

**BAKTERI ANTAGONIS DARI SUMBER AIR PANAS DAN UJI
KEMAMPUAN ANTAGONISNYA TERHADAP
Helminthosporium turcicum (Pass.) PENYEBAB HAWAR
DAUN PADA TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.)**

Oleh :

DEVINIA MARTANTYA SARI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**BAKTERI ANTAGONIS DARI SUMBER AIR PANAS DAN UJI
KEMAMPUAN ANTAGONISNYA TERHADAP
Helminthosporium turcicum (Pass.) PENYEBAB HAWAR
DAUN PADA TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.)**

OLEH

DEVINIA MARTANTYA SARI

145040201111248

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN

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

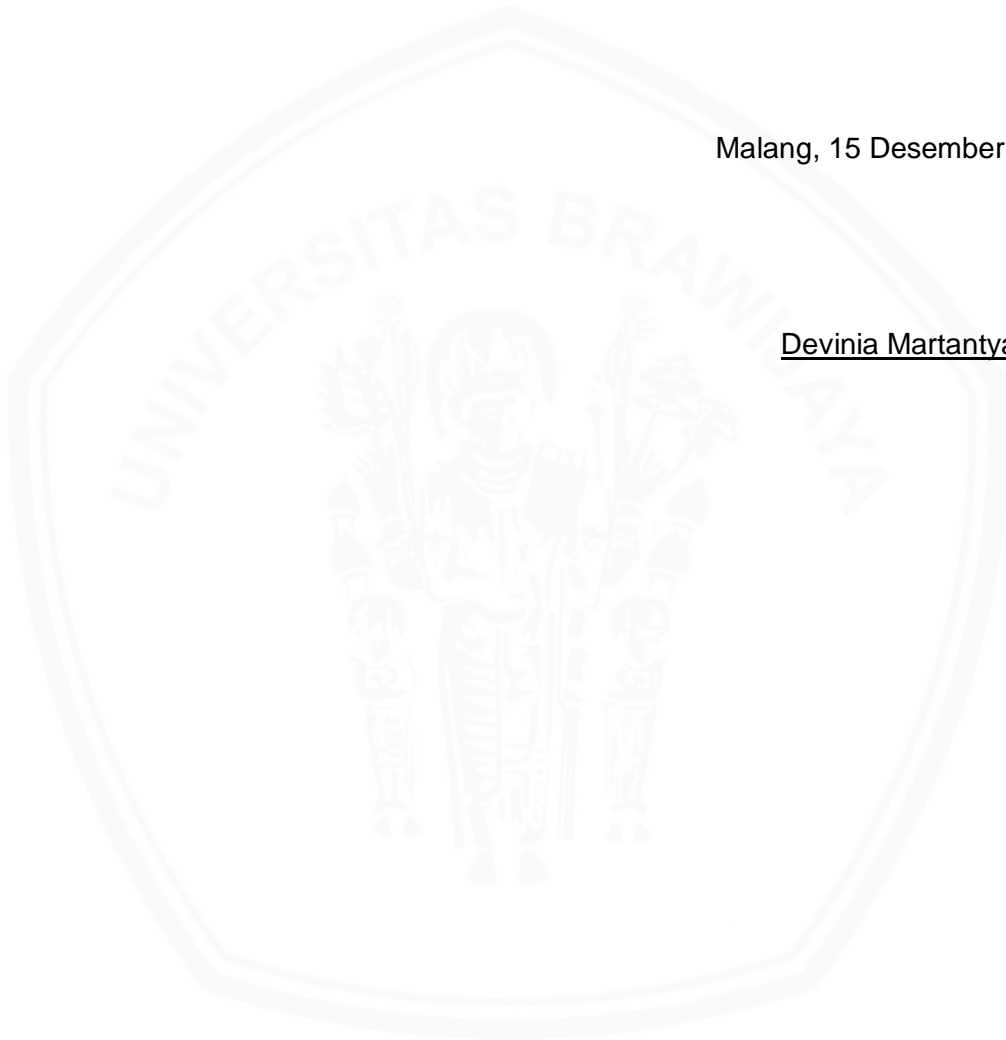


PERNYATAAN

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

Malang, 15 Desember 2018

Devinia Martantya Sari



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Bakteri Antagonis dari Sumber Air Panas dan Uji Kemampuan Antagonisnya Terhadap *Helminthosporium turcicum* (Pass.) Penyebab Hawar Daun pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.)

Nama Mahasiswa : Devinia Martantya Sari

NIM : 145040201111248


Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200504 1 002


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

Diketahui,

Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

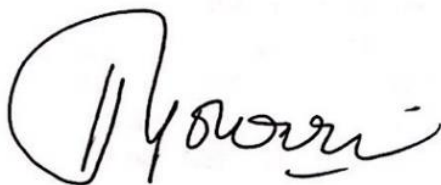


LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I



Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.
NIP. 19551212 198003 2 003

Penguji II



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

Penguji III



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

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 03 JAN 2019





*Kesabaran, usaha, dan do'a
Selalu dibutuhkan untuk menciptakan sebuah karya*

*Skripsi ini kupersembahkan untuk
Kedua orang tua tercinta, kakak dan teman-temanku tersayang*

TERIMA KASIH atas doa dan dukungannya

RINGKASAN

Devinia Martantya Sari. 14504020111248. Bakteri Antagonis dari Sumber Air Panas dan Uji Kemampuan Antagonisnya Terhadap *Helminthosporium turcicum* (Pass.) Penyebab Hawar Daun pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). Dibawah bimbingan Bapak Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.

Pengendalian penyakit tanaman yang ramah lingkungan dapat dilakukan dengan aplikasi bakteri antagonis. Kelompok bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis dapat ditemukan di tanah, jaringan endofit dan air. Beberapa genus bakteri yang mampu berperan sebagai agens antagonis yaitu dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Pantoea*. Di sumber air panas ditemukan bakteri *Bacillus* dan mempunyai manfaat dalam bidang pertanian karena dapat menghasilkan senyawa antibiotik. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri dari sumber air panas sebagai agens antagonis terhadap patogen *H. turcicum* penyebab hawar daun pada tanaman jagung.

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan jurusan HPT, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang dimulai pada bulan Juli hingga bulan Oktober 2018. Tahapan dari penelitian ini yaitu eksplorasi bakteri dari sumber air panas, seleksi bakteri, identifikasi bakteri, perbanyakkan patogen *H. turcicum*, dan uji antagonis bakteri terseleksi terhadap patogen *H. turcicum* secara *in vitro*. Uji antagonis ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan yaitu 7 perlakuan bakteri, dan 1 kontrol sebanyak 4 ulangan. Jika terdapat perbedaan nyata maka akan diuji lanjut menggunakan BNT pada taraf 5%. Variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu karakterisasi bakteri antagonis dari sumber air panas dan daya hambat bakteri antagonis terhadap patogen *H. turcicum*.

Hasil penelitian didapatkan 7 bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan patogen *H. turcicum*. Pada pengujian antagonis secara *in vitro*, 7 perlakuan bakteri antagonis dan 1 kontrol menunjukkan hasil berbeda nyata. Zona hambat tertinggi yaitu pada bakteri S7 yang merupakan genus *Bacillus* sp. Hasil karakterisasi bakteri antagonis dengan kode isolat S1 termasuk kedalam genus *Pantoea* sp, bakteri S2 dan S7 termasuk kedalam genus *Bacillus* sp, bakteri S11, S14 dan S15 termasuk kedalam genus *Erwinia* sp, bakteri S16 belum teridentifikasi sehingga perlu dilakukan uji selanjutnya untuk mengetahui jenis genusnya.

SUMMARY

Devinia Martantya Sari. 145040201111248. Antagonistic Bacteria from Hot Spring and The Antagonist Ability Test Against *Helminthosporium turcicum* (Pass.) Causes Leaf Blight on Corn Plant (*Zea mays* L.). Supervised by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. as chief supervisor and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. as co-supervisor.

Environmental-friendly control to plant disease can be done by antagonistic bacteria application. Groups of bacteria that are potentially antagonistic agents can be found in soil, endophytic tissue and water. Some genus of bacteria that are capable of acting as antagonistic agents were from the genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Pantoea*. *Bacillus* bacteria found in hot spring has benefits in agriculture because it can produce antibiotic compounds. So the aim in this study is to determine the potential of bacteria from hot spring as antagonistic agents against *H. turcicum* pathogen that cause leaf blight in corn plants.

The research activity was carried out at the Central Laboratory of Life Sciences and the Laboratory of Plant Diseases majoring in HPT, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang starting from July until October 2018. The stages of this research are bacterial exploration from hot spring, bacteria selection, bacteria identification, multiplication of pathogen *H. turcicum*, and antagonist tests on selected bacteria against *H. turcicum* in vitro. This antagonist test uses a completely randomized design (CRD) with 8 treatments that is 7 bacterial treatments with 1 control and 4 times repeated. If there are significant differences, it will be tested further using LSD at the level of 5%. The variables observed from this study were the characterization of antagonistic bacteria from hot spring and bacteria inhibition against *H. turcicum* pathogen.

The results of this study is 7 bacteria were found capable to inhibit the growth of *H. turcicum* pathogen. In antagonist test in vitro, 7 treatments of antagonistic bacteria and 1 control showed different results. The highest inhibition zone is on the S7 bacteria that is identified as *Bacillus* sp. The results of characterization antagonistic bacteria with code S1 isolate included in to genus *Pantoea* sp, S2 and S7 bacteria included in to genus *Bacillus* sp, S11, S14 and S15 bacteria included in to genus *Erwinia* sp. S16 bacteria has not been identified so that further testing is needed to show the genus of the bacteria.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan berkah, rahmat taufik, dan hidayah-Nya yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan Judul “Bakteri Antagonis dari Sumber Air Panas dan Uji Kemampuan Antagonisnya Terhadap *Helminthosporium turcicum* (Pass.) Penyebab Hawar Daun pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.)”. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar, kepada:

1. Bapak Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, mengarahkan serta memberi saran dan kritikan yang membangun bagi penulis.
2. Bapak Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing, mengarahkan serta memberi saran dan kritikan yang membangun bagi penulis.
3. Ibu Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.
4. Para laboran dan staf administrasi yang telah banyak membantu penulis selama melakukan penelitian dan mengurus administrasi.
5. Ibu, Bapak, Kakak, keluarga besar dan teman-teman yang selalu memberi dukungan moril dan semangat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan baik dari segi materi maupun tatanan bahasa. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga dengan adanya skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi seluruh pembaca.

Malang, 15 Desember 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 15 Desember 1995 di Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur. Penulis merupakan putri kedua dari pasangan Bapak Sumarsono dan Ibu Yuni Dwi Sutanti. Penulis adalah anak kedua dari dua bersaudara.

Riwayat pendidikan penulis tercatat sebagai alumni taman kanak-kanak Dharma Wanita Gebangkerep 1 tahun 2001. Pendidikan sekolah dasar di SDN Jogomerto III tahun 2002 sampai tahun 2008. Pendidikan sekolah menengah pertama di SMPN 1 Tanjunganom tahun 2008 sampai tahun 2011. Kemudian melanjutkan sekolah menengah atas di SMAN 1 Tanjunganom, Nganjuk pada tahun 2011 sampai tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur sebagai mahasiswa Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian.



DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	1
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Hipotesis Penelitian	2
1.5. Manfaat Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tanaman Jagung.....	4
2.2. Patogen <i>Helminthosporium turcicum</i>	5
2.3. Bakteri Antagonis Tanaman	7
2.4. Bakteri Sumber Air Panas	7
3. METODOLOGI.....	9
3.1. Tempat dan Waktu	9
3.2. Alat dan Bahan	9
3.3. Pelaksanaan Penelitian	9
3.3.1. Pengambilan Sampel Air Panas.....	9
3.3.2. Pembuatan Media.....	9
3.3.3. Isolasi dan Purifikasi <i>H. turcicum</i>	10
3.3.4. Isolasi Bakteri.....	10
3.3.5. Purifikasi Bakteri	11
3.3.6. Seleksi Bakteri Antagonis	11
3.3.7. Uji Hipersensitif	12
3.3.8. Identifikasi Bakteri.....	12
3.3.9. Uji Antagonis Secara In Vitro.....	15
3.4. Variabel Pengamatan	16

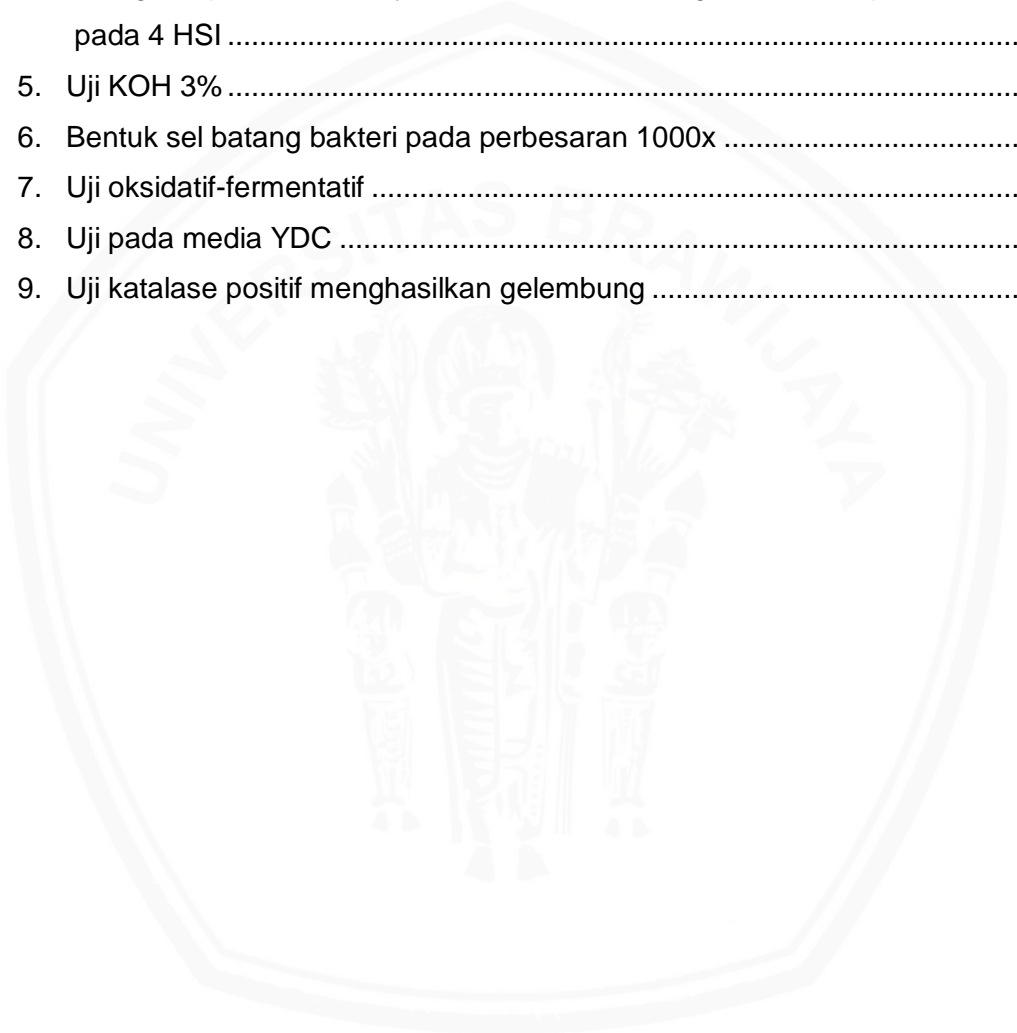
3.5. Analisis Data	17
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1. Isolasi dan Purifikasi <i>H. turcicum</i>	18
4.2. Isolasi dan Purifikasi Bakteri dari Sumber Air Panas.....	19
4.3. Seleksi Bakteri yang Berpotensi Antagonis Terhadap <i>H. turcicum</i>	19
4.4. Uji Hipersensitif 7 Isolat Bakteri dari Sumber Air Panas	21
4.5. Karakterisasi Bakteri.....	22
4.5.1. Karakterisasi Morfologi Bakteri 7 Isolat Bakteri dari Sumber Air Panas.....	22
4.5.2. Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia 7 Isolat Bakteri dari Sumber Air Panas.....	25
4.5.3. Karakterisasi Morfologi, Fisiologi dan Biokimia 7 Isolat Bakteri dari Sumber Air Panas	32
4.6. Uji Antagonis Secara <i>In vitro</i>	34
5. PENUTUP	38
5.1. Kesimpulan	38
5.2. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kenampakan jamur <i>H. turcicum</i>	6
2.	Seleksi bakteri antagonis pada cawan petri	12
3.	Uji antagonis secara <i>in vitro</i>	16
4.	Kenampakan jamur <i>H. turcicum</i>	18
5.	Koloni bakteri-bakteri hasil isolasi dari sumber air panas pada pengenceran 10 ⁻⁵	19
6.	Hasil seleksi bakteri antagonis pada media PDA.....	20
7.	Uji hipersensitif pada daun tembakau	21
8.	Koloni bakteri S1 pada media NA umur 2 HSI	22
9.	Koloni bakteri S2 pada media NA umur 2 HSI	23
10.	Koloni bakteri S7 pada media NA umur 2 HSI	23
11.	Koloni bakteri S11 pada media NA umur 2 HSI	23
12.	Koloni bakteri S14 pada media NA umur 2 HSI	24
13.	Koloni bakteri S15 pada media NA umur 2 HSI	24
14.	Koloni bakteri S16 pada media NA umur 2 HSI	24
15.	Contoh hasil uji KOH 3%	26
16.	Bentuk sel batang bakteri pada perbesaran 1000x	27
17.	Hasil uji pewarnaan spora pada perbesaran 1000x.....	28
18.	Contoh hasil uji oksidatif-fermentatif.....	29
19.	Hasil uji pigmen fluorescent bakteri S16 pada media King's B umur 24 jam	30
20.	Contoh hasil uji pada media YDC.....	31
21.	Contoh uji katalase positif menghasilkan gelembung	32
22.	Histogram rerata presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap <i>H.</i> <i>turcicum</i> selama 4 HSI.....	35
23.	Hasil penghambatan bakteri antagonis terhadap <i>H. turcicum</i>	36

