

**EFEKTIVITAS BAKTERI ANTAGONIS *Bacillus* sp. TERHADAP JAMUR
Phytophthora nicotiana (Oomycetes: Peronosporales) PADA TANAMAN
TEMBAKAU**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh:

Alpiyah

0510460005



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2011

EFEKTIVITAS BAKTERI ANTAGONIS *Bacillus* sp. TERHADAP JAMUR

***Phytophthora nicotianae* (Oomycetes: Peronosporales) PADA TANAMAN**

TEMBAKAU

Oleh:

Alpiyah

0510460005-46

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

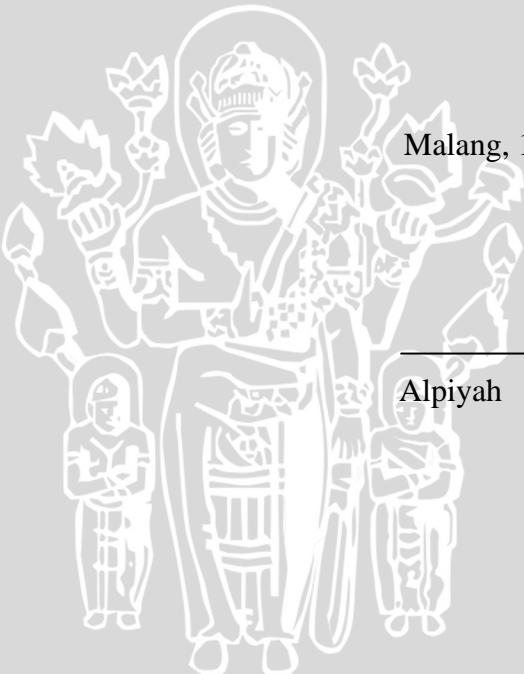
2011

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan gagasan atau hasil penelitian saya sendiri dengan bimbingan, komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di Perguruan Tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 11 Agustus 2011

Alpiyah



Judul Skripsi : **EFEKTIVITAS BAKTERI ANTAGONIS *Bacillus* sp. TERHADAP JAMUR *Phytophthora nicotianae* (Oomycetes: Peronosporales) PADA TANAMAN TEMBAKAU**

Nama Mahasiswa : **ALPIYAH**

Nim : 0510460005-46
Jurusan : HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
Menyetujui : Pembimbing

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pendamping

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

Pembimbing Lapang

Ir. Titiek Yulianti, MAgSc. Ph. D.
NIP. 19610720 198503 2 002

Mengetahui, Ketua Jurusan
Hama dan Penyakit Tumbuhan

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

Tanggal Persetujuan



Pengaji I

Pengaji II

Dr. Ir. Sri Karindah, MS.
NIP. 19520517 197903 2 001

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

Pengaji III

Pengaji IV

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

Ir. Titiek Yulianti, MAgSc. Ph. D.
NIP. 19610720 198503 2 002

Tanggal Lulus : 11 Agustus 2011



RINGKASAN

ALPIYAH. 0510460005. Efektivitas Bakteri Antagonis *Bacillus* sp. terhadap Jamur *Phytophthora nicotianae* (Oomycetes: Peronosporales) pada Tanaman Tembakau. Dibawah bimbingan Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS., Dr. Anton Muhibuddin, SP. MP. dan Ir. Titiek Yulianti, MAgSc. Ph. D.

Tembakau merupakan komoditas perkebunan yang bernilai ekonomi tinggi, sebagai sumber penerimaan negara melalui devisa, cukai dan pajak. Tembakau di beberapa sentra produksi merupakan sumber pendapatan petani, penyedia lapangan kerja dan penggerak ekonomi di daerah. Tembakau digunakan sebagai bahan baku rokok dan juga sebagai tembakau kunyah atau susur.

Salah satu penyakit penting yang menyerang tanaman tembakau di Indonesia adalah penyakit lanas yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora nicotianae*. Pengendalian *P. nicotianae* sulit dilakukan karena *P. nicotianae* dapat bertahan hidup di dalam tanah sebagai saprofit fakultatif jika tidak ada inang. Pengendalian menggunakan fungisida mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan, mikroorganisme nontarget, terjadinya resistensi patogen, dan menurunnya keanekaragaman mikroorganisme tanah serta biaya untuk pembelian fungisida cukup tinggi. Pengendalian dengan menggunakan agensia hayati lebih aman dan ramah lingkungan meskipun hasilnya tidak seefektif fungisida.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. dalam media cair yang masih efektif mengendalikan penyakit lanas *P. nicotianae* pada tanaman tembakau. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitopatologi dan rumah kaca Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat (BALITTAS) Karangploso Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2010 sampai Januari 2011.

