sudut percabangan hifa yang tegak lurus (Gambar 10a) dan tidak memiliki spora. Menurut Nurhasanah (2012) *R. solani* memiliki hifa dengan percabangan yang tegak lurus,

berwarna hialin dan memiliki sekat. Sudut percabangan hifa yang dimiliki *R.solani* hampir tegak lurus dan membentuk sudut  $90^\circ$  (Syahputri, 2018).



Gambar 10. Mikroskopis jamur *Rhizoctonia solani*. a) hifa membentuk sudut  $90^\circ$ , b) hifa bewarna hialin, c) hifat membentuk percabangan, d) hifa memiliki sekat

#### 4.2 Hasil Eksplorasi

Hasil eksplorasi yang dilakukan pada air sawah diawali dengan melakukan pengenceran. Dari pengenceran yang dilakukan diperoleh sebanyak 33 isolat bakteri yang berbeda. Isolat bakteri yang didapatkan memiliki bentuk koloni yang berbeda yaitu meliputi sudut elevasi, ukuran koloni, warna, tekstur, dan tepian koloni. Perbedaan bentuk koloni dapat menentukan jenis bakteri yang berbeda juga. Menurut Sabdaningsih *et al.* (2013) koloni bakteri dapat berbentuk bergerigi, rata dan berombak, sedangkan untuk warna koloni dapat bewarna putih, krem dan orange. Dari 33 isolat bakteri yang telah diperoleh kemudian dimurnikan di media NA untuk mendapatkan kultur murni dari masing- masing bakteri hasil isolasi.



Gambar 11. Bakteri hasil pengenceran

### 4.3 Seleksi Bakteri Antagonis

Dari 33 bakteri air sawah yang didapatkan belum diketahui bakteri tersebut memiliki kemampuan antagonis, maka dilakukan uji seleksi antagonis dengan *Rhizoctonia solani*. Dari seleksi diketahui kemampuan antagonis dari masing-masing bakteri. Hasil seleksi bakteri yang mampu menjadi antagonis dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Persentasi hasil seleksi bakteri air sawah dengan jamur *R. solani*

Kode Seleksi	Daya Hambat (%)	Kode Isolat	Daya Hambat (%)
S1	0	S18	78
S2	0	S19	75
S3	0	S20	0
S4	0	S21	0
S5	0	S22	0
S6	0	S23	0
S7	0	S24	0
S8	0	S25	0
S9	0	S26	0
S10	0	S27	0
S11	0	S28	0
S12	0	S29	0
S13	0	S30	44
S14	77	S31	40
S15	22	S32	0
S16	68,8	S33	0
S17	66,6		

Setelah dilakukan seleksi dari semua isolat bakteri, kemudian diamati bakteri mana yang memiliki kemampuan menjadi antagonis. Daya antagonis dapat dilihat dari munculnya zona bening dan pertumbuhan miselium jamur yang terhambat atau memendek. Munculnya zona bening ini mengindikasikan adanya mekanisme antibiosis dari bakteri yang memiliki kemampuan antagonis.

Berdasarkan hasil seleksi yang isolat memiliki daya hambat terhadap *Rhizoctonia solani* adalah isolat S14, S16, S17, S18, S19, S15, S30 dan S31. Dari 8 bakteri antagonis yang ditemukan dipilih 6 bakteri untuk tahap selanjutnya, yaitu: S14, S16, S17, S18, S19, dan S30. Isolat S15 dan S30 tidak digunakan dikarenakan merupakan bakteri dengan genus yang sama dengan bakteri S14, S16, S18, dan S19 dan memiliki tingkat persentase yang lebih rendah bila dibandingkan dengan isolat S14, S16, S18, S19. Setelah didapatkan isolat yang

memiliki kemampuan daya hambat dilakukan pengujian secara morfologi, fisiologi dan biokimia untuk mengetahui genus dan karakteristik bakteri.



Gambar 12. Uji seleksi bakteri yang terpilih

#### 4.4 Karakteristik dan Identifikasi Bakteri

Berdasarkan uji seleksi diperoleh 6 bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan patogen *Rhizoctonia solani* pada cawan petri. Untuk mengetahui karakteristik masing-masing isolat dilakukan pengamatan morfologi, fisiologi dan biokimia berdasarkan buku Bergey's manual of determinative bacteriology (1994) dan Schaad *et al.* (2001) untuk mengidentifikasi genus bakteri yang ditemukan.

##### 4.4.1 Karakteristik Morfologi

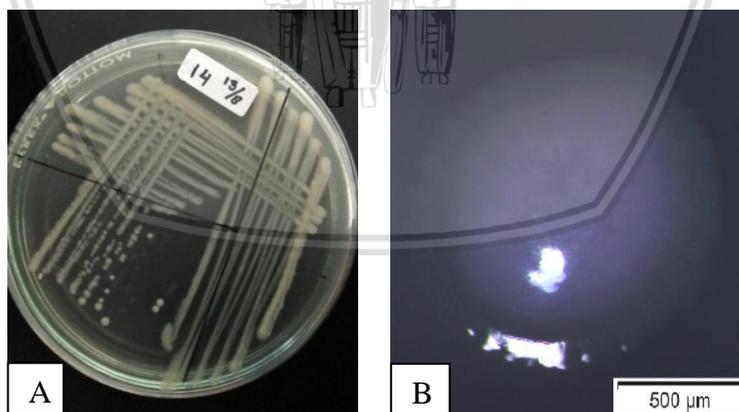
Karakteristik morfologi yang diamati pada bakteri air sawah adalah bentuk koloni bakteri tunggal dan bentuk sel bakteri air sawah yang diamati dari mikroskop. Pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi: bentuk koloni, warna, permukaan, ukuran, elevasi serta tepi koloni. Menurut Momou, *et al.* (2016) morfologi bentuk koloni menjadi dasar untuk mengidentifikasi, mengklasifikasi dan karakterisasi bakteri. Berdasarkan pengamatan morfologi yang dilakukan pada isolat S16, S17, S18, S19, dan S31 memiliki bentuk morfologi bakteri yang berbeda. Variasi koloni bakteri yang berbeda menampilkan sifat yang berbeda diantara setiap spesies (Moonst *et al.*, 2009).

Berdasarkan tabel isolat S14, S16, S17, S18, S19 dan S31 memiliki karakter koloni yang hampir identik, kecuali pada ukuran koloni dari S31. Isolat S31 memiliki karakter koloni yang berbeda dari isolat S14, S16, S17, S18, dan S19. Perbedaan koloni diduga dipengaruhi oleh jenis Gram dan jenis spesis dari bakteri tersebut (lay, 1994). Karakter koloni bakteri dapat digunakan untuk tahapan karakterisasi bakteri. Hasil morfologi bakteri air sawah dapat dilihat pada table berikut ini:

Tabel 3. Karakteristik morfologi bakteri air sawah

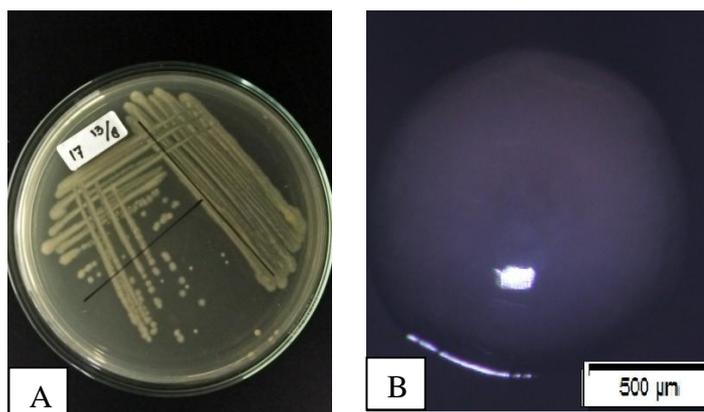
Isolat	Bentuk koloni	Warna	Permukaan	Elevasi	Tepi koloni	Ukuran	Bentuk sel
S14	Bulat	putih	Mengkilap	Cembung	Rata	Kecil	Batang
S16	Bulat	putih	Mengkilap	Cembung	Rata	Kecil	Batang
S17	Bulat	putih	Mengkilap	Cembung	Rata	Sedang	Batang
S18	Bulat	putih	Mengkilap	Cembung	Rata	Sedang	Batang
S19	Bulat	putih	Mengkilap	Cembung	Rata	Sedang	Batang
S31	Tidak teratur	putih	Pudar	Datar	Tidak rata	Sedang	Batang

**Isolat 14.** Dari hasil morfologi makroskopis koloni diketahui bahwa isolat S14 memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih (Gambar 13a). Bentuk koloni secara mikroskopis memiliki permukaan yang mengkilap, elevasi cembung, tepi koloni rata dengan ukuran koloni bakteri kecil (Gambar 13b).