Lampiran

- 1. Histogram presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap *H. turcicum* pada 1 HSI 46
- 2. Histogram presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap *H. turcicum* pada 2 HSI 46
- 3. Histogram presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap *H. turcicum* pada 3 HSI 46
- 4. Histogram presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap *H. turcicum* pada 4 HSI 47
- 5. Uji KOH 3% 48
- 6. Bentuk sel batang bakteri pada perbesaran 1000x 49
- 7. Uji oksidatif-fermentatif 50
- 8. Uji pada media YDC 51
- 9. Uji katalase positif menghasilkan gelembung 52



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan uji antagonis.....	16
2.	Isolat bakteri yang mampu membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan <i>H. turcicum</i> pada media PDA	20
3.	Karakterisasi secara morfologi 7 isolat bakteri hasil seleksi.....	25
4.	Uji KOH 3% 7 isolat bakteri hasil seleksi.....	25
5.	Uji pewarnaan gram 7 isolat bakteri hasil seleksi	26
6.	Uji pewarnaan spora isolat bakteri S2 dan S7	27
7.	Uji oksidatif-fermentatif 7 isolat bakteri hasil seleksi.....	28
8.	Uji koloni kuning 5 isolat bakteri pada media YDC	30
9.	Uji katalase 7 isolat bakteri hasil seleksi	31
10.	Karakterisasi fisiologi dan biokimia 7 isolat bakteri hasil seleksi	32
11.	Karakterisasi morfologi, fisiologi, dan biokimia 7 isolat bakteri hasil seleksi .	33
12.	Rerata presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap <i>H. turcicum</i> selama 4 HSI.....	34

Lampiran

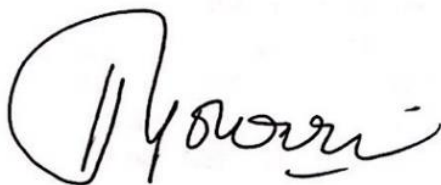
1.	Analisis ragam presentase penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan <i>H. turcicum</i> pada 1 HSI	45
2.	Analisis ragam presentase penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan <i>H. turcicum</i> pada 2 HSI	45
3.	Analisis ragam presentase penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan <i>H. turcicum</i> pada 3 HSI	45
4.	Analisis ragam presentase penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan <i>H. turcicum</i> pada 4 HSI	45

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I




Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.
NIP. 19551212 198003 2 003

Penguji II



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

Penguji III



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

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 03 JAN 2019



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Bakteri Antagonis dari Sumber Air Panas dan Uji Kemampuan Antagonisnya Terhadap *Helminthosporium turcicum* (Pass.) Penyebab Hawar Daun pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.)

Nama Mahasiswa : Devinia Martantya Sari

NIM : 145040201111248


Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200504 1 002


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

Diketahui,

Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Jagung merupakan tanaman serelia yang termasuk bahan pangan penting karena merupakan sumber karbohidrat kedua setelah beras (Purwono dan Hartono, 2011). Jagung pada saat ini banyak diminati masyarakat Indonesia, sehingga permintaan jagung pun menjadi naik. Menurut Rosmarkam dan Yuwono (2002) kebutuhan untuk konsumsi jagung di Indonesia meningkat sekitar 5,16% per tahun, sedangkan untuk pakan ternak dan bahan baku industri naik sekitar 10,87% per tahun. Berdasarkan informasi dari Badan Pusat Statistik (2014) produksi jagung pada tahun 2013 sebesar 18,51 juta ton pipilan kering atau turun menjadi 0,88 juta ton (4,54%) dibandingkan pada tahun 2012. Penurunan produksi ini terjadi di Jawa sebesar 0,62 juta ton dan di luar Jawa sebesar 0,26 juta ton. Penurunan produksi terjadi salah satunya karena adanya serangan jamur patogen *Helminthosporium turcicum* (Pass.) (Alexopoulos dan Mims, 1979). Patogen ini menyebabkan penyakit hawar daun pada tanaman jagung dan merupakan salah satu penyakit penting pada jagung. Tanaman jagung yang terserang hawar daun menunjukkan gejala berupa munculnya bercak berwarna coklat pada permukaan daun tanaman jagung (Semangun, 1991).

Pengendalian penyakit pada tanaman jagung sering dilakukan dengan menggunakan bahan kimia seperti fungisida, insektisida, bakterisida dan sebagainya. Namun, penggunaan bahan kimia yang terus menerus dan berlebihan dapat memberikan dampak yang tidak baik terhadap lingkungan seperti matinya organisme bermanfaat, membuat hama dan patogen penyebab penyakit menjadi kebal, dan meninggalkan residu yang berbahaya terhadap kesehatan. Sehingga untuk meminimalisir hal tersebut, perlu dilakukan pengendalian yang ramah lingkungan yaitu dengan pemanfaatan agens pengendalian hayati salah satunya adalah pemanfaatan bakteri antagonis (Nurhayati, 2011).

Beberapa genus bakteri yang mampu berperan sebagai agens antagonis yaitu dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Pantoea* (Babu dan Thind, 2005). Kelompok bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis dapat ditemukan di tanah, jaringan endofit dan air (Djaenuddin dan Muis, 2015). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Asnawi (2006) pada sumber air panas ditemukan bakteri *Bacillus* sp, *Thermus* sp, *Acetogenium* sp, *Pseudomonas* sp dan *Sulfobacillus* sp. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Xu *et al.* (2013) bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* mampu menghambat pertumbuhan patogen

Fusarium oxysporum pada tanaman dengan mengeluarkan senyawa antifungal yaitu senyawa bacillomycin. Selanjutnya menurut Jatnika *et al.* (2013) bakteri dari genus *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.* mampu menghambat pertumbuhan patogen *Peronosclerospora maydis* pada tanaman jagung. Selain itu, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus* mampu menghambat pertumbuhan patogen *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang (Izza *et al.*, 2018). Bakteri *Pseudomonas* mampu menghasilkan senyawa berupa antimikroba dan antibiotik (Couillerot *et al.*, 2009). Bakteri *Bacillus* adalah bakteri antagonis yang mampu menghasilkan enzim amilase, lipase, protease, serta kitinase sebagai enzim pengurai dinding sel patogen (Djaenuddin dan Muis, 2015). Bakteri *Pantoea sp* mampu menghambat patogen tanaman dengan mengeluarkan senyawa antibiosis seperti herbicolins, pantocin, microcin (Dutkiewicz *et al.*, 2016).

Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri dari sumber air panas sebagai agens antagonis terhadap patogen *H. turcicum* penyebab hawar daun pada tanaman jagung. Dengan adanya penelitian ini, diharapkan dapat menjadi solusi untuk mengendalikan penyakit hawar daun pada tanaman jagung, sehingga dapat meningkatkan produktivitas tanaman jagung dengan efektif dan efisien.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat bakteri antagonis dari sumber air panas?
2. Bagaimanakah kemampuan bakteri dari sumber air panas dalam menghambat pertumbuhan patogen *H. turcicum* secara *in vitro*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Memperoleh bakteri antagonis dari sumber air panas.
2. Mengetahui kemampuan bakteri dari sumber air panas dalam menghambat pertumbuhan patogen *H. turcicum*.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dari penelitian ini adalah

1. Terdapat bakteri antagonis dari sumber air panas.
2. Bakteri antagonis dalam sumber air panas mampu menghambat patogen *H. turcicum*.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah mengetahui informasi tentang potensi bakteri dari sumber air panas dalam menghambat patogen *H. turcicum*, dan memberi informasi kepada masyarakat khususnya petani mengenai solusi untuk mengendalikan penyakit hawar daun pada tanaman jagung jagung dengan menggunakan bakteri yang berasal dari sumber air panas.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Jagung

Tanaman jagung diklasifikasikan sebagai berikut: Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Sub Divisi Angiospermae, Kelas Monocotyledone, Ordo Graminae, Famili Graminaceae, Genus *Zea*, Spesies *Zea mays* L. (Purwono dan Hartono, 2011). Jagung merupakan tanaman semusim, satu siklus hidupnya 80-150 hari. Paruh pertama merupakan tahap pertumbuhan vegetatif dan paruh kedua merupakan tahap pertumbuhan generatif (Budiman, 2012).

Tanaman jagung mempunyai akar serabut yang mampu mencapai kedalaman 8 m, meskipun sebagian besar pada kisaran 2 m. Tanaman jagung memiliki akar serabut dengan tiga jenis akar, yaitu akar seminal, akar adventif, dan akar kait atau penyangga. Akar seminal merupakan akar yang berkembang dari radikula dan embrio. Akar seminal akan tumbuh melambat setelah plumula muncul ke permukaan tanah dan berhenti 10-18 hari setelah berkecambah. Akar adventif merupakan akar yang semula berkembang dari buku diujung mesokotil, kemudian berkembang dari tiap buku secara berurutan dan terus keatas antara 7-10 buku, semuanya dibawah permukaan tanah. Pada tanaman yang sudah cukup dewasa, akar adventif akan muncul dari buku-buku batang bagian bawah yang membantu menyangga tegaknya tanaman. Akar adventif berkembang menjadi serabut akar tebal. Akar seminal hanya sedikit berperan dalam pengambilan air dan hara. Akar kait atau penyangga merupakan akar adventif yang muncul pada dua atau tiga buku diatas permukaan tanah. Akar penyangga berfungsi untuk menjaga tanaman agar tetap tegak dan mengatasi rebah batang. Akar ini juga membantu penyerapan hara dan air (McWilliams *et al.*, 1999).

Tanaman jagung mempunyai batang yang tidak bercabang, berbentuk silindris, dan terdiri atas sejumlah ruas dan buku ruas. Pada buku ruas terdapat tunas yang berkembang menjadi tongkol. Dua tunas teratas berkembang menjadi tongkol yang produktif. Batang memiliki tiga komponen jaringan utama, yaitu kulit (*epidermis*), jaringan pembuluh (*bundles vaskuler*), dan pusat batang (*pith*) (Rinaldi *et al.*, 2009). Daun jagung terletak pada setiap ruas batang dengan kedudukan yang saling berlawanan. Daun tanaman jagung memiliki bentuk memanjang antara pelepah dan helai daun terdapat ligula. Ligula ini berbulu dan berlemak yang mempunyai fungsi mencegah air masuk kedalam kelopak daun dan

batang, tulang daun sejajar dengan ibu tulang daun. Permukaan daun ada yang licin dan ada yang berambut (Purwono dan Hartono, 2011).

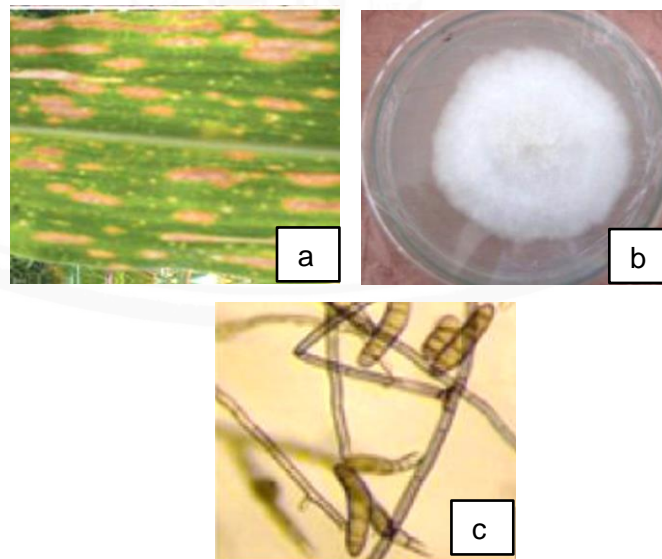
Tanaman jagung mempunyai bunga jantan dan betina yang terpisah (*diklin*) dalam satu tanaman (*monoecious*), bunga jantan tumbuh dibagian pucuk tanaman yang berupa karangan bunga (*inflorescence*). Serbuk sari mempunyai warna kuning dan beraroma khas. Bunga betina tersusun dalam tongkol. Tongkol tumbuh dari buku diantara batang dan pelepah daun. Penyerbukan pada tanaman jagung dapat terjadi bila serbuk sari dari bunga jantan jatuh dan menempel pada rambut tongkol (bunga betina). Penyerbukan yang terjadi pada tanaman jagung adalah penyerbukan silang (*cross pollinated crop*). Penyerbukan terjadi dari serbuk sari tanaman lain, penyerbukan yang serbuk sarinya dari tanaman sendiri sangat jarang terjadi (Purwono dan Hartono, 2011).

Tanaman jagung mempunyai biji yang terdiri atas tiga bagian utama, yaitu pericarp berupa lapisan luar yang tipis dan berfungsi mencegah embrio dari organisme pengganggu serta kehilangan air. Endosperm sebagai cadangan makanan yang mencapai 75% dari bobot biji yang mengandung 90% pati dan 10% protein, mineral, minyak, dan lainnya. Embrio (lembaga) merupakan calon tanaman yang terdiri atas plumule akar radikal, scutelum, dan koleoptil (Subekti, 2010).

2.2. Patogen *Helminthosporium turcicum*

Penyakit hawar daun pada tanaman jagung disebabkan oleh patogen *Helminthosporium turcicum*. Klasifikasi dari *Helminthosporium turcicum* adalah sebagai berikut: Kingdom Fungi, Divisi Amastigomyceta, Kelas Deuteromycetes, Ordo Hypales, Famili Dematiaceae, Genus *Helminthosporium*, Spesies *Helminthosporium turcicum* (Pass.) (Alexopoulos dan Mims, 1979). Tanaman jagung yang terserang menampilkan gejala berupa munculnya bercak berwarna coklat pada permukaan daun dengan ukuran panjang 5-15 cm dan lebar 1-2 cm. Jamur ini mempunyai konidiofor tegak, kuat dan berwarna coklat yang keluar dari mulut daun dalam kelompok dengan bentuk lurus. Konidium seperti kumparan seperti gada panjang, agak bengkok serta memiliki sekat banyak yang berwarna coklat. Konidium jamur ini berdinding tebal dan mempunyai hilum menonjol dengan jelas. Terkadang konidium lurus atau agak melengkung, jorong ataupun terbalik (Semangun, 1991). Karakteristik secara morfologi dari jamur *H. turcicum* yaitu memiliki koloni berwarna putih, tekstur permukaan dan bentuk tepi koloni berserabut, serta mempunyai hifa bersekat (Kusumadewi *et al.*, 2014). Terjadinya

sporulasi *H. turcicum* di lapang pada permukaan daun yang telah terinfeksi. Spora lepas terbawa angin dan hinggap pada tanaman yang lainnya. Spora beradhesi, melakukan penetrasi awal, kemudian membentuk bercak dan berkembangbiak. Siklus hidup jamur ini berlangsung selama 2 hingga 3 hari. Jamur ini mempunyai suhu optimum pertumbuhan sekitar 20°C hingga 30°C. Tanaman jagung yang diusahakan pada awal dan akhir musim hujan dapat mendukung perkembangan jamur ini. Tanaman berumur 20 hari terinfeksi dengan intensitas 25%, akan berpotensi menimbulkan kerusakan yang tinggi terutama pada jagung yang ditanam pada awal musim hujan. Inang alternatif dari jamur ini yaitu spesies rerumputan yang dominan ditemukan pada areal pertanaman jagung sehingga dapat menjadi sumber inokulum awal yang penting, sehingga jamur ini selalu ditemukan pada setiap musim tanam (Pakki, 2005). Curah hujan yang rendah (6–16,50 mm/bulan) pada musim kemarau, intensitas penyakit hawar daun sangat rendah dibanding pada musim hujan dengan curah hujan 210–480 mm/bulan. Perkembangan penyakit tersebut berkaitan dengan suhu dan kelembapan. Pada musim kemarau, suhu udara meningkat dan kelembapan pada siang hari menurun. Sebaliknya pada musim hujan suhu siang hari lebih rendah dan stabil serta kelembapan cenderung lebih tinggi dengan variasi tidak ekstrim. Kondisi tersebut mengakibatkan sporulasi jamur meningkat atau spora di udara cukup tersedia sehingga peluang terjadinya infeksi cukup besar. Akibatnya intensitas serangan selalu lebih tinggi pada musim hujan dibanding musim kemarau (Sudjono, 1990).



Gambar 1. Kenampakan jamur *H. turcicum*, a) gejala pada daun jagung yang terinfeksi *H. turcicum*, b) koloni jamur *H. turcicum* pada media PDA, dan c) konidia *H. turcicum* (Kusumadewi *et al.*, 2014)

2.3. Bakteri Antagonis Tanaman

Penyakit tanaman harus dikendalikan untuk menjaga kualitas dan kelimpahan makanan, pakan, dan serat yang dihasilkan oleh petani di seluruh dunia. Salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan manusia yaitu pengendalian secara biologis (Pal *et al.*, 2006). Salah satu pengendalian secara biologis menggunakan mikroba antagonis. Bakteri antagonis dilaporkan dapat menekan patogen pada tumbuhan secara alamiah. Sejumlah mikroorganisme telah dilaporkan dalam berbagai penelitian ternyata efektif sebagai agens pengendalian hayati hama dan penyakit tumbuhan, diantaranya adalah dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Pantoea* (Babu dan Thind, 2005). Beberapa bakteri telah dilaporkan mampu dalam berperan sebagai agens antagonis patogen tanaman, yaitu kelompok *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Bakteri antagonis biasanya mengeluarkan zat antibiotik yang dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan suatu jenis patogen (Wardhika *et al.*, 2014).

Mekanisme bakteri antagonis dalam mengendalikan patogen tanaman menurut Sharma *et al.* (2013) adalah sebagai berikut :

1. Kompetisi. Mikroorganisme bertahan hidup di habitat alami mereka dengan cara bersaing ruang, mineral dan nutrisi untuk berkembang biak. Mekanisme kompetisi telah memainkan peran penting dalam biokontrol spesies *Fusarium* dan *Phytium* oleh beberapa strain *Pseudomonas*.
2. Antibiosis. Antibiosis merupakan proses antagonis mengeluarkan senyawa metabolit, agens litik, enzim, senyawa racun, dan antibiotik dalam mengendalikan patogen. Antibiosis memainkan peran penting dalam kontrol biologi.
3. Parasitisme. Parasitisme terjadi ketika antagonis menyerang patogen dengan mengeluarkan enzim kitinase, selulosa, dan enzim litik lainnya.

2.4. Bakteri Sumber Air Panas

Sumber air panas merupakan salah satu hasil aktivitas geotermal (Yani, 2003). Air panas mengandung kadar mineral yang tinggi seperti sulfur dan kalsium. Sumber air panas memiliki pH asam sampai alkali. Air panas yang keluar mengandung hidrogen sulfat, karbon dioksida, senyawa-senyawa karbon organik dengan berat molekul rendah, metana, hidrogen, amonia dan elemen-elemen garam seperti sulfur, besi, karbonat fosfor, bikarbonat dan sebagainya (Brock, 1986).

Muharni (2010) telah berhasil menemukan bakteri *Bacillus sp* dari air panas Danau Ranau Sumatera Selatan. Kurniawan (2011) telah menemukan bakteri

Bacillus sp dari sumber air panas Semurup Kabupaten Kerinci, Jambi. Asnawi (2006) telah berhasil mengisolasi beberapa genus bakteri dari air panas Pacet, Jawa Timur, yaitu *Bacillus sp*, *Thermus sp*, *Acetogenium sp*, *Pseudomonas sp*. dan *Sulfobacillus sp*.

Aanniz *et al.* (2015) telah berhasil menemukan sebanyak 119 isolat bakteri *B. licheniformis*, 44 *B. aerius*, 33 *B. sonorensis*, 8 *B. subtilis*, 8 *B. amyloliquefaciens*, 3 *B. tequilensis*, 3 *B. pumilus*, 19 *Bacillus sp*, 4 *A. Pallidus*, dan 2 *Aeribacillus sp* dari sumber air panas di Maroko. Abou (2007) mengidentifikasi sebanyak 13 bakteri milik genus *Bacillus* (*B. licheniformis* dan *B. pumilus*) dari beberapa sumber air panas Yordania. Maugeri *et al.* (2001) mengisolasi 87 bakteri genus *Bacillus* dari Italia. Kawasaki *et al.* (2012) mengisolasi 12 bakteri milik genus *Bacillus* dari sumber air panas salin di Jepang. Kehadiran strain milik *A. pallidus* dari sumber air panas dilaporkan oleh Chamkha *et al.* (2008) dan Savas *et al.* (2009). Bakteri *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* dan *B. subtilis* telah diisolasi dari sumber air panas di Turki, Bulgaria, Islandia, Yordania, Mesir (Meintanis *et al.*, 2008; Minana *et al.*, 2010; Cihan *et al.*, 2012).

Marga *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang menarik karena setiap jenis mempunyai kemampuan yang berbeda-beda diantaranya adalah sebagai berikut: (1) mampu mendegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa, hidrokarbon dan agar; (2) mampu menghasilkan antibiotik; (3) berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi; (4) pengikat nitrogen; (5) pengoksidasi selenium; (6) pengoksidasi dan pereduksi mangan (Mn); (7) bersifat khemolitotrof, aerob atau fakultatif anaerob, asidofilik atau alkalifilik, psikoprifilik, atau termofilik (Norris *et al.*, 1981).

3. METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan bulan Oktober 2018 di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan jurusan HPT, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Sampel air didapatkan dari sumber air panas di Tulungrejo, Bumiaji, Kota Batu, Jawa Timur.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini antara lain cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 100 ml, jarum ose, stik L, timbangan analitik, kompor, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), *autoclave*, bunsen, korek api, botol media, *cover glass*, *object glass*, pipet tetes, spatula, erlenmeyer 250 ml, erlenmeyer 500 ml, inkubator, mikropipet, mikroskop, peralatan tulis dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini antara lain tisu steril, spirtus, kapas, plastik petromax, plastik *wrap*, aluminium foil, *bluetip*, tube 1ml, media *Nutrient Agar* (NA), media *Potatos Dextrose Agar* (PDA), aquades, *water agar*, KOH 3%, alkohol 70%, alkohol 96%, kristal violet, iodin, safranin, NaCl, pepton, KH_2PO_4 , NaOCl 5%, *bromontymol blue* 1%, H_2O_2 3%, alkohol 70%, alkohol 96%, *lactophenol cotton blue*, *malachite green*, minyak immersi, kertas label, kertas saring, daun jagung yang terinfeksi *H. turcicum*, dan sampel air panas suhu 50°C.

3.3. Pelaksanaan Penelitian

3.3.1. Pengambilan Sampel Air Panas

Sampel air panas yang digunakan untuk perbanyak bakteri dalam penelitian ini yaitu berasal dari sumber air panas suhu 50°C yang diperoleh di Tulungrejo, Bumiaji, Kota Batu, Jawa Timur.

3.3.2. Pembuatan Media

Terdapat 2 jenis media yang digunakan dalam penelitian ini antara lain media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dari Merck, dan NA (*Nutrient Agar*) dari Merck. Media PDA digunakan untuk perbanyak patogen tanaman. Dibutuhkan 39 gram PDA untuk 1000 ml media. Sedangkan media NA merupakan media yang digunakan untuk perbanyak bakteri. Dibutuhkan 20 gram NA untuk 1000 ml media. Cara pembuatannya yaitu melarutkan media dengan aquades steril, kemudian dipanaskan dan diaduk dengan spatula hingga benar-benar larut.

Setelah itu media dimasukkan kedalam botol media steril, lalu disterilkan menggunakan *autoclave* hingga suhu 121°C. Kemudian media yang telah di sterilisasi, dituang kedalam masing-masing cawan petri yang telah di sterilisasi.

3.3.3. Isolasi dan Purifikasi *H. turcicum*

Patogen yang akan digunakan untuk uji antagonis yaitu *H. turcicum* yang merupakan patogen hawar daun pada tanaman jagung. Sampel patogen ini diambil dari salah satu lahan jagung yang terdapat di Desa Tegalondo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur. Pengambilan sampel ini dapat dilakukan dengan cara daun jagung yang menunjukkan gejala *H. turcicum*. Isolasi dilakukan dengan memotong bagian yang terinfeksi setengah sakit dan setengah sehat. Selanjutnya disterilisasi menggunakan NaOCl 5%, alkohol 70% dan dibilas menggunakan aquades steril 2 kali masing-masing 1 menit lalu dikeringkan di atas tissue steril. Selanjutnya potongan bagian daun tersebut diisolasi pada media PDA padat yang telah steril dan diinkubasi pada suhu ruang (Pasaribu *et al.*, 2016; Wulandari *et al.*, 2014; Zuhria *et al.*, 2016; Shofiana *et al.*, 2015). Dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni jamur patogen *H. turcicum*. Hasil isolasi yang telah tumbuh hifa atau miselium dilakukan purifikasi yang berfungsi untuk memperoleh biakan murni. Purifikasi ini dilakukan dengan cara mengambil hifa yang telah tumbuh dengan menggunakan jarum ose, kemudian diletakkan dalam media PDA baru yang telah disterilisasi dengan *autoclave* (Muhibuddin *et al.*, 2011; Sastrahidayat *et al.*, 2011). Kemudian dilakukan identifikasi patogen ini dilakukan dengan cara melihat kenampakan makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis menggunakan parameter pengamatan yaitu bentuk koloni, warna koloni, tekstur koloni, dan elevasi koloni (Muhibuddin *et al.*, 2018; Nurhalimah *et al.*, 2014). Identifikasi mikroskopis ini menggunakan preparat yang berisi patogen dan dilihat menggunakan mikroskop. Preparat ini dibuat dengan cara mengambil hifa dari hasil purifikasi sebanyak satu jarum ose, diletakkan pada *object glass*, lalu ditetesi alkohol dan *lactophenol cotton blue*, kemudian difiksasi dengan dilewatkan diatas api bunsen. Tujuan dari fiksasi yaitu untuk mematikan sel tanaman tanpa merusak struktur jaringan tanaman (Aliah *et al.*, 2015). Patogen yang telah teridentifikasi sebagai *H. turcicum* disimpan pada media PDA miring untuk stok murni.

3.3.4. Isolasi Bakteri

Media yang digunakan untuk isolasi bakteri ini yaitu media NA (*nutrient agar*) (Kusumaningati *et al.*, 2013). Isolasi bakteri ini diawali dengan pembuatan

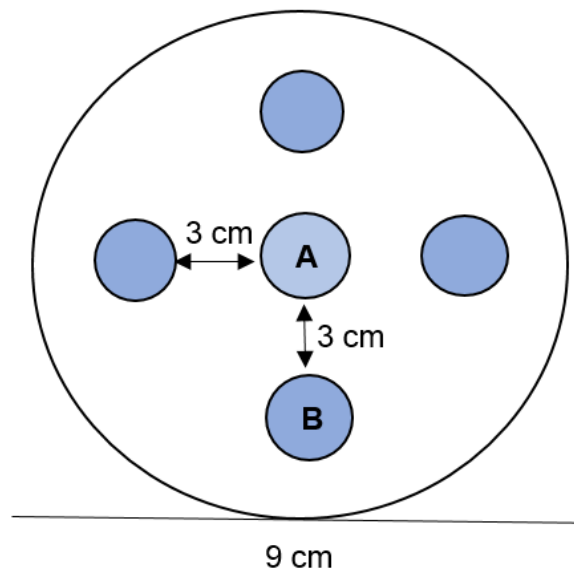
suspensi menggunakan pengenceran bertingkat yaitu mengambil sampel air panas suhu 50°C sebanyak 1 ml dan dilarutkan kedalam 9 ml aquades steril. Setelah itu dihomogenkan dengan vortex. Kemudian diambil 1 ml larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril dan dilakukan begitu seterusnya hingga pengenceran 10⁻⁵. Pada pengenceran terakhir, diambil 0,1 ml suspensi bakteri dan dituang ke dalam cawan petri yang telah berisi media NA padat, kemudian diratakan dengan menggunakan stik L. Isolasi bakteri ini menggunakan metode sebar atau *spread plate*. Kegiatan isolasi bakteri ini dilakukan di LAFC untuk menghindari kontaminasi. Setelah itu, diinkubasi selama ±24-48 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati pertumbuhan koloni bakteri pada media dan dilakukan purifikasi.

3.3.5. Purifikasi Bakteri

Purifikasi mempunyai fungsi untuk memperoleh biakan murni bakteri yang akan digunakan untuk penelitian. Purifikasi ini dilakukan dengan metode *streak-plate* atau metode gores. Media yang digunakan untuk purifikasi ini yaitu media NA dalam bentuk padat dan telah disterilkan (Kusumaningati *et al.*, 2013). Purifikasi dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dari hasil isolasi sebanyak satu jarum ose, kemudian digoreskan pada media NA yang telah padat. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam untuk mendapatkan koloni tunggal. Biakan murni yang telah berhasil didapatkan disimpan kedalam media cair untuk stok murni bakteri.

3.3.6. Seleksi Bakteri Antagonis

Bakteri yang digunakan untuk seleksi ini yaitu isolat murni yang telah didapat dari isolasi, setelah itu dilakukan seleksi untuk mendapat bakteri yang berpotensi menjadi antagonis patogen *H. turcicum*. Seleksi dilakukan dengan cara membuat suspensi yaitu mengambil 2 ose isolat murni bakteri yang akan diuji kemudian dimasukkan kedalam *tube* yang berisi 1 ml aquades steril kemudian dihomogenkan. Kemudian memasukkan kertas saring steril kedalam suspensi tersebut, setelah itu mengeringkan kertas saring kurang lebih 4 jam diatas tisu steril. Lalu kertas saring yang telah kering ditanam pada media PDA padat steril dengan metode 4 kuadran dan pada tengah media ditanam jamur *H. turcicum*. Isolat bakteri yang mempunyai kemampuan antagonis ditandai dengan munculnya zona bening pada media.



Gambar 2. Seleksi bakteri antagonis pada cawan petri, a) jamur *H. turcicum*, b) bakteri yang akan diujikan

3.3.7. Uji Hipersensitif

Pengujian hipersensitif ini mempunyai fungsi yaitu untuk mengetahui isolat bakteri yang ditemukan termasuk kedalam bakteri patogen atau non patogen pada tanaman. Pembuatan suspensi untuk uji hipersensitif yaitu memasukkan aquades steril sebanyak 1 ml kedalam tube lalu ditambahkan sebanyak 2 ose bakteri yang akan diuji kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Setelah itu suspensi bakteri ini diinfiltrasikan pada bagian bawah permukaan daun tembakau menggunakan jarum suntik. Untuk kontrol diinfiltrasi hanya menggunakan aquades steril saja untuk pembandingan. Mengamati gejala yang muncul pada daun tembakau tersebut, dengan membandingkan antara kontrol dan yang menggunakan bakteri uji. Jika kondisi daun yang diinfiltrasi bakteri sama dengan kontrol dan tidak menunjukkan gejala nekrosis, maka bakteri tersebut termasuk kedalam bakteri non patogen. Sedangkan, jika yang diinfiltrasi bakteri menunjukkan gejala nekrosis, maka bakteri termasuk kedalam bakteri patogen tanaman.

3.3.8. Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri ini dilakukan dengan cara melihat karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia. Identifikasi ini menggunakan buku acuan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001).

a. Uji Gram

1. KOH 3%

Pengujian KOH 3% ini dilakukan untuk menentukan bakteri yang telah ditemukan tergolong gram positif atau gram negatif. Cara kerja pengujian ini yaitu dengan meletakkan satu ose bakteri pada gelas objek gelas steril yang telah ditetesi KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri tersebut ditarik menggunakan jarum ose secara cepat dan berulang-ulang. Bakteri yang tergolong gram negatif, maka ketika jarum ose diangkat akan tampak lendir yang juga ikut terangkat. Sebaliknya, jika bakteri tergolong gram positif, maka tidak akan terbentuk lendir dan tetap encer suspensi tersebut.

2. Pewarnaan Gram

Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose diletakkan pada gelas objek steril dan diratakan menggunakan jarum ose. Ditetesi dengan aquades, kemudian dikeringkan diatas bunsen. Ditetesi dengan kristal violet 5% secukupnya, dibiarkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Ditetesi iodine, dibiarkan 1 menit kemudian disemprot alkohol 70% dan dibilas air mengalir. Ditetesi safranin, dibiarkan 1 menit kemudian dicuci dan dikeringkan. Gelas objek diamati dibawah mikroskop. Gram positif ditandai dengan warna ungu gelap, sementara gram negatif ditandai dengan warna merah.

3. Pewarnaan Spora

Uji pewarnaan spora ini dilakukan untuk bakteri yang tergolong kedalam gram positif. Uji pewarnaan spora digunakan untuk mengamati endospora pada bakteri yang akan diujikan. Bakteri yang telah berumur 24 jam diambil satu ose dan diletakkan kedalam gelas objek steril yang telah diberi aquades steril, kemudian dikeringkan diatas api bunsen. Diberi *malachite green* hingga rata kemudian didiamkan 2-3 menit, setelah itu dicuci dengan aquades dan dikeringkan. Kemudian ditetesi safranin, didiamkan selama 30 detik, setelah itu dicuci dengan aquades dan dikeringkan. Dilakukan pengamatan spora dengan menggunakan mikroskop yang mana sel bakteri akan berwarna merah, selain itu jika sel membentuk spora maka spora akan berwarna hijau.

b. Uji Oksidatif-Fermentatif

Pengujian OF ini dilakukan untuk mengetahui bakteri yang telah diperoleh termasuk kedalam bakteri anaerob fakultatif atau bakteri aerob. Bahan digunakan

dalam pembuatan media OF untuk 1000 ml media meliputi pepton 2 g, NaCl 5 g, KH_2PO_4 0,3 g, agar 3,0 g dan *bromontymol blue* 1% 3,0 ml. Bahan-bahan tersebut dilarutkan kedalam suatu gelas ukur dan diukur hingga pH 7,1, setelah itu media dituang kedalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 4,5 ml per tabung. Lalu ditutup menggunakan kapas steril dan *wrapping*. Selanjutnya Media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C. Setelah steril, masing-masing tabung reaksi ditambahkan larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml. Selanjutnya menginokulasikan bakteri yang akan diuji dengan cara menusukkan bakteri dengan jarum ose pada media OF yang telah steril. Kemudian inokulasi ini dilakukan dengan menambahkan *water* agar 1 ml sebagai penutup untuk kondisi anaerob pada tabung pertama, dan dibiarkan tanpa *water* agar untuk kondisi aerob untuk tabung kedua. Setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari dan dilakukan pengamatan perubahan warna yang terjadi. Jika media OF yang tanpa ditutup menggunakan *water* agar berubah warna menjadi kuning dan media pada tabung lain yang diberi *water* agar tetap berwarna biru maka bakteri tersebut tergolong kedalam bakteri aerob (oksidatif). Jika kedua media pada tabung dari biru berubah menjadi warna menjadi kuning, maka bakteri tersebut tergolong kedalam bakteri anaerob (fermentatif). Sebaliknya jika media dikedua tabung tidak berubah berarti bakteri tidak memecah glukosa dalam medium.

c. Uji Pigmen Fluorescent pada Media King's B

Uji pigmen fluorescent ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang ditemukan menghasilkan pigmen fluorescent. Pengujian ini dilakukan pada media King's B yaitu dengan cara menggoreskan bakteri dengan umur 24 jam pada media tersebut, setelah itu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Setelah itu dilakukan pengamatan dibawah sinar *ultra violet* (UV). Jika bakteri tersebut mempunyai reaksi positif, maka akan berpendar hijau, hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan pigmen fluorescent.

d. Uji Pertumbuhan pada Media YDC

Pengujian pertumbuhan pada media YDC ini untuk mengetahui bakteri yang ditemukan tergolong dalam genus *Pantoea* atau *Erwinia*, jika hasil uji OF menunjukkan reaksi positif. Bahan yang digunakan untuk membuat media YDC 1000 ml yaitu Yeast-extract 10 g, glukosa 20 g, CaCO_3 20 g dan agar 15 g, lalu semua bahan dilarutkan dengan aquades steril 1000 ml. Kemudian media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C. Bakteri yang digunakan untuk pengujian yaitu yang berumur 24 jam, lalu digoreskan pada media YDC dan

diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Setelah itu dilakukan pengamatan warna pada koloni yang tumbuh media tersebut. Jika menunjukkan reaksi positif dan koloni tumbuh dengan warna kuning, maka bakteri tergolong genus *Pantoea*, sedangkan apabila koloni putih tergolong dalam genus *Erwinia*. Pengujian pada media YDC ini juga dilakukan setelah pengujian pigmen fluorescent yang hasilnya negatif. Jika bakteri tumbuh pada media menunjukkan reaksi positif dan koloni berwarna kuning, maka bakteri tergolong dalam genus *Xanthomonas* atau *Xylophilus*, yang nantinya akan dilakukan uji selanjutnya untuk membuktikan genus dari salah satu bakteri tersebut. Jika bakteri yang tumbuh berwarna putih, maka bakteri tergolong dalam genus *Agrobacterium*, *Acidovorax*, *Burkholderia*, atau *Ralstonia*, lalu akan dilakukan uji selanjutnya untuk membuktikan genus dari salah satu bakteri tersebut.

e. Uji Katalase

Uji Katalase digunakan untuk mengetahui bakteri yang diperoleh dapat menghasilkan enzim katalase. Cara pengujian ini yaitu mengambil satu ose koloni bakteri dan diletakkan gelas objek steril, ditetesi dengan H₂O₂ 3% sebanyak 2 tetes. Bakteri yang menunjukkan reaksi positif maka dapat menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan munculnya gelembung. Hal ini menunjukkan bakteri mampu mereduksi H₂O₂.