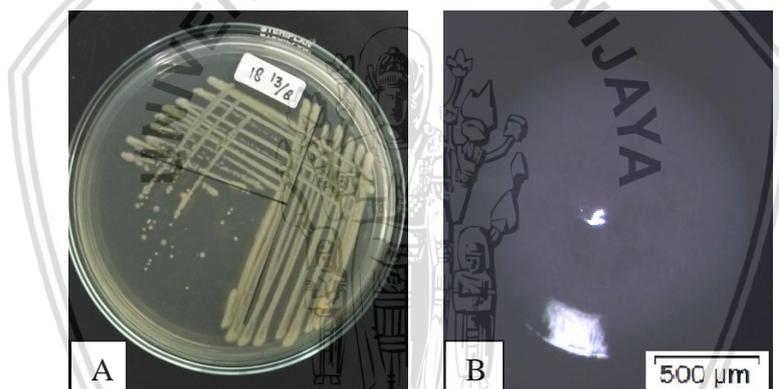
Gambar 13. Morfologi isolat S14. a) makroskopis koloni, b) mikroskopis koloni

**Isolat S17.** Dari hasil morfologi makroskopis koloni diketahui bahwa isolat S17 memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih (Gambar 14a). Bentuk koloni secara mikroskopis memiliki permukaan yang mengkilap, elevasi cembung, tepi koloni rata dengan ukuran koloni bakteri sedang (Gambar 14b).



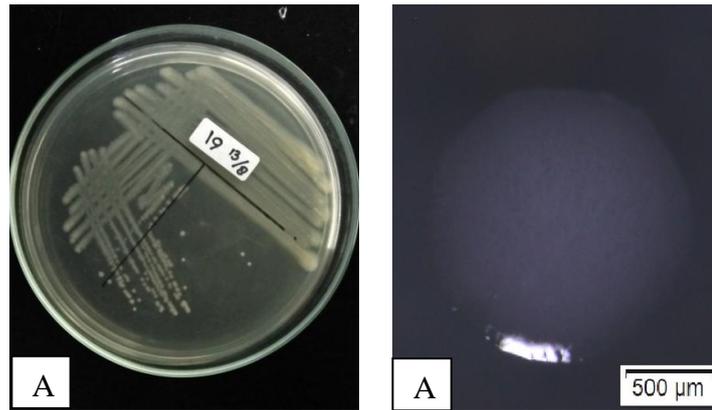
Gambar 14. Morfologi isolat S17. a) makroskopis koloni, b) mikroskopis koloni

**Isolat S18.** Dari hasil morfologi makroskopis koloni diketahui bahwa isolat S18 memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih (Gambar 15a). Bentuk koloni secara mikroskopis memiliki permukaan yang mengkilap, elevasi cembung, tepi koloni rata dengan ukuran koloni bakteri sedang (Gambar 15b).



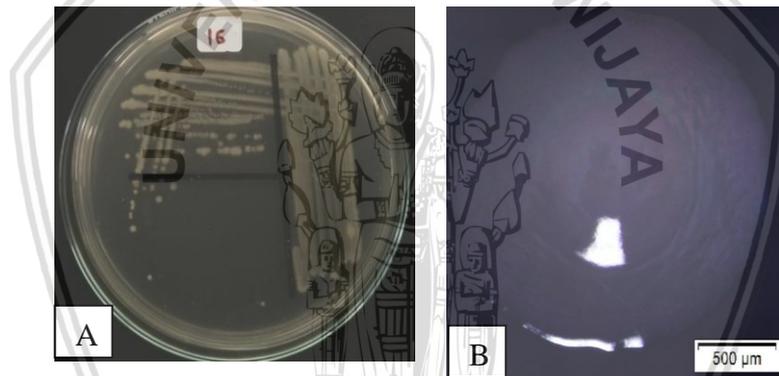
Gambar 15. Morfologi isolat S18. a) makroskopis koloni, b) mikroskopis koloni

**Isolat S19.** Dari hasil morfologi makroskopis koloni diketahui bahwa isolat S19 memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih (Gambar 16a). Bentuk koloni secara mikroskopis memiliki permukaan yang mengkilap, elevasi datar, tepi koloni tidak rata dengan ukuran koloni bakteri sedang (Gambar 16b).



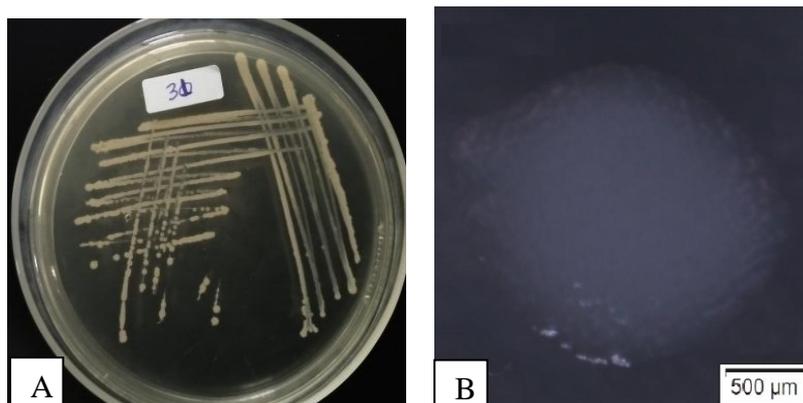
Gambar 16. Morfologi isolat S19. a) makroskopis koloni, b) mikroskopis koloni

**Isolat S16.** Dari hasil morfologi makroskopis koloni diketahui bahwa isolat S19 memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih (Gambar 17a). Bentuk koloni secara mikroskopis memiliki permukaan yang mengkilap, elevasi cembung, tepi koloni rata dengan ukuran koloni bakteri sedang (Gambar 17b).



Gambar 17. Morfologi isolat S16. a) makroskopis koloni, b) mikroskopis koloni

**Isolat S31.** Dari hasil morfologi makroskopis koloni diketahui bahwa isolat S31 memiliki bentuk tidak rata dan berwarna putih (Gambar 18a). Bentuk koloni secara mikroskopis memiliki permukaan yang mengkilap, elevasi cembung, tepi koloni rata dengan ukuran koloni bakteri sedang (Gambar 18b).



Gambar 18. Morfologi isolat S31. a) makroskopis koloni, b) mikroskopis koloni

#### 4.4.2 Karakteristik Fisiologi Dan Biokimia

Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri air sawah yang didapatkan berdasarkan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1194) dan Scaad (2001) disajikan dalam tabel berikut

Tabel 4. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

Karakteristik	Isolat					
	S14	S16	S17	S18	S19	S31
Uji Hipersensitif	-	-	-	-	-	-
Uji Katalase	+	+	+	+	+	+
Uji Gram	-	-	-	-	-	+
Uji KOH 3 %	+	+	+	+	+	-
Uji Oksidatif Fermentatif	O	O	F	O	O	F
Uji Pewarnaan Spora	X	X	X	X	X	+
Uji Fluorescens	+	+	X	+	+	X
Uji koloni pada YDC	X	X	+	X	X	X

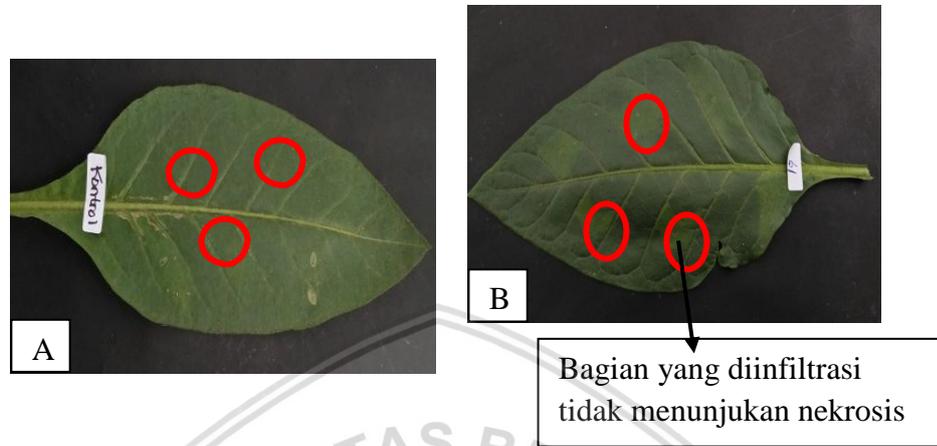
Keterangan: Karakteristik Fisiologi dan Biokimia. (-): reaksi negatif, (+): reaksi positif, (X): Tidak dilakukan pengujian, (F): Fermentatif, (O): Oksidatif

##### 1. Uji Hypersensitif

Pengujian hypersensitif dilakukan pada tanaman tembakau dengan tujuan untuk mengetahui apakah bakteri air sawah yang terpilih bersifat patogen atau tidak. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam bakteri injeksi terhadap daun tembakau. Hasil pengujian 6 bakteri terhadap tanaman tembakau tidak ada yang menyebabkan nekrotik

Pada daun tembakau kontrol dan daun yang diberi isolat bakteri masih tetap berwarna hijau sampai pada hari ke tiga (Gambar 19). Gejala nekrotik pada uji hypersensitif merupakan indikator untuk mengetahui apakah suatu bakteri

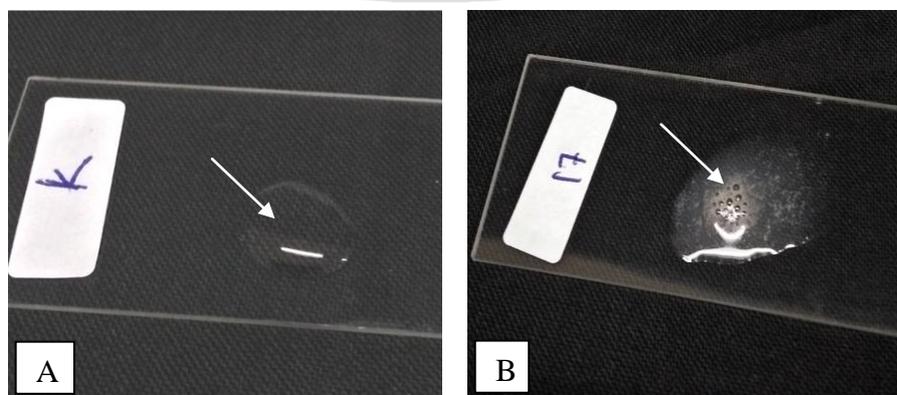
bersifat patogen atau tidak . Menurut Zuraidah (2013) daun tanaman tembakau yang tidak mengalami perubahan warna atau gejala nekrotik setelah dilakukan inokulasi bakteri, maka menandakan bakteri tersebut tidak memiliki sifat patogen.



Gambar 19. Uji hypersensitive pada daun tembakau yang diinokulasi a) kontrol, b) daun tembakau yang diberi inokulasi bakteri.

2. Uji Katalase

Dari uji katalase yang dilakukan pada isolat S16, S17, S18, S19, dan S31 menunjukkan adanya gelembung pada setiap isolat ketika ditetesin  $H_2O_2$  konsentrasi 3% sehingga dapat diketahui bahwa kelima isolat bakteri dapat menghasilkan enzim katalase (Gambar 20). Menurut Toelle *et al.* (2014) gelembung yang dihasilkan oleh setiap isolat menandakan bahwa bakteri mampu memecah  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen. Komponen  $H_2O_2$  dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena bersifat toksik, sehingga harus dipecah agar tidak bersifat toksik (Hasanah, 2011 dalam Paweninggalih, 2017).

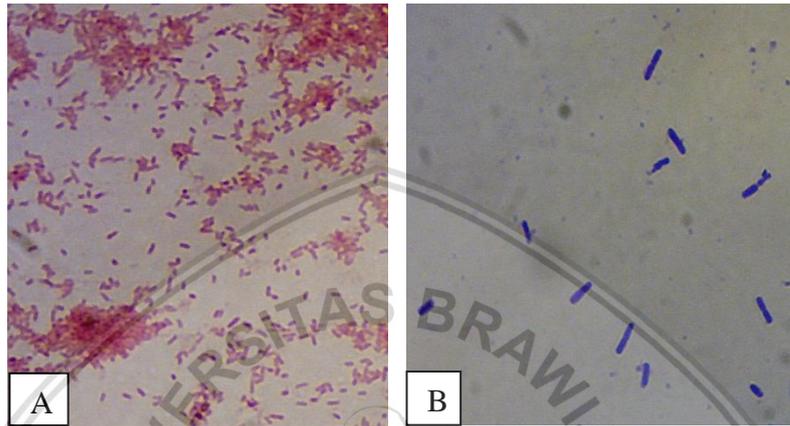


Gambar 20. Uji Katalase pada bakteri. a) kontrol, b) Bakteri menghasilkan gelembung



### 3. Uji Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui morfologi bakteri dan untuk membedakan bakteri termasuk pada bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis serta tidak memiliki membran luar. Sedangkan bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel tipis yang berada diantara dua lapis membran sel.



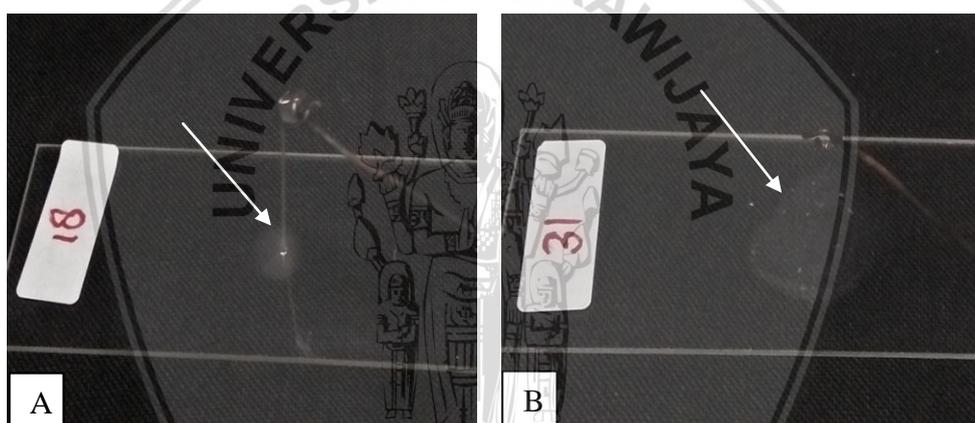
Gambar 21. Uji pewarnaan gram pada bakteri. a ) Gram positif, b) Gram negatif

Gram positif menunjukkan warna ungu sedangkan gram negatif warna merah. Hasil pengujian gram menunjukkan terdapat 1 bakteri berwarna ungu yaitu pada isolat S31 (Gambar 21), sedangkan warna merah ditunjukkan pada isolate S17, S16, S18, dan S19 yang merupakan gram negatif (lampiran 7). Menurut Rostinawati (2008) bakteri gram positif berwarna ungu dikarenakan dinding sel dapat menahan kompleks pewarna primer, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah dikarenakan pewarna primer hilang yang diakibatkan pembilasan dengan menggunakan alkohol pada proses pewarnaan. Sedangkan menurut Fitri & Yasmin (2011) perbedaan warna bakteri pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding dari kedua jenis bakteri. Bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi, sedangkan gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal.

### 4. Uji KOH 3%

Uji KOH 3% yang dilakukan pada kelima isolat didapatkan 4 isolat menghasilkan benang lendir ketika ditarik dengan jarum *Ose* yaitu: S16, S17, S18, dan S19 (Lampiran3) sedangkan isolat S31 tidak menghasilkan lendir (Gambar

22). Bakteri yang diuji apabila menghasilkan lendir merupakan bakteri gram negatif (Gambar 22a) sedangkan bakteri yang tidak menghasilkan lendir termasuk kedalam gram positif (22b). Menurut Purwohadisantoso (2009) Tidak terbentuknya lendir ketika pengujian KOH 3% pada bakteri gram positif dikarenakan dinding sel bakteri gram positif lebih resisten terhadap KOH 3% sehingga dinding sel tidak pecah. Kuatnya dinding sel ini yang membuat DNA tetap berada di dalam sel. Dinding sel bakteri gram negatif lebih sensitif dan tidak memiliki ketahanan terhadap penghambat basa seperti larutan KOH 3%. Sehingga apabila sel bakteri gram negatif direaksikan dengan larutan KOH 3% akan menyebabkan dinding sel bakteri pecah dan terjadi lisis dan DNA dibebaskan. DNA bersifat sangat kental di dalam air, maka terbentuklah benang lendir (Shivas dan Beasley, 2005 dalam Purwohadisantoso 2009).