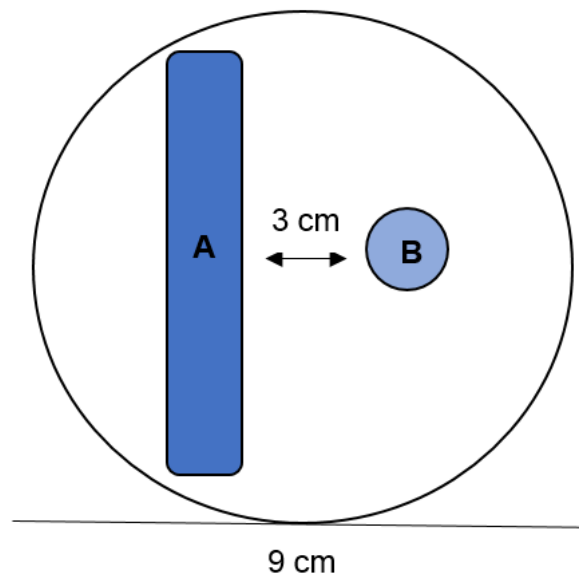
3.3.9. Uji Antagonis Secara *In Vitro*

Uji antagonis secara *in vitro* ini dilakukan dengan menggunakan metode oposisi yaitu dengan cara menumbuhkan isolat patogen *H. turcicum* berhadapan dengan isolat bakteri yang akan diuji dengan jarak antara kedua isolat ±3 cm pada media PDA di cawan petri yang berdiameter 9 cm. Kemudian dihitung hasil penekanan pertumbuhannya oleh bakteri uji dengan menggunakan rumus. Uji antagonis dapat dilihat pada gambar 3.

Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 8 perlakuan yaitu 7 bakteri antagonis yang ditemukan, dengan 1 kontrol yaitu menggunakan aquades. Kontrol ini bertujuan untuk mengetahui aquades tersebut mempunyai efek terhadap patogen. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Rancangan perlakuan uji penghambatan jamur dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan uji antagonis

Kode	Perlakuan
P0	Kontrol dengan aquades
P1	Antagonis bakteri a terhadap <i>H. turcicum</i>
P2	Antagonis bakteri b terhadap <i>H. turcicum</i>
P3	Antagonis bakteri c terhadap <i>H. turcicum</i>
P4	Antagonis bakteri d terhadap <i>H. turcicum</i>
P5	Antagonis bakteri e terhadap <i>H. turcicum</i>
P6	Antagonis bakteri f terhadap <i>H. turcicum</i>
P7	Antagonis bakteri g terhadap <i>H. turcicum</i>

Gambar 3. Uji antagonis secara *in vitro*, a) bakteri yang terseleksi, b) jamur *H. turcicum*

3.4. Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan dalam kegiatan penelitian ini meliputi :

1. Karakteristik Bakteri Antagonis dari Sumber Air Panas

Karakteristik bakteri antagonis yang telah diperoleh, diidentifikasi secara morfologi, fisiologi, dan biokimia menggunakan buku acuan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001).

2. Tingkat Penghambatan Bakteri Antagonis terhadap Patogen

Tingkat penghambatan bakteri antagonis terhadap patogen menggunakan variabel pengamatan yaitu jari-jari pertumbuhan patogen *H. turcicum*. Pengamatan pertumbuhan ini dilakukan mulai dari hari pertama hingga miselium jamur

menyentuh kertas saring pada perlakuan kontrol. Persentase daya hambat bakteri terhadap patogen dihitung menggunakan rumus yang dikembangkan oleh Abidin (2015):

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

Keterangan:

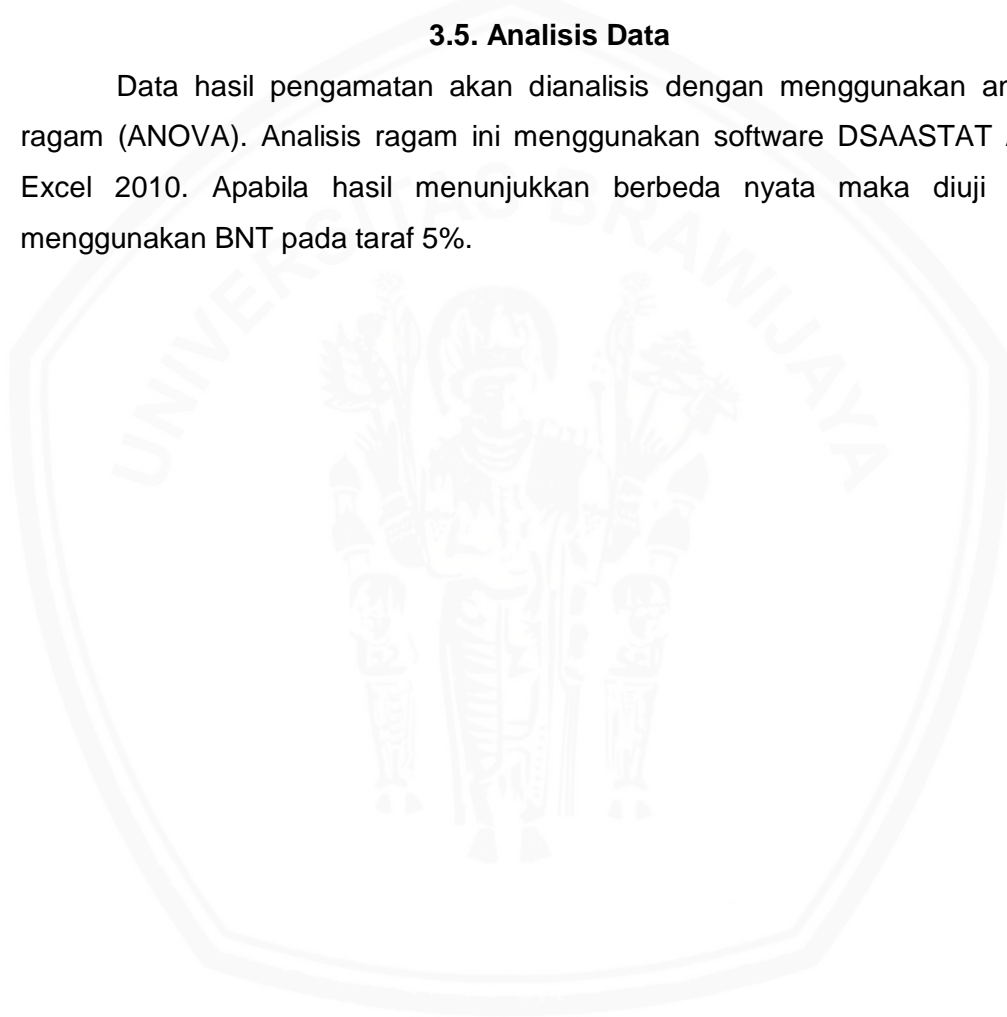
I : Persentase penghambatan

C : Jari-jari miselium jamur patogen pada perlakuan kontrol

T : Jari-jari miselium jamur patogen pada perlakuan non kontrol

3.5. Analisis Data

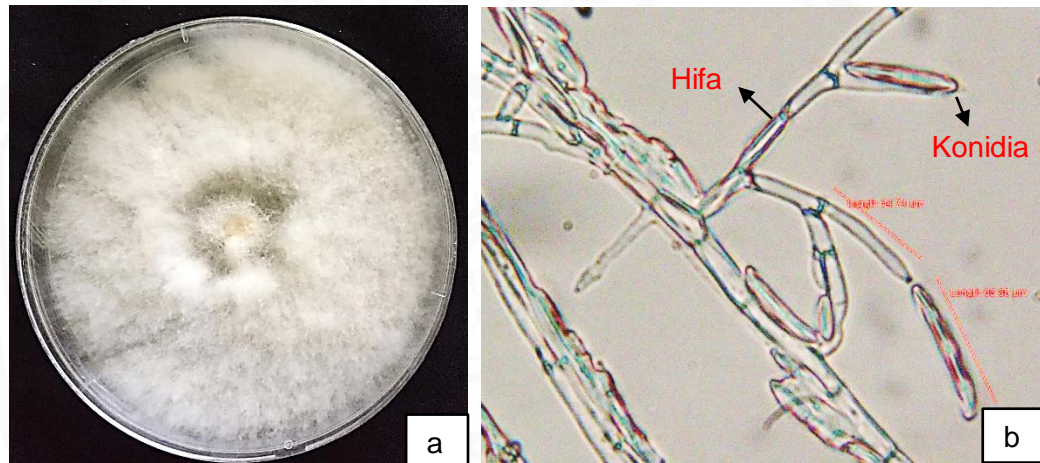
Data hasil pengamatan akan dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). Analisis ragam ini menggunakan software DSAASTAT Adins Excel 2010. Apabila hasil menunjukkan berbeda nyata maka diuji lanjut menggunakan BNT pada taraf 5%.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi dan Purifikasi *H. turcicum*

Patogen yang akan digunakan untuk uji antagonis adalah *H. turcicum* yang merupakan patogen penyebab penyakit hawar daun pada tanaman jagung. Gejala visual daun tanaman jagung yang terserang patogen *H. turcicum* yaitu muncul bercak kecil berbentuk oval pada awalnya, kemudian semakin memanjang berbentuk ellips, dan berkembang menjadi nekrotik yang disebut hawar, warnanya hijau keabu-abuan atau coklat. Panjang hawar 2,5 hingga 15 cm, bercak muncul dimulai pada daun yang terbawah kemudian berkembang menuju daun atas (Prasetyo *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil identifikasi dapat diketahui bahwa isolat jamur yang telah diperoleh menunjukkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis sesuai dengan *H. turcicum*.

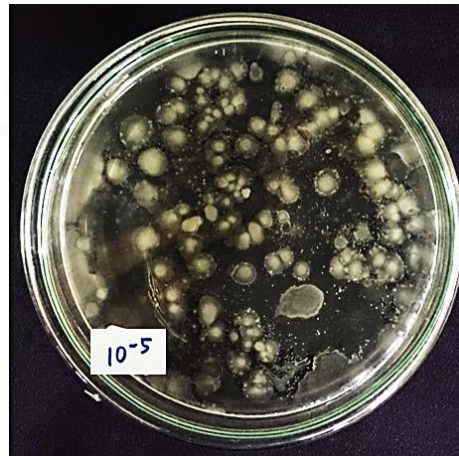


Gambar 4. Kenampakan jamur *H. turcicum*, a) Koloni *H. turcicum* pada media PDA umur 7 HSI, b) Morfologi hifa dan konidia jamur *H. turcicum* pada perbesaran 400x

Kenampakan makroskopis jamur *H. turcicum* memiliki miselium berwarna putih, tekstur permukaan dan bentuk tepi koloni berserabut serta mempunyai pola penyebaran konsentris. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kusumadewi *et al.* (2014) bahwa jamur *H. turcicum* mempunyai kenampakan makroskopis dengan ciri-ciri miselium jamur berwarna putih, tekstur permukaan dan bentuk tepi koloni berserabut. Pengamatan secara mikroskopis jamur *H. turcicum* yaitu mempunyai hifa bersekat, memiliki bentuk konidia melengkung serta bersekat. Konidiofor *H. turcicum* bersekat dan tidak bercabang. Hal ini sesuai dengan Kusumadewi *et al.* (2014) bahwa jamur *H. turcicum* mempunyai hifa bersekat, bentuk konidiofor bersekat, tidak bercabang, bentuk konidia dengan ciri lonjong dan bersekat.

4.2. Isolasi dan Purifikasi Bakteri dari Sumber Air Panas

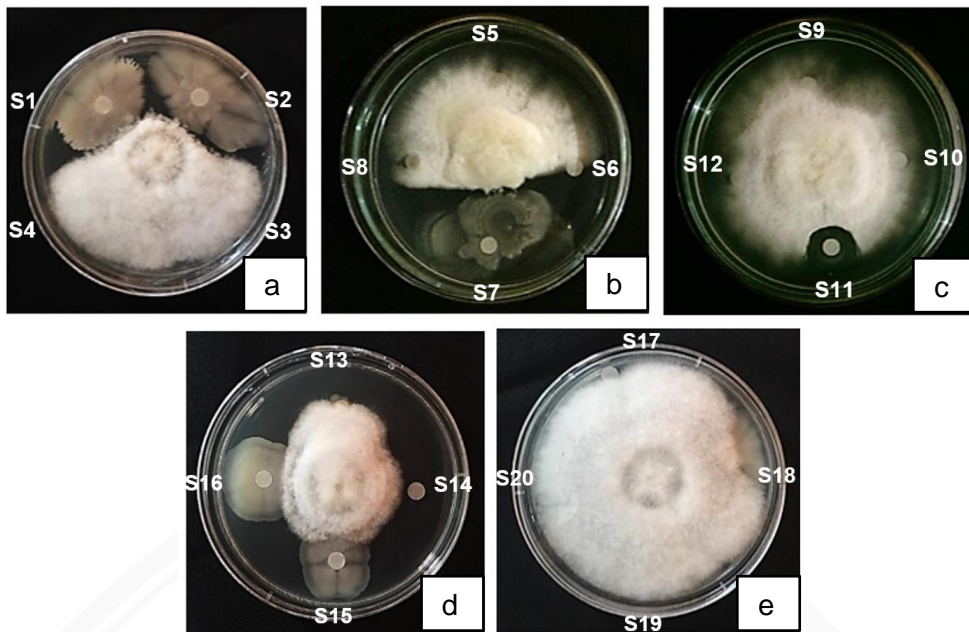
Berdasarkan hasil isolasi dari sumber air panas Tulungrejo, Bumiaji, Kota Batu diperoleh sebanyak 20 isolat bakteri yang berbeda. Isolat bakteri yang diperoleh mempunyai kenampakan koloni berbeda meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, warna koloni, dan tepi koloni. Perbedaan kenampakan koloni ini dapat menentukan jenis bakteri yang berbeda juga. Menurut Sabdaningsih *et al.*, (2013) koloni bakteri mempunyai bentuk bergerigi, rata atau berombak, selain itu koloni bakteri berwarna putih, krem atau *orange*. Dari 20 isolat bakteri yang diperoleh kemudian dipurifikasi pada media NA untuk mendapatkan kultur murni dari masing-masing bakteri hasil isolasi. Hasil isolasi bakteri dari sumber air panas dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Koloni bakteri-bakteri hasil isolasi dari sumber air panas pada pengenceran 10^{-5}

4.3. Seleksi Bakteri yang Berpotensi Antagonis Terhadap *H. turcicum*

Diperoleh sebanyak 20 isolat bakteri dari hasil isolasi yang kemudian akan dilakukan seleksi untuk mengetahui kemampuan antagonis bakteri terhadap patogen *H. turcicum*. Daya antagonis bakteri ditandai dengan adanya zona bening atau zona hambat diantara bakteri yang diuji dengan patogen *H. turcicum*. Dari hasil seleksi ini akan diketahui kemampuan antagonis dari masing-masing bakteri yang diuji. Hasil bakteri yang telah terseleksi dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil seleksi bakteri antagonis pada media PDA, a) isolat bakteri S1, S2, S3, S4, b) isolat bakteri S5, S6, S7, S8, c) isolat bakteri S9, S10, S11, S12, d) isolat bakteri S13, S14, S15, S16, e) isolat bakteri S17, S18, S19, S20