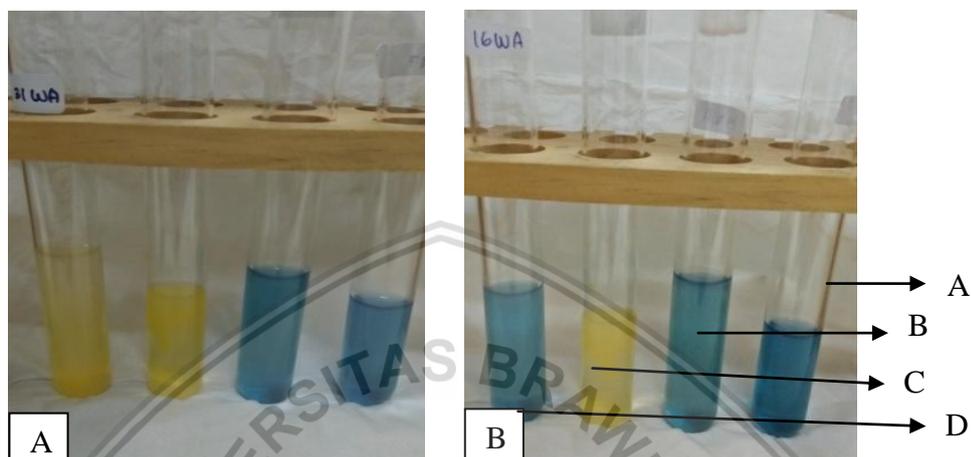
Gambar 22. Hasil uji KOH 3% pada bakteri. a ) Terbentuk lendir pada bakteri, b) Tidak terbentuk lendir pada bakteri.

#### 5 Uji Oksidatif dan Fermentatif

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang didapatkan bersifat oksidatif atau fermentatif. Hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan bakteri S31 dan S17 bersifat anaerob fakultatif karena terjadi perubahan pada tabung dari warna biru menjadi kuning pada tabung yang berisi agar maupun yang tidak diberi agar.

Perubahan warna dari biru menjadi kuning menandakan bahwa bakteri mampu memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi (Anggreini *et al.*, 2016) Sedangkan, pada isolat S16, S18, dan S19 bersifat aerob, karena tidak terjadi perubahan warna pada tabung yang diberi agar.

Menurut Priharta (2008) pengujian oksidatif fermentatif bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri mampu menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Bakteri fakultatif anaerob dapat dilihat dari terbentuknya warna kuning pada kedua tabung, baik pada tabung yang tertutup water agar maupun yang tidak tertutup water agar



Gambar 23. Uji Oksidatif Fermentatif bakteri. a) Aerob fakultatif, b) Aerob

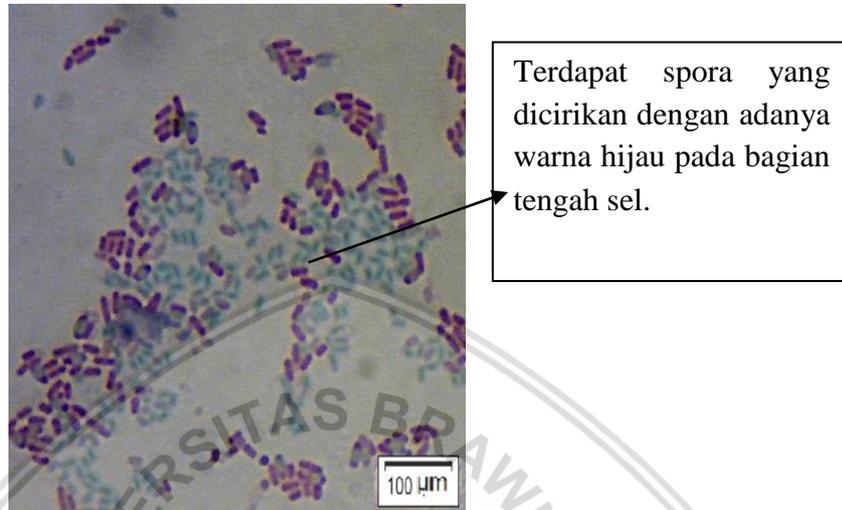
Keterangan: A: Larutan OF diberi bakteri dan water agar.  
 B: Larutan OF diberi bakteri tanpa water agar.  
 C: Kontrol diberi agar.  
 D: Kontrol tanpa agar.

#### 6. Pewarnaan Spora

Pewarnaan spora dilakukan pada bakteri gram positif yaitu pada isolat S31. Pewarnaan spora dilakukan dengan menggunakan zat *Malacyte green* untuk menentukan ada tidaknya spora dalam bakteri tersebut. Menurut Agustina *et al.* (2013) Spora bakteri adalah bentuk bakteri dalam mempertahankan diri dari pengaruh lingkungan luar yang ekstrim seperti keadaan kering, panas atau adanya bahan kimia yang beracun.

Dari hasil identifikasi spora dapat dilihat bahwa pada bagian tengah tubuh sel terdapat warna hijau (Gambar 24). Spora yang telah berhasil diwarnai akan sulit melepaskan zat warna yang telah diserap (*Malacyte green*) sehingga tidak dapat mengikat zat warna yang diberikan berikutnya. Hal ini disebabkan karena spora memiliki selubung yang keras dan tebal sehingga setelah ditetesi larutan safranin maka spora akan tetap berwarna hijau sedangkan sel vegetatif berwarna merah (Sunatmo, 2007 dalam Agustina *et al.*, 2013). Dari pengujian yang telah

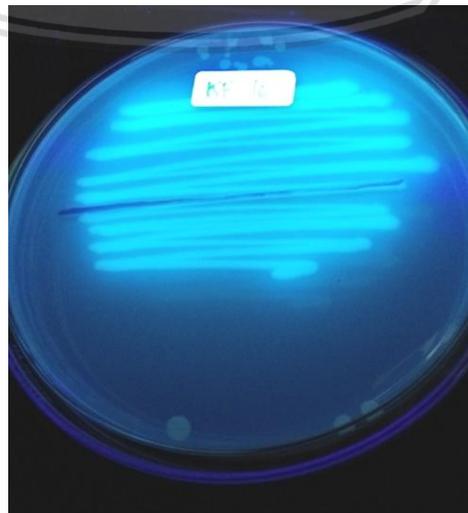
dilakukan dapat diketahui bahwa isolat S31 termasuk kedalam kelompok bakteri genus *Bacillus* sp. dengan karakteristik morfologi dan fisiologis termasuk pada gram positif, berbentuk batang, bersifat dengan anaerob fakultatif, katalase positif, dan pada umumnya memiliki endospora.



Gambar 24. Pewarnaan spora pada bakteri *Bacillus* sp.

#### 7. Uji Fluorescens

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri dapat menghasilkan fluorescens atau tidak. Bakteri yang didapatkan ditumbuhkan pada media King's B dan diinkubasi selama 24 jam. Pengujian Fluorescens dilakukan pada isolat S16, S18, dan S19. Koloni bakteri kemudian diamati pada sinar UV untuk melihat apakah bakteri berpendar atau tidak sebagai penunjuk bakteri tersebut menghasilkan pigmen fluorescens.

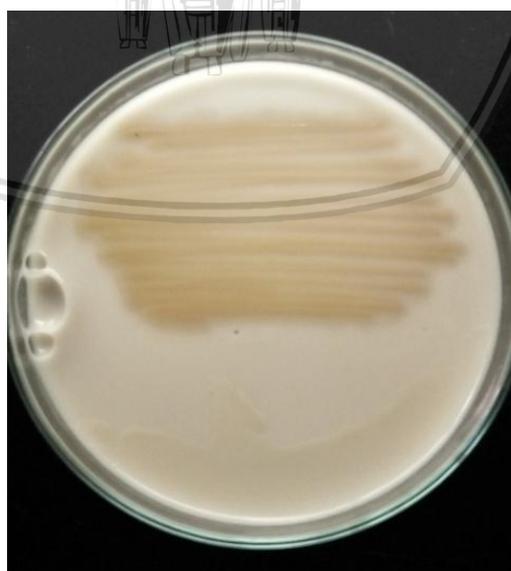


Gambar 25. Uji fluorescens pada bakteri *Pseudomonas* sp. Bakteri berpendar

Dari uji fluorescens dapat diketahui bahwa keempat isolat berpendar dibawah sinar UV (Lampiran 5) . Menurut Nurlina (2012) Pijaran yang dihasilkan oleh bakteri berasal dari pigmen pyoverdin atau fenazin yang dihasilkan bakteri di dalam medium King's B, sehingga terlihat berpendar bila terkena sinar UV. Dari pengujian fluorescencens dan pengujian lainnya dapat diketahui bahwa Isolat S14, S16, S18 dan S19 merupakan bakteri genus *Pseudomonas* sp. Menurut Yoyon dan Suhyono (2011) Bakteri *Pseudomonas* memiliki karakteristik termasuk pada gram negatif, berbentuk batang, aerob obligat, dan dapat menghasilkan katalase. *Pseudomonas* sp. memiliki kemampuan menghasilkan pigmen *pyoverdin* yang mampu berpendar bila diletakan dibawah lampu ultra violet (Javadira *et al.*, 2013)

#### 8. Pengujian YDC

Pengujian ini untuk menegetahui bakteri apakah termasuk pada genus *Erwinia* atau *Pantoea*. Pengujian YDC dilakukan pada bakteri gram negatif dan bersifat anaerob fakultatif. Pengujian YDC dilakukan pada isolat S17. Hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan warna koloni bakteri adalah kuning pada media YDC (Gambar 26). Koloni bakteri yang bewarna kuning pada media YDC menunjukkan bahwa bakteri yang ditemukan termasuk pada genus *Pantoea* (Scaad, 2001).