Setelah dilakukan pengujian seleksi diperoleh 7 bakteri yang mempunyai kemampuan antagonisme terhadap patogen *H. turcicum*, hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat diantara bakteri dan jamur patogen. Menurut Saputra *et al.* (2015) Bakteri yang dapat menghasilkan senyawa penghambatan ditandai adanya zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri antagonis. Zona hambat yang terbentuk ini mengindikasikan bahwa terjadi mekanisme antibiosis dari 7 isolat bakteri uji tersebut. Hasil seleksi bakteri yang mampu menjadi antagonis dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Isolat bakteri yang mampu membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *H. turcicum* pada media PDA

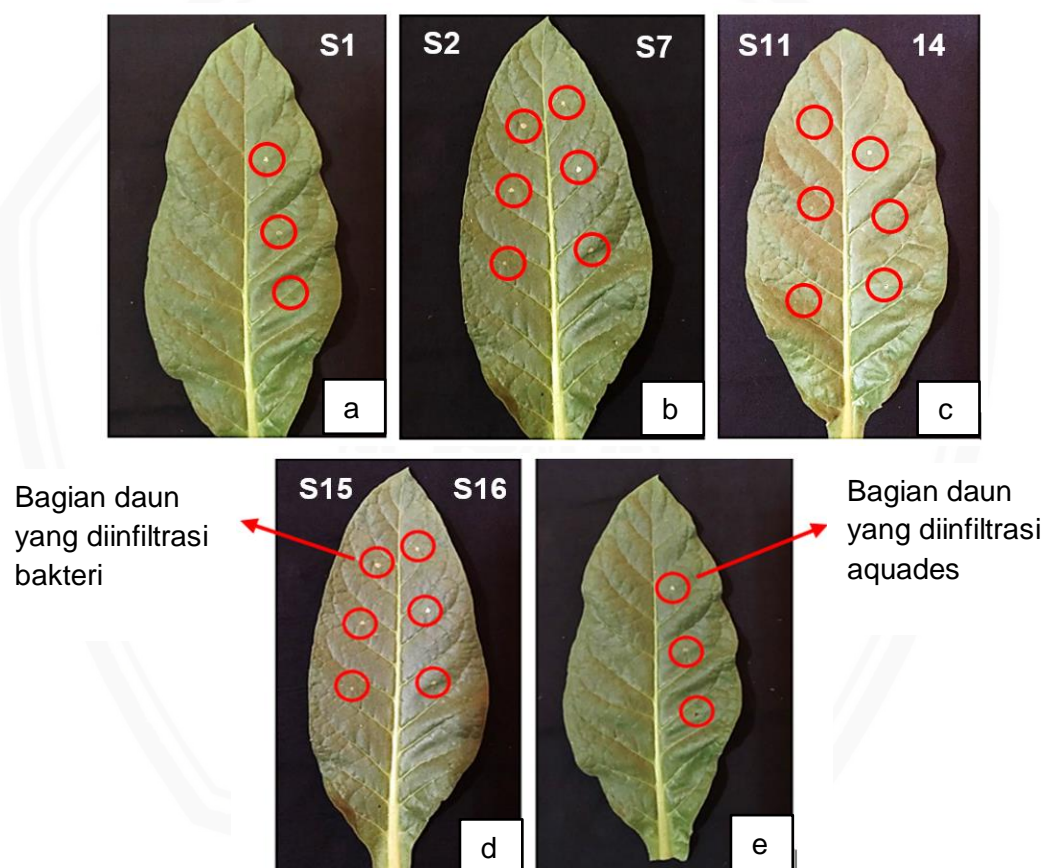
Kode Isolat	Zona hambat	Kode isolat	Zona hambat
S1	+	S11	+
S2	+	S12	-
S3	-	S13	-
S4	-	S14	+
S5	-	S15	+
S6	-	S16	+
S7	+	S17	-
S8	-	S18	-
S9	-	S19	-
S10	-	S20	-

Keterangan: Hasil seleksi bakteri, (+) : reaksi positif, (-) : reaksi negatif

Bakteri yang telah terseleksi ini akan digunakan dalam uji antagonis terhadap patogen *H. turcicum* secara *in vitro*. Isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan patogen *H. turcicum* mempunyai kode S1, S2, S7, S11, S14, S15 dan S16.

4.4. Uji Hipersensitif 7 Isolat Bakteri Hasil Seleksi dari Sumber Air Panas

Uji hipersensitif merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui bakteri yang ditemukan termasuk kedalam patogen atau non patogen pada tanaman. Dari hasil uji hipersensitif, semua isolat bakteri yang telah ditemukan termasuk kedalam bakteri non patogen. Menurut Fanani *et al.* (2015) uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui bakteri tergolong patogen atau non patogen. Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Uji hipersensitif pada daun tembakau, a) Isolat S1, b) Isolat S2, S7, c) Isolat S11, S14, d) Isolat S15, S16, e) Kontrol dengan aquades

Pengujian hipersensitif ini dilakukan dengan menginfiltrasi bakteri kedalam jaringan daun tembakau. Kontrol pada uji ini dilakukan dengan menginfiltrasi aquades steril kedalam jaringan daun. Hasil dari uji hipersensitif ini, ketujuh bakteri yang telah diinfiltrasi ke bagian daun tembakau tidak menunjukkan adanya gejala nekrosis dalam jangka waktu 4 hari sehingga merupakan bakteri non patogen.

Daun yang telah diinfiltrasi bakteri mempunyai kenampakan yang sama dengan kontrol yaitu tidak ditandai dengan munculnya gejala nekrosis pada daun tembakau tersebut. Menurut Klement (1990) gejala hipersensitif akan terlihat pada bagian daun yang diinfiltrasi suspensi bakteri menunjukkan adanya nekrosis dalam waktu 1 hingga 4 hari. Gejala nekrosis ditunjukkan dengan munculnya bercak kekuningan hingga coklat pada daun yang diinfiltrasi menggunakan suspensi bakteri.

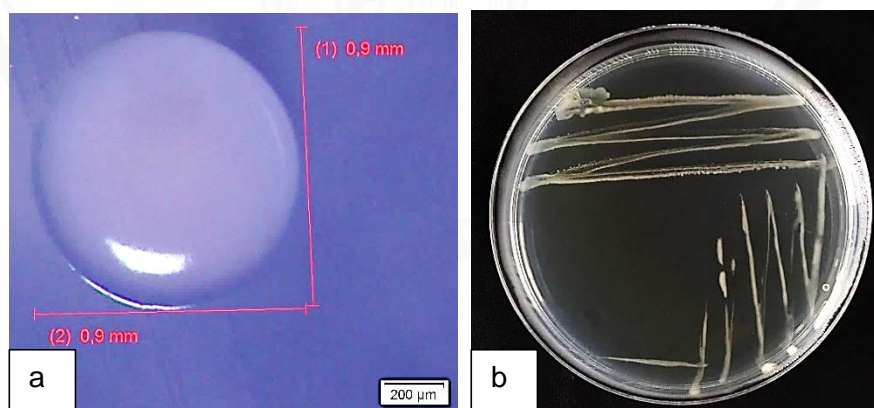
4.5. Karakterisasi Bakteri

Didapatkan sebanyak 7 isolat bakteri yang mampu menghambat patogen *H. turcicum* dilakukan pengamatan morfologi, fisiologi dan biokimia untuk mengetahui karakteristik masing-masing isolat yang diperoleh dengan menggunakan buku acuan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001).

4.5.1. Karakterisasi Morfologi 7 Isolat Bakteri Hasil Seleksi dari Sumber Air Panas

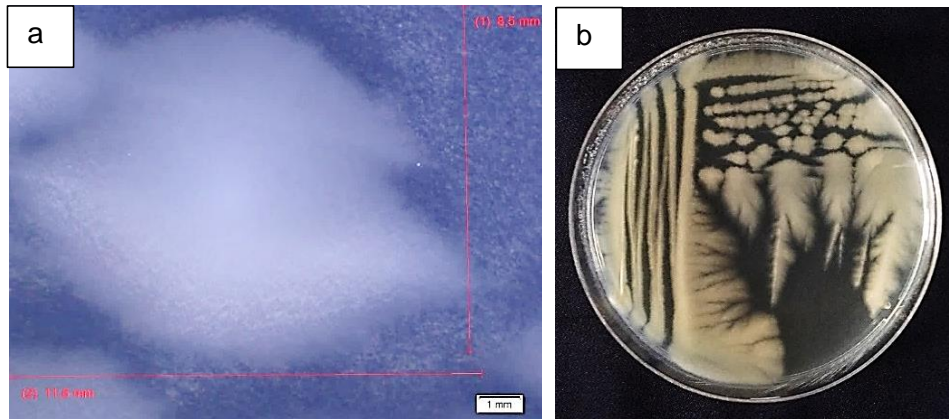
Isolat bakteri yang digunakan untuk pengamatan yaitu yang telah berumur 24-48 jam. Karakterisasi secara morfologi ini dapat diamati melalui koloni tunggal yang tumbuh pada media NA di cawan petri. Isolat bakteri yang diamati ini yaitu yang mempunyai potensi sebagai antagonis patogen *H. turcicum*. Untuk mempermudah dalam identifikasi morfologi ini pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop.

Bakteri S1 memiliki bentuk koloni bulat, permukaan cembung, berwarna putih, dan tepi rata.



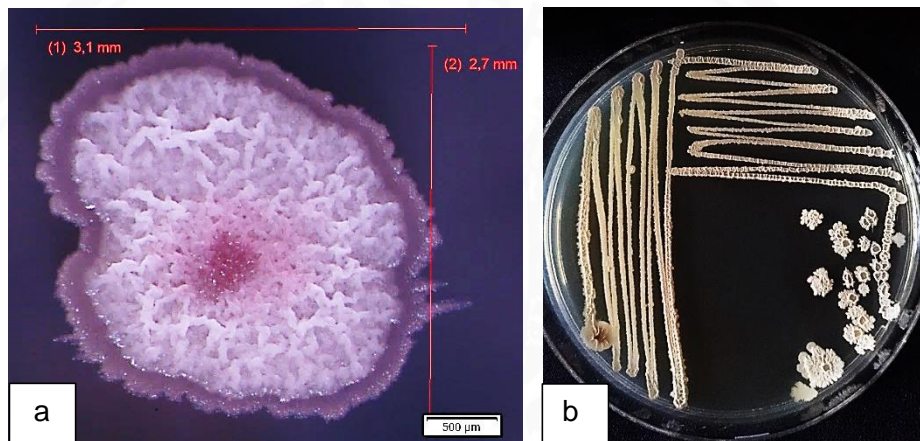
Gambar 8. Koloni bakteri S1 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S1 pada perbesaran 50x, b) Koloni bakteri S1 pada cawan petri

Bakteri S2 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, permukaannya rata, berwarna putih dan tepi tidak rata.



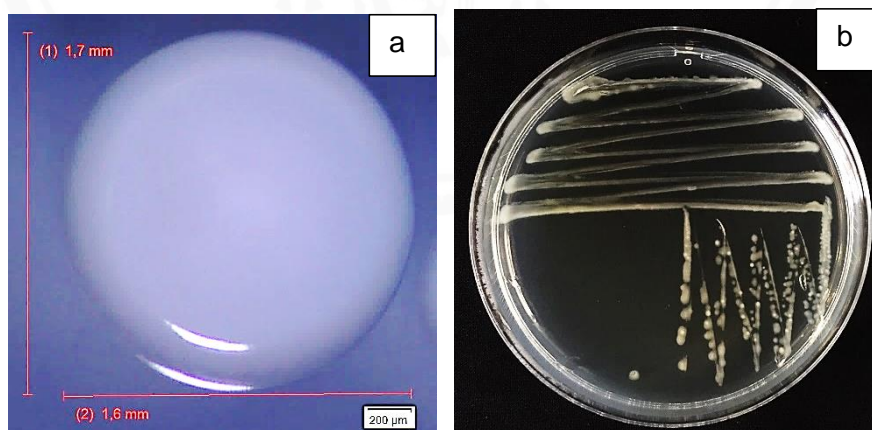
Gambar 9. Koloni bakteri S2 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S2 pada perbesaran 16x, b) Koloni bakteri S2 pada cawan petri

Bakteri kode S7 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, permukaan berombak, warna koloni putih kemerahan pada bagian tengah, dan tepi tidak rata.



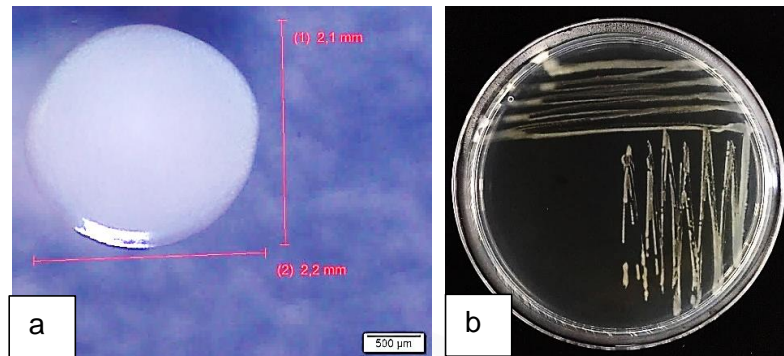
Gambar 10. Koloni bakteri S7 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S7 pada perbesaran 25x, b) Koloni bakteri S7 pada cawan petri

Bakteri S11 memiliki bentuk koloni yaitu bulat, permukaannya cembung, warna koloni yaitu putih, dan tepi rata.



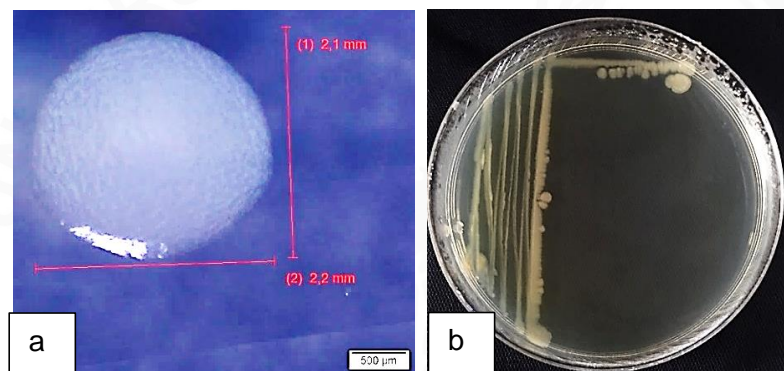
Gambar 11. Koloni bakteri S11 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S11 pada perbesaran 56x, b) Koloni bakteri S11 pada cawan petri

Bakteri S14 memiliki bentuk koloni bulat, permukaan cembung, warna koloni putih, dan tepi rata.



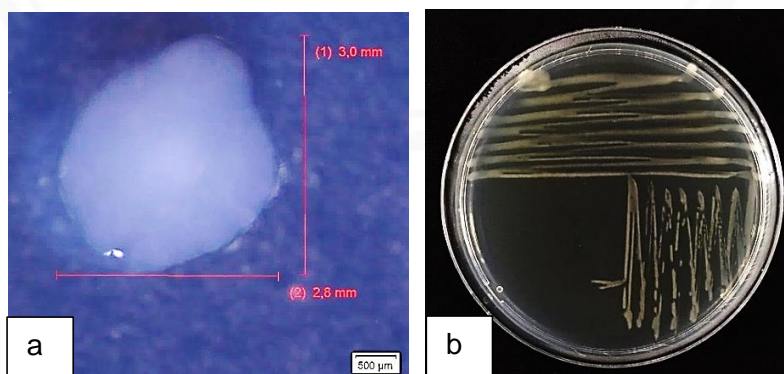
Gambar 12. Koloni bakteri S14 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S14 pada perbesaran 32x, b) Koloni bakteri S14 pada cawan petri

Bakteri S15 memiliki bentuk koloni bulat, permukaannya cembung, berwarna putih, dan tepi rata.



Gambar 13. Koloni bakteri S15 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S15 pada perbesaran 32x, b) Koloni bakteri S15 pada cawan petri

Bakteri S16 memiliki bentuk koloni bulat, permukaan cembung, warna koloni putih, dan tepi tidak rata.



Gambar 14. Koloni bakteri S16 pada media NA umur 2 HSI, a) Koloni tunggal bakteri S16 pada perbesaran 32x, b) Koloni bakteri S16 pada cawan petri

Tabel 3. Karakterisasi secara morfologi 7 isolat bakteri hasil seleksi

Isolat	Karakterisasi morfologi			
	Bentuk	Permukaan	Warna	Tepi
S1	Bulat	Cembung	Putih	Rata
S2	Tidak beraturan	Rata	Putih	Tidak rata
S7	Tidak beraturan	Berombak	Putih Kemerahan	Tidak rata
S11	Bulat	Cembung	Putih	Rata
S14	Bulat	Cembung	Putih	Rata
S15	Bulat	Cembung	Putih	Rata
S16	Bulat	Cembung	Putih	Rata

4.5.2. Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia 7 Isolat Bakteri Hasil Seleksi dari Sumber Air Panas

Karakterisasi fisiologi dan biokimia yang akan dilakukan meliputi uji hipersensitif, uji gram, uji oksidatif-fermentatif, uji pewarnaan spora, koloni kuning pada media YDC, pengujian pigmen fluorescent pada media King's B. Identifikasi didasarkan pada Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (*Holt et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001).

a. Uji Gram

Pengujian gram dilakukan untuk mengetahui bakteri yang telah diperoleh termasuk kedalam gram positif atau negatif. Pengujian gram ini dapat dilakukan dengan menggunakan larutan KOH 3% dan pewarnaan gram.

1. Uji KOH 3%

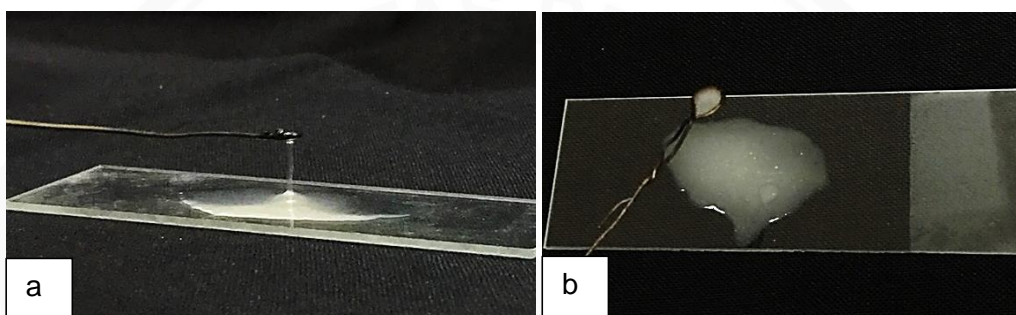
Uji KOH 3% dilakukan untuk mengetahui bakteri yang berpotensi sebagai antagonis termasuk kedalam gram negatif atau positif. Hasil KOH 3% dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Uji KOH 3% 7 isolat bakteri hasil seleksi

Uji	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
KOH 3%	Berlendir	Tidak	Tidak	Berlendir	Berlendir	Berlendir	Berlendir

Berdasarkan hasil pengujian menggunakan larutan KOH 3% yang telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa 2 bakteri tergolong kedalam gram positif dan 5 bakteri termasuk dalam gram negatif. Bakteri yang tergolong kedalam gram positif yaitu pada saat bakteri diuji menggunakan larutan KOH 3% tidak menghasilkan lendir. Sedangkan bakteri yang termasuk kedalam gram negatif, ketika bakteri diuji

menggunakan larutan KOH 3% menghasilkan lendir yang ikut terangkat ketika jarum ose ditarik keatas lendir tersebut juga ikut terangkat. Menurut Purwohadisantoso *et al.* (2009) bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang lebih resistan terhadap KOH, sehingga dinding sel tidak pecah saat direaksikan dengan KOH. Menurut Edwin (2011) Bakteri yang tergolong kedalam gram negatif mempunyai lemak yang tebal dan dinding sel tipis yang berada di ruang periplasma. KOH akan bereaksi dan membuat sel bakteri gram negatif pecah. Sel yang pecah akan melepaskan DNA yang merupakan substansi melimpah di dalam sel bakteri. DNA yang dilepaskan ini bersifat *sticky strings* (menyerupai lendir, getah atau lengket) yang memberikan hasil seperti lendir saat diangkat dengan jarum inokulum. Hasil pengujian gram menggunakan larutan KOH 3% dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Contoh hasil uji KOH 3%, a) Gram negatif (berlendir), b) Gram positif tidak berlendir

2. Uji pewarnaan gram

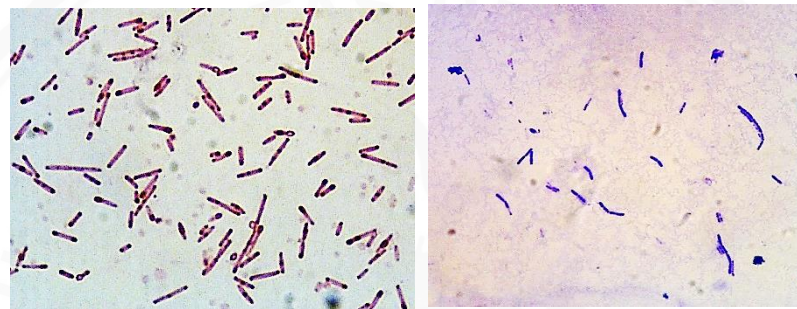
Uji pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui bahwa bakteri yang berpotensi sebagai antagonis termasuk kedalam gram positif atau negatif. Selain itu, uji pewarnaan gram ini juga dapat melihat bentuk sel dari bakteri yang telah diperoleh. Hasil uji pewarnaan gram dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Uji pewarnaan gram 7 isolat bakteri hasil seleksi

Uji	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Pewarnaan gram	Negatif	Positif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Berdasarkan uji pewarnaan gram, 2 bakteri tergolong kedalam gram positif yang mana ditandai dengan sel bakteri berwarna ungu pada saat diamati menggunakan mikroskop. Sedangkan 5 bakteri termasuk kedalam gram negatif yang ditandai dengan warna merah pada sel bakteri yang diamati menggunakan mikroskop. Berdasarkan hasil pewarnaan gram, bentuk sel dari ketujuh bakteri yang ditemukan yaitu berbentuk basil. Menurut Schaad *et al.* (2001) perbedaan

warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Sel pada bakteri gram positif mempunyai struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal, sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi. Sel gram negatif mempunyai kandungan lipid yang pada umumnya larut dalam alkohol dan aseton, sehingga saat ditetesi alkohol, dinding sel akan larut dan ungu dari kristal violet akan tercuci. Menurut Lay (1994) bakteri gram positif akan berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat aseton alkohol. Sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah karena kompleks tersebut larut saat diberi pemucat aseton alkohol sehingga mengambil warna merah safranin. Hasil pewarnaan gram bakteri dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Bentuk sel batang bakteri pada perbesaran 1000x, a) bakteri gram negatif, b) bakteri gram positif

b. Uji pewarnaan spora

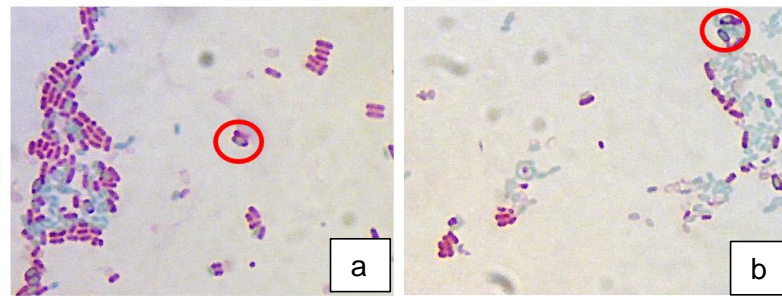
Uji pewarnaan spora dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya spora dalam bakteri tersebut. Uji pewarnaan spora dilakukan pada bakteri gram positif yaitu pada isolat S2 dan S7. Hasil pewarnaan spora dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Uji pewarnaan spora isolat bakteri S2 dan S7

Uji	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Pewarnaan spora	Tidak diuji	Ada	Ada	Tidak diuji	Tidak diuji	Tidak diuji	Tidak diuji

Berdasarkan hasil uji pewarnaan spora isolat bakteri S2 dan S7 memiliki spora yang mana ditandai dengan adanya warna hijau pada sel bakteri tersebut. Berdasarkan pengujian ini dapat diketahui bahwa isolat S2 dan S7 tergolong kedalam bakteri genus *Bacillus* sp. dengan karakteristik fisiologis dan biokimia meliputi umumnya memiliki endospora, sel berbentuk batang, tergolong gram positif, katalase positif, bersifat dengan anaerobik fakultatif. Menurut Sunatmo (2007) spora pada bakteri mempunyai selubung yang keras dan tebal. Sehingga

pada saat diberi zat warna *malachite green* akan tetap diikat oleh spora bakteri setelah pencucian dengan larutan safranin. Spora bakteri akan berwarna hijau dan sel vegetatif bakteri akan berwarna merah (Agustina *et al.*, 2013). Menurut Hastuti (2012) spora bakteri akan terbentuk jika pada kondisi lingkungan yang tidak optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri tersebut, seperti halnya yaitu medium mengering, kandungan nutrisi menyusut dan sebagainya. Menurut Agustina *et al.* (2013) spora merupakan bentuk pertahanan diri bakteri dari keadaan yang ekstrim misalnya pada keadaan kering, panas atau terdapat bahan kimia seperti racun. Hasil uji pewarnaan spora dapat dilihat pada gambar 17.



Gambar 17. Hasil uji pewarnaan spora pada perbesaran 1000x, a) isolat S2, b) Isolat S7

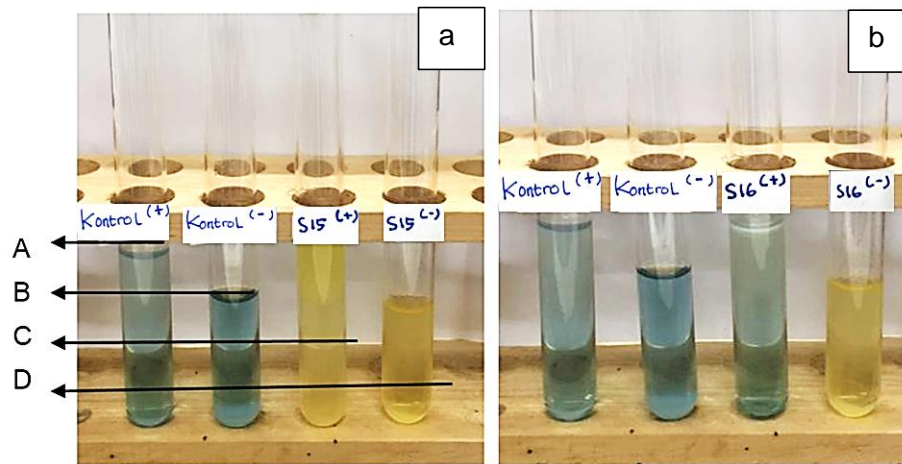
c. Uji Oksidatif-Fermentatif

Uji oksidatif-fermentatif dilakukan untuk mengetahui bakteri yang ditemukan termasuk kedalam bakteri aerob ataupun anaerob fakultatif. Hasil uji oksidatif-fermentatif dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Uji oksidatif-fermentatif 7 isolat bakteri hasil seleksi

Uji	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Oksidatif-fermentatif	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning	Biru

Berdasarkan uji oksidatif-fermentatif yang telah dilakukan dari 7 bakteri, diperoleh hasil yaitu 6 isolat bakteri bersifat anaerob fakultatif dan 1 isolat bakteri bersifat aerob. Bakteri yang bersifat aerob yaitu ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada tabung reaksi yang berisi media oksidatif-fermentatif yang telah diberi agar sehingga warna pada tabung tetap biru. Sedangkan bakteri yang bersifat anaerob fakultatif yaitu ditandai dengan adanya perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung reaksi yang berisi media oksidatif-fermentatif yang diberi agar maupun tanpa agar. Hasil pengujian oksidatif-fermentatif dapat dilihat pada gambar 18.



Gambar 18. Contoh hasil uji oksidatif-fermentatif: a) Bakteri yang bersifat anaerob fakultatif, b) Bakteri yang bersifat aerob

Keterangan : A = Kontrol diberi agar

B = Kontrol tanpa agar

C = Media OF diberi bakteri dan agar

D = Media OF diberi bakteri tanpa agar

Menurut Chatri (2016) bakteri oksidatif (aerob) membutuhkan oksigen dalam memfermentasi glukosa, sehingga hanya tabung yang tidak diberi water agar yang berubah warna. Berbeda dengan bakteri fermentatif yang tanpa oksigen mampu memfermentasi glukosa dan menghasilkan asam. Menurut Menurut Koneman (2006) organisme fermentatif akan menghasilkan reaksi asam pada tabung yang ditutup maupun tidak ditutup. Sedangkan pada organisme oksidatif hanya akan memproduksi reaksi asam pada tabung yang tidak ditutup dan pada tabung yang ditutup tidak akan membentuk asam pada tabung. Asam yang dihasilkan dari fermentasi tersebut akan menurunkan pH medium sehingga indikator BTB berubah menjadi warna kuning.

d. Uji Pigmen Fluorescent Isolat Bakteri S16

Uji pigmen fluorescent ini dilakukan hanya pada isolat S16 dikarenakan pada uji oksidatif-fermentatif bersifat aerob. Uji ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri S16 pada media King's B dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi diamati dibawah sinar UV, namun tidak nampak ada pendar hijau menyala sehingga hasilnya negatif. Menurut Schaad *et al.* (2001), apabila terlihat ada pigmen fluorescent setelah bakteri ditumbuhkan pada media King's B menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk *Pseudomonas fluorescens*. Karena bakteri uji tidak berpendar, sehingga bakteri tersebut dapat tergolong pada genus *Agrobacterium*, *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* atau *Xylophilus*. Maka untuk mengetahui genus dari bakteri dengan

kode S16 tersebut, perlu dilakukan uji selanjutnya yaitu uji koloni kuning pada media YDC. Hasil uji pigmen fluorescent dilihat pada gambar 19.



Gambar 19. Hasil uji pigmen fluorescent bakteri S16 pada media King's B umur 24 jam

e. Uji Koloni Kuning pada Media YDC

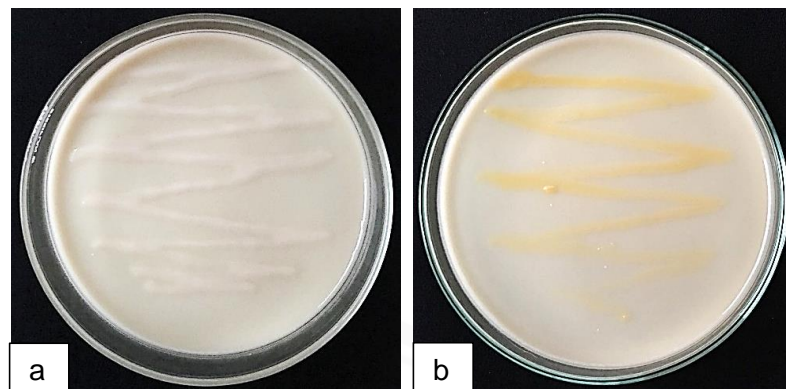
Pengujian koloni kuning pada media YDC ini dilakukan untuk bakteri yang tergolong kedalam gram negatif. Bakteri yang mempunyai reaksi positif pada pengujian ini yaitu ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna kuning pada media YDC. Sedangkan reaksi negatif jika koloni yang tumbuh pada media YDC berwarna putih. Hasil uji oksidatif-fermentatif dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Uji koloni kuning 5 isolat bakteri pada media YDC

Uji	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Media YDC	Kuning	Tidak diuji	Tidak diuji	Putih	Putih	Putih	Putih

Berdasarkan tabel uji oksidatif-fermentatif isolat bakteri S1, S11, S14, dan S15 ini tergolong positif, sehingga dilanjutkan dengan uji pada media YDC. Berdasarkan uji media YDC, bakteri dengan kode S1 menunjukkan reaksi positif karena koloni berwarna kuning pada media YDC sehingga bakteri tersebut termasuk kedalam genus *Pantoea*. Sedangkan isolat bakteri dengan kode S11, S14 dan S15 menunjukkan reaksi negatif karena koloni berwarna putih pada media YDC, sehingga bakteri ini termasuk kedalam genus *Erwinia*. Hal ini sesuai dengan Schaad *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa pengujian media YDC merupakan media selektif untuk tumbuhnya bakteri dengan genus *Pantoea*. Selain itu, media YDC juga untuk mengetahui bakteri termasuk kedalam genus *Pantoea* atau *Erwinia*. Genus *Pantoea* tumbuh dengan koloni berwarna kuning pada media

YDC. Genus *Erwinia* tumbuh dengan koloni berwarna putih. Hasil pengujian pada media YDC dapat dilihat pada gambar 20.



Gambar 20. Contoh hasil uji pada media YDC, a) koloni berwarna putih, b) koloni berwarna kuning.

Pengujian koloni kuning YDC juga dilakukan pada isolat bakteri S16. Pengujian ini dilakukan setelah uji pigmen fluorescent yang memiliki hasil negatif. Pengujian media YDC ini yaitu untuk mengetahui bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam genus *Xanthomonas* atau *Xylophilus* jika bereaksi positif yang ditandai dengan koloni berwarna kuning. Jika bakteri bereaksi negatif termasuk kedalam genus *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Acidovorax*, atau *Ralstonia* yang ditandai dengan koloni berwarna putih. Dari hasil uji YDC, isolat bakteri S16 mempunyai reaksi negatif yang ditandai dengan koloni berwarna putih pada media YDC, sehingga bakteri tersebut termasuk kedalam genus *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Acidovorax*, atau *Ralstonia* yang mana harus dilakukan uji selanjutnya dengan menggunakan media DIM untuk menentukan genus bakteri tersebut.

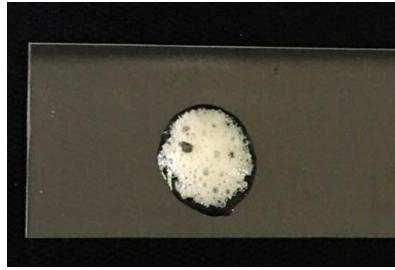
f. Uji Katalase

Pengujian katalase ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri yang berpotensi sebagai antagonis. Hasil dari uji katalase dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Uji katalase 7 isolat bakteri hasil seleksi

Uji	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Katalase	Gelem- Bung	Gelem- Bung	Gelem- Bung	Gelem- Bung	Gelem- Bung	Gelem- Bung	Gelem- Bung

Dari tabel hasil uji katalase 7 bakteri bereaksi positif setelah ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. Reaksi positif pada bakteri ditandai dengan munculnya gelembung gas pada suspensi tersebut. Hasil uji katalase dapat dilihat pada gambar 21.