Gambar 26. Uji pada media YDC koloni bewarna kuning

Dari pengujian fisiologi dan biokimia pada yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa bakteri S17 termasuk kedalam genus *Pantoea* sp. Menurut

Suryani (2012) bakteri *Pantoea* sp. memiliki morfologi bentuk koloni bulat dengan bentuk cembung dan tepi rata. Bakteri *Pantoea* sp. memiliki koloni bewarna kuning bila ditumbuhkan pada media YDC (Scaad *et al.*, 2001).

#### 4.4.3 Hasil Identifikasi

Bakteri terseleksi setelah dilakukan uji karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia, kemudian diidentifikasi sesuai dengan karakteristik masing-masing bakteri. Berdasarkan karakteristik yang telah diketahui, bakteri dikelompokkan pada genus bakteri sesuai dengan hasil identifikasi dan karakteristik. Hasil identifikasi dapat dilihat dari tabel berikut ini.

Tabel 5. Hasil Identifikasi

Karakteristik	Isolat					
	S14	S16	S17	S18	S19	S31
Uji Hypersensitif	-	-	-	-	-	-
Uji KOH	+	+	+	+	+	+
Pewarnaan Gram	-	-	-	-	-	+
Oksidatif	O	O	F	O	O	F
Fermentatif						
Pigmen Fluorescen	+	+	TU	+	+	TU
Uji YDC	TU	TU	+	TU	TU	TU
Uji Katalase	+	+	+	+	+	-
Bentuk Koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Tidak rata
Sudut Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Tidak rata
Warna Koloni	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
Tepi Koloni	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Tidak rata
Genus	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Pantoea</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Bacillus</i> sp

Keterangan: (-): reaksi negatif, (+): reaksi positif, (TU): Tidak uji, O: Oksidatif, F: Fermentatif

**Isolat S14.** Bakteri dengan kode S14 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat, berwarna putih dengan permukaan mengkilap, sudut elevasi cembung dan tepi koloni rata. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat S14 merupakan gram negatif ditandai dengan uji KOH 3% yang menghasilkan lendir, pada pengujian gram menunjukkan bahwa bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Isolat S14 pada pengujian Oksidatif dan Fermentatif tidak mengalami perubahan warna. Pada pengujian Fluorescens isolat S14 berpendar pada media King'B. Menurut buku Bergey's manual of determinative bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp.

**Isolat S16.** Bakteri dengan kode S16 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat, berwarna putih dengan permukaan mengkilap, sudut elevasi cembung dan tepi koloni rata. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat S16 merupakan gram negatif ditandai dengan uji KOH 3% yang menghasilkan lendir, pada pengujian gram menunjukkan bahwa bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Isolat S16 pada pengujian Oksidatif dan Fermentatif tidak mengalami perubahan warna. Pada pengujian Fluorescens isolat S16 berpendar pada media Kings'B. Menurut buku Bergey's manual of determinative bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp.

**Isolat S17.** Bakteri dengan kode isolat S17 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat dengan tepi rata berwarna putih dengan sudut elevasi cembung. Hasil uji fisiologi dan biokimia Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat S17 merupakan gram negatif ditandai dengan uji KOH 3% yang menghasilkan lendir, pada pengujian gram menunjukkan bahwa bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Isolat S17 pada pengujian Oksidatif dan Fermentatif mengalami perubahan warna dari biru menjadi kuning. Pada pertumbuhan media YDC isolat bakteri S17 menghasilkan warna koloni kuning. Menurut buku Bergey's manual of determinative bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Pantoea* sp.

**Isolat S18.** Bakteri dengan kode S18 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat, berwarna putih dengan permukaan mengkilap, sudut elevasi cembung dan tepi koloni rata. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat S18 merupakan gram negatif ditandai dengan uji KOH 3% yang menghasilkan lendir, pada pengujian gram menunjukkan bahwa bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Isolat S18 pada pengujian Oksidatif dan Fermentatif tidak mengalami perubahan warna. Pada pengujian Fluorescens isolat S18 berpendar pada media Kings'B. Menurut buku Bergey's manual of determinative bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp.

**Isolat S19.** Bakteri dengan kode S19 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat, berwarna putih dengan permukaan mengkilap, sudut elevasi cembung dan tepi koloni rata. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat S19 merupakan gram negatif ditandai dengan uji KOH 3% yang menghasilkan lendir, pada pengujian gram menunjukkan bahwa bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Isolat S19 pada pengujian Oksidatif dan Fermentatif tidak mengalami perubahan warna. Pada pengujian Fluorescens isolat S16 berpendar pada media Kings'B. Menurut buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp.

**Isolat S31.** Bakteri dengan kode S31 secara morfologi memiliki bentuk koloni tidak teratur, berwarna putih dengan permukaan pudar, sudut elevasi datar dan tepi koloni tidak rata. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat S31 merupakan gram positif ditandai dengan uji KOH 3% tidak menghasilkan lendir, pada pengujian gram menunjukkan bahwa bakteri berwarna ungu dan berbentuk batang. Isolat S31 pada pengujian Oksidatif dan Fermentatif mengalami perubahan warna dari biru menjadi kuning. Sedangkan pada pewarnaan spora bakteri ini menghasilkan spora. Menurut buku Bergey's manual of determinative bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk kedalam genus *Baccillus* sp.

#### **4.5 Presentase Daya Hambat Bakteri Dengan Jamur *Rhizoctonia Solani* Secara *In Vitro***

Pengamatan uji antagonis bakteri air sawah terhadap jamur *Rhizoctonia solani* dilakukan selama 9 hari pada media PDA. Sejak hari pertama inokulasi bakteri dan patogen dengan waktu pengamatan dilakukann setiap 24 jam. Hasil uji antagonis yang dilakukan secara *in vitro* oleh isolat yang telah ditemukan pada patogen *R. solani* menunjukkan daya hambat yang berbeda dari setiap bakteri air sawah. Kemampuan bakteri dalam maenghambat pertumbuhan jamur *R. solani* dapat dilihat dari pertumbuhan miselium jamur yang lebih pendek yang disebabkan oleh adanya kontak langsung dari bakteri dengan jamur *R. solani* sehingga membentuk zona hambat berupa zona bening diantara jamur dengan bakteri air sawah

Berdasarkan analisis ragam yang telah dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan bakteri berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* yang dilakukan secara *in vitro* (Tabel 5). Persentase daya hambat bakteri terhadap jamur *R. solani* dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 6. Persentase Daya hambat Bakteri Air Sawah

Kode Isolat	Persentase Daya Hambat (%) pada Jam Setelah Inokulasi (JSI)								
	24	48	72	96	120	144	168	192	216
S14	7,96 <sup>c</sup>	7,14 <sup>c</sup>	7,74 <sup>c</sup>	7,70 <sup>c</sup>	8,15 <sup>c</sup>	8,42 <sup>c</sup>	8,65 <sup>c</sup>	8,77 <sup>c</sup>	8,91 <sup>c</sup>
S16	7,25 <sup>c</sup>	6,01 <sup>bc</sup>	6,85 <sup>bc</sup>	7,74 <sup>c</sup>	7,67 <sup>bc</sup>	7,92 <sup>c</sup>	8,22 <sup>c</sup>	8,42 <sup>c</sup>	8,59 <sup>c</sup>
S17	5,76 <sup>ab</sup>	5,12 <sup>ab</sup>	6,43 <sup>b</sup>	7,20 <sup>bc</sup>	7,60 <sup>bc</sup>	7,92 <sup>c</sup>	8,23 <sup>c</sup>	8,43 <sup>c</sup>	8,59 <sup>c</sup>
S18	6,90 <sup>bc</sup>	5,82 <sup>abc</sup>	6,31 <sup>b</sup>	6,65 <sup>ab</sup>	7,10 <sup>b</sup>	7,21 <sup>b</sup>	7,64 <sup>b</sup>	7,91 <sup>b</sup>	8,14 <sup>b</sup>
S19	7,61 <sup>c</sup>	6,64 <sup>c</sup>	7,14 <sup>bc</sup>	7,49 <sup>c</sup>	7,84 <sup>c</sup>	8,07 <sup>c</sup>	8,34 <sup>c</sup>	8,52 <sup>c</sup>	8,68 <sup>c</sup>
S31	5,63 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>	5,28 <sup>a</sup>	5,97 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>	7,92 <sup>c</sup>	5,67 <sup>a</sup>	5,61 <sup>a</sup>	5,87 <sup>a</sup>

Keterangan: 1. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

2. S14: *Pseudomonas* sp. 1, S16: *Pseudomonas* sp. 2, S17: *Pantoea* sp., S18: *Pseudomonas* sp. 3, S19: *Pseudomonas* sp. 4, dan S31: *Bacillus* sp.