Gambar 21. Contoh uji katalase positif menghasilkan gelembung

Menurut Hidayat dan Alhadi (2012) bakteri yang memiliki enzim katalase akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , yang ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung oksigen pada isolat, berbeda dengan bakteri katalase negatif yang tidak menghasilkan gelembung-gelembung berarti H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah. Menurut Lay (1994) katalase merupakan enzim yang dapat mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena dapat menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk pada saat metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan anaerob mampu menguraikan bahan tersebut. Hasil uji fisiologi dan biokimia bakteri dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Karakterisasi fisiologi dan biokimia 7 isolat bakteri hasil seleksi

Karakterisasi	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Uji hipersensitif	-	-	-	-	-	-	-
Uji KOH 3%	-	+	+	-	-	-	-
Uji pewarnaan gram	-	+	+	-	-	-	-
Uji Oksidatif-Fermentatif	+	+	+	+	+	+	-
Uji Pigmen Fluorescent	TU	TU	TU	TU	TU	TU	-
Uji YDC	+	TU	TU	-	-	-	-
Uji katalase	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Pantoea</i> sp	<i>Bacillus</i> sp	<i>Bacillus</i> sp	<i>Erwinia</i> sp	<i>Erwinia</i> sp	<i>Erwinia</i> sp	-

Keterangan : (-) reaksi negatif, (+) reaksi positif, (TU) tidak dilakukan uji

4.5.3. Karakterisasi Morfologi, Fisiologi, dan Biokimia Bakteri 7 Isolat Bakteri Hasil Seleksi dari Sumber Air Panas

Karakterisasi morfologi, fisiologi, dan biokimia bakteri dilakukan untuk mengetahui genus bakteri yang berpotensi sebagai antagonis. Hasil dari pengujian tersebut dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Karakterisasi morfologi, fisiologi, dan biokimia 7 isolat bakteri hasil seleksi

Karakterisasi	Isolat						
	S1	S2	S7	S11	S14	S15	S16
Warna	Putih	Putih	Putih Kemerahan	Putih	Putih	Putih	Putih
Bentuk	Bulat	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Permukaan Tepi	Cembung Rata	Rata Tidak rata	Berombak Tidak rata	Cembung Rata	Cembung Rata	Cembung Rata	Cembung Rata
Uji hipersensitif	-	-	-	-	-	-	-
Uji KOH 3%	-	+	+	-	-	-	-
Uji pewarnaan gram	-	+	+	-	-	-	-
Uji Oksidatif-Fermentatif	+	+	+	+	+	+	-
Uji Pigmen Fluorescent	TU	TU	TU	TU	TU	TU	-
Uji YDC	+	TU	TU	-	-	-	-
Uji katalase	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Pantoea</i> sp	<i>Bacillus</i> sp	<i>Bacillus</i> sp	<i>Erwinia</i> sp	<i>Erwinia</i> sp	<i>Erwinia</i> sp	-

Keterangan : (-) reaksi negatif, (+) reaksi positif, (TU) tidak dilakukan uji

Berdasarkan tabel karakterisasi morfologi, fisiologi dan biokimia dari kejutuh bakteri yang berpotensi sebagai antagonis terhadap *H. turcicum*, isolat bakteri S1 termasuk dalam genus *Pantoea* sp. Menurut Desi *et al.* (2014) Bakteri genus *Pantoea* sp mempunyai bentuk koloni bulat, termasuk dalam gram negatif, permukaan cembung, bersifat anaerob fakultatif, dan bersifat katalase positif. Isolat bakteri S2 dan S7 termasuk dalam genus *Bacillus* sp. Menurut Hatmanti (2000) bakteri genus *Bacillus* mempunyai bentuk koloni tidak beraturan, termasuk dalam gram negatif, sel berbentuk batang, dapat membentuk endospora, bersifat anaerob fakultatif, bersifat katalase positif. Isolat bakteri S11, S14, dan S15 termasuk genus *Erwinia* sp. Menurut Semangun (2006) bakteri genus mempunyai koloni berwarna putih, sel berbentuk batang. Selain itu, De Boer dan Kelman (2001) menyatakan bahwa bakteri *Erwinia* tergolong dalam gram negatif, mempunyai sifat anaerobik fakultatif. Isolat bakteri S16 belum diketahui genusnya, sehingga perlu dilakukan untuk pengujian selanjutnya yaitu pada media DIM.

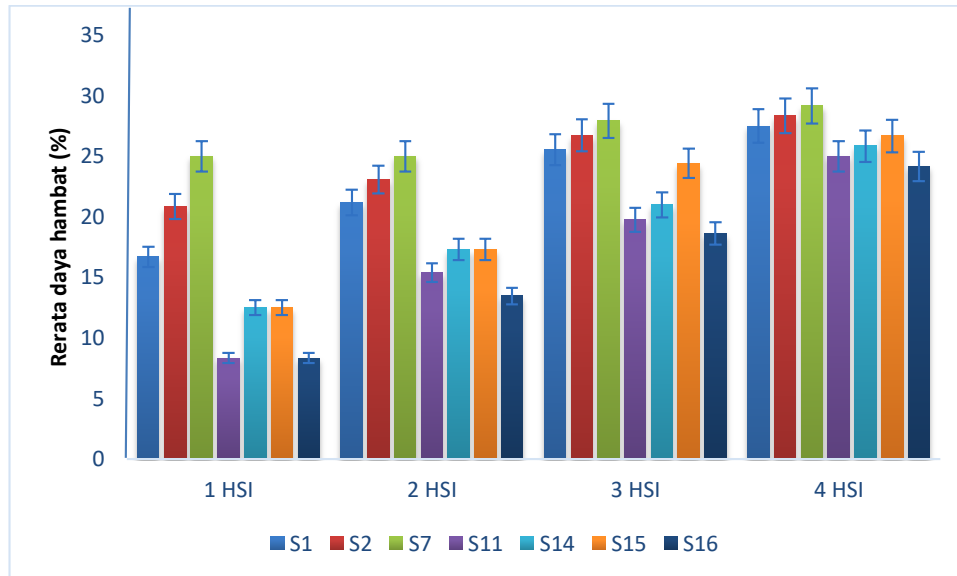
4.6. Uji Antagonis Secara *In Vitro*

Bakteri dari sumber air panas yang telah terseleksi selanjutnya akan dilakukan pengujian antagonis secara *in vitro* terhadap jamur *H. turcicum* dengan metode oposisi. Pengujian ini memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan jamur *H. turcicum* yang dilihat melalui terbentuknya zona hambat pada cawan petri. Presentase daya hambat mengalami peningkatan setiap harinya dengan ditandai adanya zona hambat yang dihasilkan mulai 1 hari setelah isolasi hingga 4 hari setelah isolasi. Berdasarkan presentase zona hambat yang terbentuk ketujuh bakteri antagonis menunjukkan hasil yang berpengaruh nyata. Hasil presentase daya hambat bakteri dapat dilihat pada tabel 12 dan gambar 22.

Tabel 12. Rerata presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap *H. turcicum* selama 4 HSI

Perlakuan	1 HSI	2 HSI	3 HSI	4 HSI
S0	0 a	0 a	0 a	0 a
S1	16,67 bcd	21,16 cd	25,54 cd	27,50 de
S2	20,84 cd	23,08 d	26,73 cd	28,34 e
S7	25 d	25 d	27,92 d	29,17 e
S11	8,34 ab	15,38 b	19,75 b	25 bc
S14	12,50 bc	17,31 bc	20,99 b	25,84 bcd
S15	12,50 bc	17,31 bc	24,41 c	26,67 cde
S16	8,34 ab	13,46 b	18,62 b	24,17 b

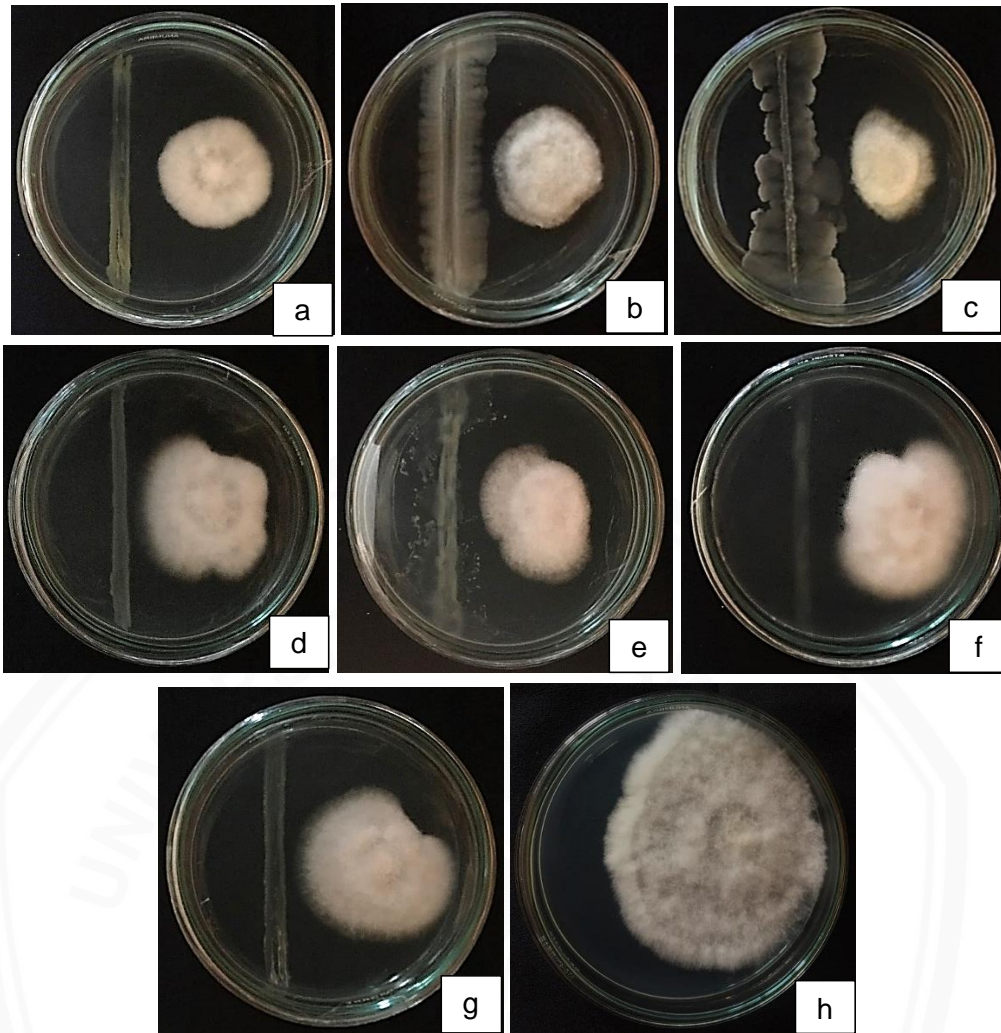
Keterangan: Bilangan yang disertai huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT 5%.



Gambar 22. Histogram rerata presentase daya hambat bakteri antagonis terhadap *H. turcicum* selama 4 HSI

Berdasarkan tabel dan histogram presentase daya hambat bakteri antagonis dapat dilihat bahwa setiap bakteri antagonis menunjukkan presentase daya hambat yang berbeda. Presentase penghambatan tertinggi pada 4 HSI yang mana pada bakteri S1 mempunyai daya hambat sebesar 27,50, S2 sebesar 28,34, S7 sebesar 29,17, S11 sebesar 25, S14 sebesar 25,84, S15 sebesar 26,67 dan S16 sebesar 24,17. Presentase daya hambat bakteri tertinggi yaitu pada bakteri dengan kode isolat S7 yang tergolong dalam genus *Bacillus* sp. Isolat bakteri S7 mampu menghasilkan zona hambat dengan presentase sebesar 29,17 pada hari ke 4 setelah isolasi. Genus selanjutnya yaitu *Pantoea* sp dengan kode isolat S1 yang mempunyai daya hambat sebesar 27,50. Bakteri S15 tergolong kedalam genus *Erwinia* yang mana mempunyai daya hambat sebesar 26,67. Pada perlakuan kontrol dengan menggunakan aquades tidak menunjukkan adanya zona hambat, sehingga tidak mempunyai potensi antagonis terhadap pertumbuhan jamur *H. turcicum*. Kontrol ini digunakan untuk membandingkan perlakuan bakteri, dan mengamati daya hambat bakteri terhadap patogen. Penghambatan bakteri terhadap patogen dapat dilihat pada gambar 23.

Zona hambat yang terbentuk dari ketujuh bakteri antagonis mengindikasikan adanya mekanisme antibiosis (Muhibuddin *et al.*, 2018). Antibiosis merupakan senyawa yang dihasilkan oleh suatu mikroba untuk menghambat mikroorganisme yang lain (Pal, 2006). Zona hambat yang ditunjukkan pada setiap bakteri antagonis berbeda karena senyawa antibiosis yang dihasilkan juga berbeda (Raharini *et al.*, 2012).



Gambar 23. Hasil penghambatan bakteri antagonis terhadap *H. turcicum*, a) isolat S1, b) isolat S2, c) isolat S7, d) isolat S11, e) isolat S14, f) isolat S15, g) isolat S16, dan h) kontrol dengan aquades

Menurut Cook dan Baker (1996) bakteri *Bacillus* sp. diketahui mempunyai potensi sebagai agens pengendali hayati beberapa patogen tumbuhan. Menurut Habazar dan Yaherwandi (2006) bakteri *Bacillus* sp. memiliki kemampuan sebagai agens hayati yang berkaitan dengan kemampuannya bersaing untuk mendapatkan zat makanan, menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik, siderofor dan enzim ekstraseluler. Menurut Hatmanti (2000) yang menyatakan bahwa kelompok *Bacillus* sp. memiliki kemampuan seperti lipolitik, antibiosis, proteolitik dan amilolitik. *Bacillus* sp. Diketahui banyak menghasilkan antibiotik antara lain *B. brevis* (*gramicidin* dan *thyrothricin*), *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).

Menurut Mutmainnah (2011) bakteri *Pantoea* mempunyai kemampuan menghambat mikroba salah satunya jamur. *Pantoea* memiliki sifat antibiosis yang menghasilkan herbicolin yang dapat menekan infeksi patogen dan mampu menghasilkan enzim kitinase yang berperan penting pada proses mycoparasit jamur. Menurut Rezzonico *et al.* (2009) bakteri *Pantoea agglomerans* merupakan salah satu agens biokontrol yang mampu mengendalikan jamur patogen. Menurut Dutkiewicz *et al.* (2016), bakteri *Pantoea* sp menghambat patogen dengan mengeluarkan senyawa antibiosis yaitu herbicolins, pantocin, microcin.

Menurut Rezzonico *et al.* (2016) genus *Erwinia* dapat menjadi agens biokontrol terhadap patogen tanaman. Dilaporkan bahwa *Erwinia* mempunyai aktivitas biokontrol terhadap patogen penyebab bercak coklat pada buah pir, busuk buah pada buah apel dan pir (Bonaterra *et al.*, 2003; France's *et al.*, 2006 dan Montesinos *et al.*, 1996).



5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

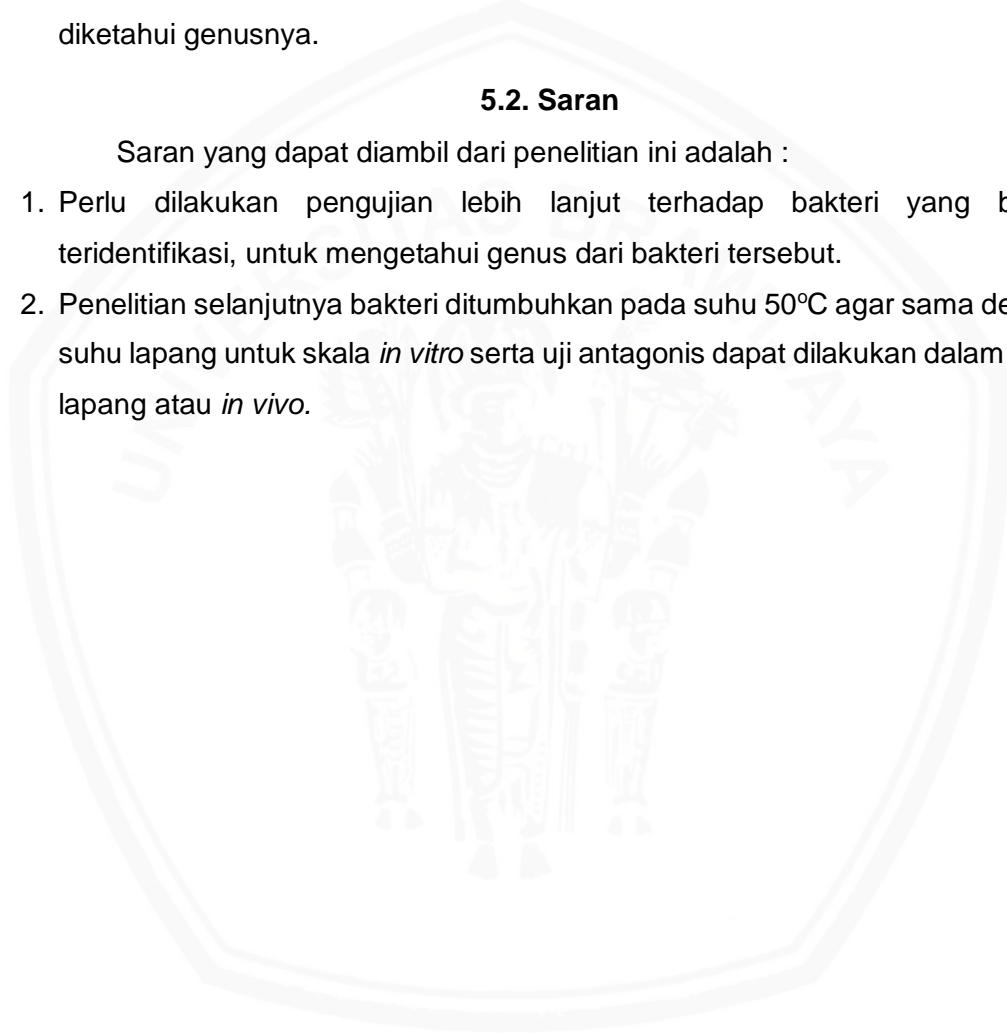
Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat tujuh bakteri hasil eksplorasi dari sumber air panas yang berpotensi menghambat *H. turcicum* secara *in vitro*. Ketujuh bakteri tersebut mampu secara nyata dalam menghambat patogen *H. turcicum*.
2. Bakteri yang berpotensi sebagai antagonis secara *in vitro*, termasuk kedalam genus *Pantoea* sp, *Bacillus* sp, *Erwinia* sp dan terdapat satu bakteri yang belum diketahui genusnya.

5.2. Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap bakteri yang belum teridentifikasi, untuk mengetahui genus dari bakteri tersebut.
2. Penelitian selanjutnya bakteri ditumbuhkan pada suhu 50°C agar sama dengan suhu lapang untuk skala *in vitro* serta uji antagonis dapat dilakukan dalam skala lapang atau *in vivo*.



DAFTAR PUSTAKA

- Aanniz, T., M. Ouadghiri, M. Melloul, J. Swings, E. Elfahime, J. Ibjibjen, M. Ismaili, dan M. Amar. 2015. Thermophilic bacteria in Moroccan hot spring, salt marshes and desert soils. *Brazilian Journal of Microbiology*. 46 (2): 443-453.
- Abidin, Z., L.Q. Aini, dan A.L. Abadi. 2015. Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai. *Jurnal HPT*. 3 (1): 1-10.
- Abou, S.R.A.I. 2007. Characterization and 16S rDNA identification of thermo-tolerant bacteria isolated from hot spring. *J Appl Sci Res*. 3: 994-1000.
- Agustina, D., C. Yulvizar, dan R. Nursanty. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) Asin Berkitosan. *Biospecies*. 6 (1): 5-19.
- Alam, M.S., Sarjono P.R., Aminin, A.L.N. 2013. Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Chem Info*. 1 (1): 90-195.
- Alexopoulos, C.J. dan C.W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons. New York.
- Aliah, N.U., L. Sulistyowati, dan A. Muhibuddin. 2015. Hubungan Ketebalan Lapisan Epidermis Daun terhadap Serangan Jamur (*Mycosphaerella musicola*) Penyebab Penyakit Bercak Daun Sigatoka pada Sepuluh Kultivar Pisang. *Jurnal HPT*. 3 (1): 1-9.
- Asnawi, A.H. 2006. Keanekaragaman bakteri termofilik yang terdapat dalam sumber air panas di Taman Wisata Padusan Pacet, Kabupaten Mojokerto Jawa Timur Pacet, Kabupaten Mojokerto Jawa Timur. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Awais, M., A. Pervez, A. Yaqub, dan M.M. Syah. 2010. Production of Antimicrobial Metabolites by *Bacillus subtilis* Immobilized in Polyacrylamide Gel. *Pakistan Journal Zool*. 42 (3): 267-275.
- Babu, A.G. dan B.S. Thind, 2005. Potential Use of Combination of *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Bacillus subtilis* as biocontrol agents for the control of bacterial blight of rice. <http://www.agridept.gov.lk>.
- Badan Pusat Statistik. 2014. Data Produksi Padi, Jagung, dan Kedelai Provinsi Lampung tahun 2014. Berita Resmi Statistik. Lampung.
- Bonaterre, A., M. Mari, L. Casalini, dan E. Montesinos. 2003. Biological Control of *Monilia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in Postharvest of Stone Fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and Putative Mechanisms of Antagonism. *Int J Food Microbiol*. 84: 93-104.
- Budiman, H. 2012. *Budidaya Jagung Organik*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Brock, T.M. Michael, M.M. Jhon, dan P. Jack. 1986. *Biology of Microorganism*. Science Hill Inc. New Jersey.
- Cihan, A.C., N. Tekin, dan B. Ozcan. 2012. The genetic diversity of genus *Bacillus* and the related genera revealed by 16s rRNA gene sequences and ARDRA

- analyses isolated from geothermal regions of Turkey. *Braz J Microbiol.* 43: 309-324.
- Chamkha, M., S. Mnif, dan Sayadis. 2008. Isolation of a thermophilic and halophilic tyrosol-degrading *Geobacillus* from a Tunisian high-temperature oil field. *FEMS Microbiol Lett.* 283: 23-29.
- Chatri, M. 2016. Pengantar Penyakit Ilmu Tumbuhan. Kencana. Jakarta.
- Couillerot, O., C.P. Combaret, J.C. Mellado, dan Y.M. Loccoz. 2009. *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonas as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 48: 505-512.
- Cook, R.J. dan K.F. Baker. 1996. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. The American Phytopathological Society Press. Unites State of America.
- De Boer, S.H. dan A. Kelman. 2001. Erwinia soft rot group. Di dalam: Schaad NW, Jones JB, dan Chun W, editor. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Ed ke-3. APS Press. St Paul.
- Desi, Y., T. Habazar, Agustian, U. Khairul, Syamsuwirman, dan P. Novia. 2014. Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Isolat *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* pada Jagung. *Jurnal Fitopatologi Indonesia.* 10 (2): 45-52.
- Djaenuddin, N. dan A. Muis. 2015. Karakteristik Bakteri Antagonis *Bacillus subtilis* dan Potensinya sebagai Agens Pengendali Hayati Tanaman. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Prosiding Seminar Nasional Tanaman Serealia.
- Dutkiewicz, J., B. Mackiewicz, M.K. Lemieszek, M. Golec, dan J. Milanowski. 2016. *Pantoea agglomerans*: a Mysterious Bacterium of Evil and Good. Part IV. Beneficial Effects. *Annalis of Agricultural and Environmental Medicine.* 23 (2).
- Edwin. 2011. Materi Kuliah Mikrobiologi. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Elfita, Muharni, Munawar, Salni, dan A. Oktasari. 2010. Senyawa Antimalaria dari Jamur Endofitik Tumbuhan Sambiloto (*Andographis paniculata* Nees). *Jurnal Natur Indonesia.* 13 (2): 123-129.
- Fanani, A.K., A.L. Abadi, dan L.Q. Aini. 2015. Eksplorasi Bakteri Patogen Pada Beberapa Spesies Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes* sp.). *Jurnal HPT.* 3 (3): 104-110.
- France's, J., A. Bonaterra, M.C. Moreno, J. Cabrefiga, E. Badosa, dan E. Montesinos. 2006. Pathogen Aggresiveness And Postharvest Biocontrol Efficiency in *Pantoea agglomerans*. *Postharvest Bioltechnol.* 39: 299-307.
- Habazar, T. dan Yaherwandi. 2006. Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan. Andalas University Press. Padang.
- Hasanuddin. 2003. Peningkatan Peranan Mikroorganisme Dalam Sistem Pengendalian Penyakit Tumbuhan Secara Terpadu. USU Digital Library. Sumatera Utara.
- Hastuti, S.U. 2012. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. UMM Press. Malang.

- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus*. Balitbang Lingkungan Laut. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Jakarta. 25 (1): 31-41.
- Hidayat, R dan Alhadi, F. 2012. Identifikasi *Streptococcus Equi* dari Kuda yang Diduga Menderita Strangles. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). 17 (3): 199-203.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, dan S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th ed. Maryland. Williams and Wilkins. USA.
- Izza, J.F., L.Q. Aini, dan R.R. Kusuma. Pemanfaatan Rhizobakteri dari Gulma di UB Forest sebagai Agens Antagonis Penyakit Layu Bakteri Kentang. Jurnal Biotropika. 6 (2).
- Jatnika, W., A.L. Abadi, dan L.Q. Aini. 2013. Pengaruh Aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap Perkembangan Bulai yang Disebabkan Oleh Jamur Patogen *Peronosclespora maydis* pada Tanaman Jagung. Jurnal HPT. 1 (4).
- Kawasaki, Y., M. Aoki, dan Y. Makino. 2012. Characterization of moderately thermophilic bacteria isolated from saline hot spring in Japan. *Microbiology Indonesia*. 5: 56-60.
- Klement, Z., K. Rudolph, dan D.C. Sand. 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Academia Kiado. Budapest.
- Kurniawan, H.M. 2011. Isolasi dan Optimasi Ekstrinsik Bakteri Termoproteolitik Isolat Sumber Air Panas Semurup Kabupaten Kerinci Jambi. Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Kusumadewi, T., S. Khotimah, dan A.H. Yanti. 2014. Ekstrak Metanol Buah *Sonneratia alba* J.E.Sm sebagai Penghambat Pertumbuhan *Helminthosporium* sp. yang diisolasi dari Daun Jagung. *Jurnal Protobiont* 2014. 3 (2): 149-154.
- Kusumaningati, M.A., S. Nurhatika, dan A. Muhibuddin. 2013. Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 2 (2): 1-6.
- Koneman. 2006. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Mikrobiologi* Edisi VI. Lippicot Williams and Wilkins Company. Philadelphia.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Maugeri, T., C. Gugliandolo, dan D. Caccamo. 2001. A polyphasic taxonomic study of thermophilic bacilli from shallow, marine vents. *Syst Appl Microbiol*. 24: 572-587.
- McWilliams, D.A., D.R. Berglund, dan G.J. Endres. 1999. *Corn Growth and Management Quick Guide*. <<http://www.ag.ndsu.edu>>. Diakses tanggal 12 Oktober 2018.
- Meintanis, C., K.I. Chalkou, dan K.A. Kormas. 2008. Application of *rpoB* sequence similarity analysis, REP-PCR and BOXPCR for the differentiation of species within the genus *Geobacillus*. *Lett Appl Microbiol*. 46: 395-401.

- Minana, G.D., D.L. Pinzon, dan J.G. Loren. 2010. Reclassification of *Geobacillus pallidus* as *Aeribacillus pallidus* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60:1600-1604.
- Montesinos, E., A. Bonaterra, Y. Ophir, dan S.V. Beer. 1996. Antagonism of Selected Bacterial Strains to *Stemphylium vesicarium* and Biological Control of Brown Spot of Pear Under Controlled Environment Conditions. *Phytopathology.* 86: 856-863.
- Muhibuddin, A., L. Addina, A.L. Abadi, dan A. Ahmad. 2011. Biodiversity Of Soil Fungi On Integrated Pest Management Farming System. *Agrivita.* 33 (2): 1-8.
- Muhibuddin, A., A.W. Sektiono, U.K.N. Qomariyah, M. Faizah, A. Susanti, dan S. Nurhatika. 2018. Yeast from Epiphyte of Avocadoesto Control *Colletotrichum gloesporioides* Causing Antrachnose Disease. *Jurnal Sains and Technology.* 10 (2): 52-60.
- Mutmainnah. 2011. Efektivitas Bakteri Antagonis dalam Menekan Penyakit Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*) pada Dua Jenis Markisa di Pembibitan. Universitas Cokroaminoto Palopo. Palopo.
- Nurhalimah, S., S. Nurhatika, dan A. Muhibuddin. 2014. Eksplorasi Mikoriza Vesikular Arbuskular (MVA) *Indigenous* pada Tanah Regosol di Pamekasan, Madura. *Jurnal Sains dan Seni Pomits.* 3 (1).
- Nurhayati. 2011. Penggunaan Jamur dan Bakteri dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati yang Ramah Lingkungan. *Prosiding Semirata Bidang Ilmu-ilmu Pertanian BKS-PTN Wilaya Barat. Sumatera Selatan.*
- Norris, J.R., R.C.W. Berkelley, N.A. Logan, dan A.G. O'Donnel. 1981. The Genera *Bacillus* and *Sporolactobacillus*. In : *The Prokaryotes.* Vol. 2 (Starr, M. P., Stolp, A., Truper, A. G., Balows, A., and Schlegel, H. G., eds). Springer-Verlag. New York. Hal. 1711-1742.
- Pal, K.K., B. Mc Spadden dan Gardener. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor.* 5: 2-5.
- Pakki, S. 2005. Epidemiologi dan pengendalian *Helminthosporium* sp pada Tanaman Jagung. *Jurnal Litbang Pertanian.* 24 (3): 1-8.
- Pasaribu, E.L.P., I.R. Sastrahidayat, dan A. Muhibuddin. 2016. Eksplorasi Jamur Filoplane pada Tanaman Seledri (*Apium graveolens*) dan Uji Kemampuan Antagonisnya terhadap Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum* sp.). *Jurnal HPT.* 4 (1): 1-7.
- Purwohadisantoso, K., E. Zubaidah, dan E. Saparianti. 2009. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Kubis yang Memiliki Kemampuan Penghambatan Bakteri Patogen (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian.* 10 (1): 19-27.
- Purwono dan R. Hartono. 2011. *Bertanam Jagung Unggul.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Prasetyo, G., S. Ratih, Ivayani, dan H.M. Akin. 2017. Efektivitas *Pseudomonas fluorescens* dan *Paenibacillus polymyxa* terhadap keparahan penyakit karat dan hawar daun serta pertumbuhan tanaman jagung manis (*Zea mays var. saccharata*). *Jurnal Agrotek Tropika.* 5 (2): 1-7.

- Raharini, A.O., R. Kawuri, dan K. Khalini. 2012. Penggunaan *Streptomyces* sp. sebagai Biokontrol Penyakit Layu pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.) yang Disebabkan Oleh *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici*. Fakultas Pertanian Universitas Udayana. 2 (2): 155.
- Rezzonico, F., T. Smith, E. Montesinos, J.E. Frey, dan B. Duffy. 2009. Genotypic Comparison of *Pantoea agglomerans* Plant and Clinical Strains. BMC Microbiology.
- Rezzonico, F., T.H.M. Smits, Y. Born, J. Blom, J.E. Frey, A. Goesmann, I. Cleenwerck, P.D. Vos, A. Bonaterra, B. Duffy, and E. Montesinos. 2016. *Erwinia gerundensis* sp. nov., a cosmopolitan epiphyte originally isolated from pome fruit trees. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 66: 1583–1592.
- Rinaldi, E. Milda dan M. Yunis. 2009. Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung (*Zea mays*) Yang Ditumpangsarikan Dengan Kedelai (*Glycine max*). Agroteknologi Universitas Tamansiswa. Padang.
- Rosmarkam, A. dan N. W. Yuwono. 2002. Ilmu Kesuburan Tanah. Kanisius. Yogyakarta.
- Sabdaningsih, A., A. Budiharjo, dan E. Kusdiyantini. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (*Rhodophita*) dari Perairan Kutuh Bali. Jurnal Biologi. 2 (2): 11-17.
- Saputra, R., T. Arwiyanto, dan A. Wibowo. 2015. Uji Aktivitas Antagonistik Beberapa Isolat Bacillus spp. terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Beberapa Varietas Tomat dan Identifikasinya. Jurnal PROSSEMNAS MASYBI ODIV INDON. 1 (5): 1116-1122.
- Sastrahidayat, I.R., S. Djauhari, N. Saleh, dan A. Muhibuddin. 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 Diversity Of Rhizosphere Zone. AGRIVITA. 33 (1).
- Savas, S., A. Adiguzel, dan K. Inan. 2009. Molecular characterization of thermophilic bacteria isolated from Van City Ercis Town Hasanabdal hot spring. Rom Biotech Lett. 14: 4445-4454.
- Schaad, N.W., J.B. Jones, dan W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. Ed ketiga. APS Press. St Paul Minnesota.
- Semangun, H. 1991. Penyakit-penyakit Penting Tanaman Hortikultura di Indonesia. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Semangun, H. 2006. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Sharma, A., V.D. Diwevidi, S. Singh, K.K. Pawar, M. Jerman, L.B. Singh, dan D. Srivastawa. 2013. Biological Control and its Important in Agriculture. International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research. 4 (3): 175-180.
- Shivas, R., dan D Beasley. 2005. Pengelolaan Koleksi Patogen Tanaman Departemen Pertanian, Perikanan dan Kehutanan Pemerintah Australia (Departement of Agriculture, Fisheries and Forestry, DAFF). <http://daff.gov.au>.

- Shofiana, R.H., L. Sulistyowati, dan A. Muhibuddin. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Serta Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus*). Jurnal HPT. 3 (1).
- Subekti, N.A. 2010. Morfologi Tanaman dan Fase Pertumbuhan Jagung. Teknik Produksi dan Pengembangan Tanaman Jagung. Jakarta. Hal. 20-21.
- Sudjono, M.S. 1990. Influence of planting date and meteorological factor on leaf blight and purple ear rot and yield of maize. Prosiding Lokakarya Hasil Penelitian Komoditas dan Studi Khusus Proyek Pembangunan Penelitian Terpadu (AARP). Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian bekerjasama dengan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta. Hal. 243-259.
- Sunatmo, T.I. 2007. Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium. Penerbit Ardy Agency. Bogor.
- Vello, R.V., L.V.C. Medina, J. Segalin, dan A. Brandelli. 2011. Production of Lipopeptides among *Bacillus* strain Showing Growth Inhibition of Phytopathogenic Fungi. Journal of Folia Microbiology.
- Wardhika, C.M., Suryanti dan T. Joko. 2014. Eksplorasi bakteri yang berfungsi sebagai agens pengendali hayati *Fusarium solani* dan *Meloidogyne incognita* pada lada. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia. 18 (2): 89-94.
- Wulandari, D., L. Sulistyowati, dan A. Muhibuddin. 2014. Keanekaragaman Jamur Endofit pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dan Kemampuan Antagonismenya Terhadap *Phytophthora infestans*. Jurnal HPT. 2 (1).
- Xu, Z., J. Shao, B. Li, X. Yan, Q. Shen, dan R. Zhang. 2013. Contribution of Bacillomycin D in *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to Antifungal Activity and Biofilm Formation. Applied and Environmental Microbiology Journal.
- Yani, A.P. 2003. Identifikasi jenis-jenis mikroalga di sumber air panas sungai air putih zona penyanggah Taman Nasional Kerinci Seblat di Kecamatan Lebong Utara Propinsi Bengkulu. Jurnal Penelitian UNIB. 9: 42-44.
- Zuhria, S.A., S. Djauhari, dan A. Muhibuddin. 2016. Exploration and Antagonistic Test of Endophytic Fungi from Soybean (*Glycine max* L. Merr) With Different Resistance to *Sclerotium rolfsii*. Jurnal Exp. Life Sci. 6 (2).
- Zhao, Y., J.N. Selvaraj, F. Xing, L. Zhou, Y. Wang, H. Song, X. Tan, L. Sun, L. Sangare, Y.M.E. Folly, dan Y. Liu. 2014. Antagonistic Action of *Bacillus subtilis* Strain SG6 on *Fusarium graminearum*. Plos one. 9 (3).