Dari hasil analisis yang sudah dilakukan pada 24 JSI hingga 216 JSI menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri air sawah berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *Rhizoctonia solani* pada uji *in vitro*. Daya hambat terbaik adalah pada isolat S14 dengan persentase daya hambat 8,91 % dan daya hambat terendah adalah pada isolat S31 dengan persentase daya hambat 5,87% . Menurut Suryadi (2015) perbedaan daya hambat yang ditimbulkan dari bakteri dapat disebabkan karena metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri antagonis memerlukan tingkat konsentrasi tertentu agar dapat bersifat fungitoksik.

#### 4.5.1 Bakteri Genus *Pseudomonas* sp.

Dari hasil uji ragam yang telah dilakukan bakteri *Pseudomonas* sp. pada isolat *Pseudomonas* sp. 1, *Pseudomonas* sp. 2, *Pseudomonas* sp. 3 dan *Pseudomonas* sp. 4 dapat diketahui bahwa bakteri tersebut memiliki daya hambat yang tinggi dengan persentase 8,14 % - 8,91 % pada *Rhizoctonia solani*. Kemampuan *Pseudomonas* sp. menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*

ditunjukkan dengan pertumbuhan miselium jamur yang lebih pendek dari kontrol sehingga terbentuk zona bening.

Bakteri *Pseudomonas* sp. dalam menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* memiliki senyawa antibiotik dalam menghambat pertumbuhan patogen. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Soesanto *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa *Pseudomonas fluorescens* memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antibiotik untuk menekan pertumbuhan jamur patogen. *Pseudomonas* sp. dapat menghasilkan senyawa *volatile* berupa ammonia dan hydrogen sianida yang dapat meracuni mikroba lain (Sriyanti *et al.*, 2015). Keempat bakteri *Pseudomonas* sp yang telah ditemukan memiliki kemungkinan dari beberapa kelompok *Pseudomonas* sp. yang berbeda. Adapun beberapa kelompok *Pseudomonas* sp. yang berpotensi sebagai agen hayati yaitu *P. chlororaphis*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. chlororaphis*, *P. putida* dan *P. aerofciens* (Javandira *et al.*, 2013). Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa *P. fluorescens* dapat mengendalikan serangan *R. solani* pada tanaman padi di Kalimantan (Budi dan Mariana, 2013). Sehingga, dari pengujian *in vitro* yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa bakteri *Pseudomonas* sp. yang telah ditemukan memiliki potensi sebagai agen hayati.

#### 4.5.2 Bakteri Genus *Bacillus* sp.

Dari hasil antagonism secara *in vitro* menunjukkan bakteri *Bacillus* sp. memberikan pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan patogen *Rhizoctonia solani* diindikasikan dengan adanya zona bening diantara bakteri dengan miselium jamur *R. solani*. Salah satu upaya penekanan agen hayati terhadap patogen ialah dengan mekanisme antibiosis. Menurut Sood, *et al.* (2007) senyawa metabolisme sekunder yang dihasilkan oleh bakteri antagonis seperti *Bacillus* sp. dapat berupa antibiotik serta enzim ekstraseluler sehingga dapat menghasilkan zona bening pada uji *in vitro*. Sesuai dengan pernyataan Hatmawati (2000) yang menyatakan bahwa kelompok *Bacillus* sp. memiliki kemampuan seperti lipolitik, antibiosis, proteolitik dan amilolitik.

Dari hasil *in vitro* yang telah dilakukan diketahui bahwa bakteri *Bacillus* sp. yang ditemukan memiliki daya hambat yang kecil yaitu dengan persentase 5,87 %. Rendahnya daya hambat yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh keadaan

lingkungan, aktivitas mikroba, masa inkubasi dan lain sebagainya. Duta *et al.* (2013) menyatakan bahwa lamanya umur bakteri, besarnya inokulum, masa inkubasi dan aktivitas metabolik bakteri dapat menjadi faktor dalam pertumbuhan bakteri. *Bacillus* sp. Diketahui banyak menghasilkan antibiotik antara lain *B. brevis* (gramicidin dan thyrothiricin), *B. cereus* (cerexin dan zwittermicin), *B. circulans* (circulin), *B. laterporus* (laterosporin), *B. lichenformis* (bacitracin), *B. polymyxa* (polymixsin dan colistin), *B. pumilus* (pumulin), *B. subtilis* (polymixen, difficidin, subtilin, mycobacilin dan bacitracin) (Awais *et al.*, 2010, Vello *et al.*, 2011).

#### 4.5.3 Bakteri Genus *Pantoea* sp.

Dari pengujian yang telah dilakukan bakteri genus *Pantoea* sp. yang ditemukan memiliki potensi menghambat perumbuhan *Rhizoctonia solani* dengan persentase daya hambat 73,3%. Kemampuan bakteri *Pantoea* sp. dalam menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* dapat dengan menggunakan mekanisme antagonis seperti antibiosis dari senyawa sekunder yang ada pada bakteri tersebut. Menurut Cook dan Beker (1996) menyatakan bahwa metabolisme senyawa sekunder yang dimiliki oleh bakteri dapat merusak fungsi perlindungan dari sel patogen.

Kemampuan bakteri *Pantoea* sp. sebagai antagonis terhadap pertumbuhan jamur diakibatkan oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antifungal dan memiliki sifat antibiosis. Morin (2014) menyatakan bahwa *P. angglomerans* menghasilkan dua antibiotik yaitu *pantocin* A dan *pantocin* B yang dapat menghambat pertumbuhan patogen. Beberapa genus *Pantoea* yang diketahui yaitu: *P. stewartii*, *P. citarae*, dan *P. annatis* (Javandira *et al.*, 2013).

## 5. PENUTUP

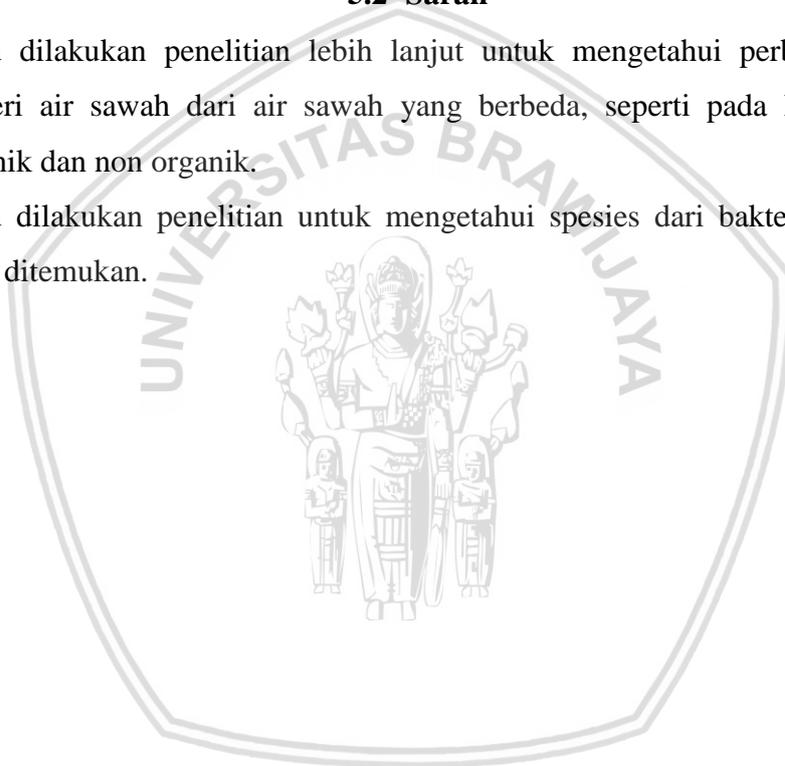
### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Perlakuan bakteri air sawah sebagai agens antagonis mampu menekan pertumbuhan jamur *R. solani* pada uji seleksi ditandai dengan adanya zona bening dan terhambatnya pertumbuhan miselium jamur *R. solani*.
2. Bakteri air sawah yang mampu menekan pertumbuhan jamur *R. solani* pada tahap *in vitro* ialah genus *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp. dan *Pantoea* sp..

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan jenis bakteri air sawah dari air sawah yang berbeda, seperti pada lahan sawah organik dan non organik.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui spesies dari bakteri air sawah yang ditemukan.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Abidin, Z. Qurata, L. dan Abadi, A. L. 2015. Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Ppenyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai. Jurnal HPT. Vol 3 (1) : 1-10.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Phatology. Fifty Edition. Elsevier Academi Press. United State of America. pp 616-686.
- Agustina, D. Yulvizar, C. dan Nursanty, R. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) Asin Berkitosan. Biospecies Vol 6 (1) : 5-19.
- Aliyah, N, U., Solistiyawati, L., dan Muhibuddin, A. 2015. Hubungan Ketebalan Lapisan Epidermis Daun Terhadap Serangan Jamur (*Mycosphaerella musicola*) Penyebab Penyakit Bercak Daun Sigatoka Pada Sepuluh Kultivar Pisang. Jurnal HPT. Vol 3 (1) : 35-43.
- Amaria, W., Harni, R., dan Samsudin. 2015. Evaluasi Jamur Antagonis dalam Menghambat Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* Penyebab Penyakit Jamur Akar Putih pada Tanaman Karet. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar. Vol 2 ( 1) : 51 – 60.
- Anggraini, R., Aliza, D., dan Mellisa, S. 2016. Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah Volume 1 (2) : 270-286.
- Awais, M., A. pervez., Yaqub, A., dan Syah, M. M. 2010. Production of Antimicrobial Metabolites by *Baccilus subtilis* Immobilized in Polyacrylamide Gel. Pakistas Journal Zool. Vol 42 (3) : 267 - 275.
- Berlin, I., Setyawan, B., dan Hadi, H. 2013. Mekanisme Antagonisme *Trichoderma spp.* Terhadap Beberapa Patogen Tular Tanah. Warta Perkaretan. Vol 32 ( 2 ) : 74-82.
- Budi, I, M dan Mariana. 2013. Biocontrol For Rhizoctonia Stem Rot Disease By Uusing Combination of Specific Endophyte in Paddy Tidal Swamp. Agrivita Vol 35 (3) : 304-310.
- Cook, R, J., dan Baker, K, F. 1996. The Nature and Praticce of Biological Control pf Plant Pathogens. The American Phytopathological Society Press. Unites State of America. p 535

- Djunaedy, A. 2008. Aplikasi Fungisida Sistematis dan Pemanfaatan Mikoriza dalam Rangka Pengendalian Patogen Tular Tanah Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max L.*). Embryo Vol 5(2) : 149-157.
- Djaenuddin, N., dan Muis, A. 2015. Karakteristik Bakteri Antagonis *Bacillus subtilis* dan Potensinya sebagai Agen Pengendali Hayati Tanaman. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Prosiding Seminar Nasional Tanaman Serealia.
- Do Thi Xuan. 2012. Microbial Communities in Paddy Fields in the Mekong Delta of Vietnam. Skripsi. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Forest Mycology and Plant Pathology, Uppsala.
- Fitri, L., dan Yasmin, Y. 2011. Isolation and Observation of Morphology of Chitinolytic Bacteria Colony. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi. Volume 3 (2) : 20-25
- Gokulan, K., S. Khare., dan C. Cerniglia. 2014. Production of Secondary Metabolites of Bacteria. Encyclopedia of Food Microbiology 2. pp 561-569.
- Hanudin, Marwoto, B., Hersanti, dan Muharam, A. 2012. Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Trichoderma harzianum* untuk mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Kentang. Jurnal Hortikultura 22 (2): 173-180.
- Hatmanti A. 2000. Pengenalan Bacillus. Balitbang Lingkungan Laut, Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta. Volume 25 (1) : 31-41.
- Hidayah, N., Wijayanti, K, S., dan Asbani N. 2011. Keefektifan Kalsium Polisulfida terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Rhizoctonia bataticola* secara In Vitro. Buletin Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri. Vol 4 (1) : 32-36.
- Hiddink, G A., Termorshuizen, A J., Raaijmakers, J M., dan Bruggen, A H C. 2005. Effect of Mixed and Single Crops on Disease Suppressiveness of Soils. The American Phytopathological Society. Vol 95 (11) : 1 - 9.
- Holt, J.G, N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, dan S.T. William. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Edisi ke-9. USA: Williams & Wilkins.
- Javadira, C., Aini, L. Q., Sugiharto, A. N., dan Abadi, A. L. 2013. The Potency of *Bacillus* sp. And *Pseudomonas* sp as Biological Control Agents Against

Corn Leaf Blight Disease Caused by *Pantoea* sp. *Agrivita* Vol 5 (32) : 103-109.

- Kimura, M., Miyaki, M., Fujinaka K-I, dan Maie N. 2001. Microbiota responsible for the decomposition of rice straw in a submerged paddy soil estimated from phospholipid fatty acid composition. *Soil Science and Plant Nutrition* 47 (3) : 569-578.
- Kismiyati., Subekti S., Yusuf, R. W. N., dan Kusdarwati, R. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negative Pada Luka Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* sp. *Jurnal ilmiah dan Kelautan*. Vol 1 (2) : 129 – 134.
- Kobayashi, T., Ishiguro, K., Nakajima, T., Kim, H Y., Okada, M., dan Kobayashi, M. 2005. Effects of Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> Concentration on the Infection of Rice Blast and Sheath Blight. *The American Phytopathological Society*. Vol 96 (4) : 425 – 431.
- Kusmuwanti, T., Bahiruddin, dan Sukmawati, S. 2014. Efektivitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik Terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Kentang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Vol 10 (2) : 68-72.
- Mahyuni, E. L. 2015. Faktor Utama Z H. 2015. Budidaya Padi pada Lahan Marginal. CV Andi Offset. Yogyakarta.
- Makarini, K., dan Suhartatik, E. 2009. Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi. Padi Inovasi Teknologi dan Ketahanan Pangan. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. pp 295 – 330.
- Ma, X., Wang, X., Cheng, J., Nie, X., Yu, X., Zhao, Y., dan Wang, W. 2015. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and Its Biocontrol Efficiency against *Rhizoctonia solani* in Tomato. *Journal Biological Control* 90: 34-41.
- Moons, P., Michiels, C.W., dan Aertsen, A. 2009. Bacterial interactions in biofilms. *Crit. Rev. Microbiol.* pp 35, 157–168.
- Morin, A. 2014. *Pantoea*. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Volume 2. pp 1623-1630.
- Moumou, G., Mohan, G. B., Rouvinski, A., Rosenberg, A., dan Yehuda, S. B. 2016. Early Developmental Program Shapes Colony Morphology in Bacteria. Department of Microbiology and Molecular Genetics, Institute

for Medical Research Israel-Canada, The Hebrew University-Hadassah Medical School. The Hebrew University of Jerusalem. Israel.

- Muhibuddin, A., Ivansthi, I. R., Nurhatika, S., dan Basuki, T, E, H. 2017. Ethanol Fermentation Potency of Wild Yeast Which Isolated from Soil Drive Nutrient (SDN) Plantation System. *Research Journal of Life Science*. Vol 4 (3) : 218-226.
- Muhibuddin, A., Sektioni, A, W., Qomariyah, U, K, N., Faizah, M., Susanti, A., dan Nurhatika, S. 2018. Yeast from Epiphyte of Avocado to Control *Colletotrichum gloesporioides* Causing Antrachnose Disease. *Jurnal Sains and Tecnology*. Vol 10 (2) : 52-60.
- Muis, A. 2007. Pengelolaan Penyakit Busuk Pelepah (*Rhizoctonia solani Kuhn.*) pada Tanaman Jagung. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Tengah. Vol 26 (3) : 100 – 103.
- Nurbaya, Zulfikar, A., Kuswinanti, T., Baharuddin dan Lologau, B, A. 2011. Kemampuan Mikroba Antagonis dalam Mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada Sistem Budi daya Aeroponik Tanaman Kentang. *J Fitomedika*. 7(3) : 155–158.
- Nurhasanah, Y.S. 2012. Karakterisasi Cendawan *Botryodiplodia theobromae* dan *Rhizoctonia solani* dari Berbagai Tanaman Inang Berdasarkan Morfologi dan Pola Rapd-Pcr. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurlina. 2012. Uji Efektivitas Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dari Beberapa Rhizosfer Terhadap Penyakit Virus Pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum L.*) Di Lapangan. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Nuryanto, B. 2018. Pengendalian Penyakit Tanaman Padi Berwawasan Lingkungan Melalui Pengelolaan Kompenen Epidemik. *Jurnal Litbang Pertanian* Vol 37 (1) : 1-8.
- Pasaribu, E, L, P., Sastrahidayat, I, R., dan Muhibuddin, A. 2016. Eksplorasi Jamur Filoplane pada Tanaman Seledri (*Apium graveolens*) dan Uji Kemampuan Antagonisnya Terhadap Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum sp.*). *Jurnal HPT*. Vol 4(1) : 1-7.
- Paweninggalih, L. L. 2017. Karaterikstik Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Lunak Pada Tanaman Bunga Krisan (*Chrysanthemum sp.*). Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

- Priharta, A. A. Y. D. 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dalam Batang Tanaman *Artemisia annua* L. yang Diuji Potensi Antibakterinya Terhadap *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli* secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Prihatiningsih<sup>1</sup>, N., Arwiyanto, N., Hadisutrisno, B., dan Widada J. 2015. Mekanisme Antibiosis *Baccilus subtilis* B315 Untuk Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Kentang. Jurnal HPT Tropika Vol 15 (1) : 64-71.
- Purnomo, H. 2010. Pengantar Pengendalian Hayati. Penerbit Andi. Yogyakarta..
- Purwohadisantoso, K., Zubaidah, E., dan Saparianti E. 2009. Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Sayur Kubis yang Memiliki Kemampuan Penghambatan Bakteri Patogen. Jjurnal Teknologi Pertanian. Vol 10 (1) : 19 – 27.
- Reche, M. H. L. R. dan Fiuza, L. M. 2005. Bacteria Diversity in Rice Field Water in Rio Grande Do Sul. Laboratório de Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS, Brasil; 2EEA, Instituto Riograndense do Arroz, Cachoeirinha, RS, Brasil. Hal 253-257.
- Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., dan Kusdiyantini, E. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (*Rhodophita*) dari Perairan Kutuh Bali. Jurnal Biologi Vol 2(2) : 11 – 17.
- Sastrahidayat, I, R., Djauhari, S., dan Muhibuddin, A., dan Saleh, N. 2011. Control of “Damping Off” Disease Caused By *Sclerotium rolfsii* Sacc. Using *Actinomycetes* and VAM Fungi on Soybean in The Dry Land Based on Microorganism Diverssity of Rhizosphere Zone. Agrivita. Vol 33(1) : 40-46
- Sastrahidayat, I, R., Faizah, A, R., dan Muhibuddin, A. 2018. Endophyte Fungi to Control *Helminthosporium turcicum*, Fungi Causing Leaf Blight Disease. Jurnal Sains and Tecnology. Vol 10 (1) : 27 - 38.
- Scaad, N. W., Jones. J. B., dan Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Ed ke – 3. Minnesota: APS Press.
- Semangun, H. 2008. Penyakit-penyakit tanaman tangan di Indonesia Edisi kedua). Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. p 475.
- Shofiana, R. H. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Serta Uji Potensi Antagonismenya

terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidopus micoporus*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang. Jawa Timur.

Shofiana, R. H., Sulistyowati, L., dan Muhibuddin, A. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Serta Uji Potensi Antagonismenya terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidopus micoporus*). Jurnal HPT. Vol 3(1) : 75-83.

Susanti, F. 2011. Penyakit Hawar Upih Daun pada Tanaman Padi yang Disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* Kunh. [http:// getnaturetoyourlife.blogspot.com](http://getnaturetoyourlife.blogspot.com). Diakses tanggal 16 Januari 2012.

Suryadi, Y., Samudra, I. M., Priyatni, T. P., Susilowati, D. N., Lestari P., dan Sutoro. 2015. Aktivitas Anticendawan Bacillus cereus 11UJ terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Pyricularia oryzae*. Jurnal Fitopatologi. Vol 11(2) 35 - 42.

Soenartiningih., Akil, M., dan Andayani, N. N. 2015. Soil Borne Fungus (*Rhizoctonia solani*) the Pathogen of Sheath Blight Disease of Maize and Sorghum and Its Control Measures. Iptek Tanaman Pangan. Vol 10 (2) : 85 – 92.

Soesanto. L., Mugiastuti. E., Manan, A., dan Wajhaji, M. 2013. Ability Test Of Several Antagonists to Control Potato Bacteria Wilt in the Field. Agrivita Vol 35 (1) : 30-35.

Sood, A., Shivest, S., Viviek, K., dan Ram, L, T. 2007. Antagonism of Dominant Bacteria in Tea Rhizosphere of Indian Himalaya Regions. Journal Appl. Science Environment Management. Vol 11 (4) : 63-66.

Suryani, L. 2012. Karakteristik Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Layu dan Hawar Daun pada Tanaman Jagung. Tesis. PPS Universitas Brawijaya Malang.

Suryani, L., L.Q., Aini, A.N., Sugiharto., dan Abadi, A. L. 2012. Characterization of bacterial pathogen causing wilt and leaf blight on corn (*Zea mays*) by Physiological, Biochemical and Molecular Methods. J. Agrivita. Vol. 34(3) : 286-295.

Syahputri, Y. Y. 2018. Potensi Bakteri Endofit Isolat Rumput Angin (*Spinifex littoreus* (Burm F.) Merr) Dalam Menekan Pertumbuhan *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Jagung. Skripsi. Program Studi Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Utami, D. W., Moeljopawiro, S., Aswidinnoor, H., Setiawan, A., Hanarida, I. 2005. Gen Pengendali Penyakit Blast (*Pyricularia grisea* Sacc.) pada Spesies Padi Liar *Oryza rufipogon* Griff. dan Padi Budi Daya IR64. Jurnal Agrobiogen 1 (1) : 21-26.
- Tanji, A. I., Muhibuddin, A., dan Djauhari, S. 2015. Eksplorasi Keanekaragaman Jamur Tanah pada Rhizofeora Tanaman Tomat di Lahan Edemis dan Non Edemis serta Potensi Antagonismnya Terhadap Patogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* Penyebab Layu Fusarium Tomat. Jurnal HPT 3 (1) : 11-20.
- Tohid, V. K., Taheri, P., Müller D., Combaret, C. P., Vacheron, J., Taghavi, S. M., Tarighi, S., dan Loccoz, Y. M. 2017. Phylogenetic diversity and antagonistic traits of root and rhizosphere pseudomonads of bean from Iran for controlling *Rhizoctonia solani*. Journal of Mikrobiologi. 168 : 760-772.
- Vello, R. V., Medina, L. V. C., Segalin, J., dan Brandelli, A. 2011. Production of Lipopeptides among *Bacillus* strain Showing Growth Inhibition of Phytopathogenic Fungi. Journal of Folia Microbiology.
- Wang, C., Pi, L., Jiang, S., Yang, M., Shu, C., Zhou, E. 2018. ROS and trehalose regulate sclerotial development in *Rhizoctonia solani* AG-1 IA. Fungal Biology. Vol 30 : 1-11.
- Wahyuni, T., Mulawarman., dan Damiri, N. 2015. Population Dynamics of Rhizobacteria and its Potency as a Biological Control Agen to Control Fusarium Disease in The Nursery of Agarwood (*Aquilaria malaccensis* Lamrk. Agrivita. Vol 37 (3) : 276 -283.
- Wasteson, Y., dan Hornes, E. 2009. Pathogenic Escherichia Coli Found in Food. Internasional Journal of Food Microbiology 12 : 103 -114.
- Xu an. 2012. Microbial Communities in Paddy Fields in the Mekong Delta of Vietnam. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Forest Mycology and Plant Pathology Uppsala. Swedish University of Agricultural Sciences
- Yoshida, S. 1981. Fundamentals of Rice Crop Science. The Internasional Rice Research Institute. Los Banos. Philippines.
- Zuhria, S. A., Djauhari, S., Muhibuddin, A. 2016. Exploration and Antagonistic Test of Endophytic Fungi from Soybean (*Glycine max* L. Merr) With

Different Resistance to *Sclerotium rolfsii*. J.Exp. Life Sci. Vol 6 (2) : 101 - 105.

Zuraidah. 2013. Pengujian Beberapa Bakteri Penghambat Pertumbuhan *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* Pada Tanaman Padi. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Tarabiah, IAIN Ar- Nairy, Banda Aceh. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi . Vol 5 (1) : 18-24.