Penelitian terdiri dari dua tahap penelitian yaitu secara *in vitro* dan secara *in vivo*. Penelitian secara *in vitro* terdiri dari uji *Dual Culture* 2 titik, uji *Dual Culture* 5 titik dan uji *Pour Plate*. Penelitian secara *in vivo* yaitu uji intensitas serangan penyakit lanas *P. nicotianae* pada tanaman tembakau. Tahap *in vitro* terdiri dari 10 perlakuan, 2 kali ulangan. Sedangkan tahap *in vivo* terdiri dari 4 perlakuan, 3 ulangan setiap ulangan terdiri dari 9 sampel tanaman tembakau. Hasil data tahap *in vitro* maupun *in vivo* dianalisis menggunakan uji t 5 %.

Hasil penelitian secara *in vitro* pada uji *Dual Culture* 2 titik, uji *Dual Culture* 5 titik dan uji *Pour Plate* menunjukkan *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 yang efektif mengendalikan *P. nicotianae* adalah dari masa simpan 6 bulan. Hasil penelitian secara *in vivo* menunjukkan campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan lebih mampu mengendalikan *P. nicotianae*.

SUMMARY

ALPIYAH. 0510460005. Effectiveness of Bacterial Antagonist *Bacillus* sp. against *Phytophthora nicotianae* (Oomycetes: Peronosporales) in Tobacco Plants. Supervised by Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS., Dr. Anton Muhibuddin, SP. MP. and Ir. Titiek Yulianti, MAgSc. Ph. D.

Tobacco is a high economic value commodity, hence it has a function as a source of state revenues through foreign exchange, customs and taxes. Tobacco in some production center is a source of income of farmers, employers and economic drivers in the area. Tobacco is used as raw materials as well as cigarettes and chewing tobacco or fringe.

One of the important diseases that attack tobacco Sweet is blackshank caused by the fungus *Phytophthora nicotianae*. Control *P. nicotianae* is difficult because *P. nicotianae* can survive in soil as a facultative saprophyte in the absence of the host. The us of fungicides has negative impact on the environment, non target microorganisms, causes emergence of resistant pathogens, and decreases diversity of soil microorganisms as well as the costs for the purchase of fungicides is quite high. Using biological control agents are safer and environmentally friendly, but the results are not as effective as fungicides.

The purpose of this study was to determine the effectiveness of antagonistic bacterium *Bacillus* sp. in a liquid medium against *P. nicotianae* on tobacco plants. The bacterium was stored in various periods, ie. 3, 6, and 12 months. The research was conducted in laboratory and greenhouse Fitopatologi Research Institute for Tobacco and Fiber Crops (BALITTAS) Karangploso Malang. The experiment was conducted in October 2010 to January 2011.

The study consisted of two phases of activity, i.e. *in vitro* and *in vivo*. *In vitro* test consisted of *Dual Culture* using 2 spots, *Dual Culture* test using 5 spots, and Pour Plate test. *In vivo* test determined the black shank severity on tobacco plants. *in vitro* consisted of 10 treatments, two replicates. While the *in vivo* test consisted of 4 treatments, 3 replicates with each treatment consisted of nine samples of tobacco plant. The data were analyzed using the t test 5%.

The results of *in vitro* test in *Dual Culture* 2 points, *Dual Culture* 5 points and Pour Plate test showed that *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 effectively controlled *P. nicotianae* when they stored for six months. The results *in vivo* showed that a mixture of *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 kept in liquid medium for six months gave better control to *P. nicotianae* compared to other treatments.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan jalan dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul "Efektivitas Bakteri Antagonis *Bacillus* sp. terhadap Jamur *Phytophthora nicotianae* (Oomycetes: Peronosporales) pada Tanaman Tembakau".

Ucapan terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS. sebagai pembimbing utama, Dr. Anton Muhibuddin, SP. MP. sebagai pembimbing pendamping dan Ir. Titiek Yulianti, MAgSc. Ph. D. sebagai pembimbing lapang, atas bimbingan serta ilmu yang diberikan telah mempertajam analisis, sintesis serta sistematika berfikir. Kompetensi beliau pada bidang ilmu, metodologi serta komunikasi, dan cara mengajar, membimbing, serta menghargai mahasiswa menjadi catatan tersendiri bagi penulis. Dari beliau penulis mendapatkan bekal untuk menjadi seorang ilmuwan yang jujur, konsisten, dan beliau menanamkan perlunya kecermatan, ketekunan pada bidang ilmu yang ditekuni, serta kesederhanaan sikap. Terima kasih kepada kepala Balai Tanaman Tembakau dan Serat (BALITTAS) Malang yang telah memberikan ijin kepada penulis melakukan penelitian di BALITTAS Malang.

Beasiswa UB, Gudang Garam, BBM dan Yayasan Supersemar, telah penulis terima selama penulis mengikuti program S1. Pada kesempatan ini penulis sampaikan terimakasih atas perhatian yang diberikan dan sangat membantu bagi kelancaran studi penulis.

Semoga Skripsi ini bermanfaat bagi yang memerlukan.

Malang, Agustus 2011

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Dusun Njamuran, Desa Sukodadi 02, Kecamatan Wagir, Kabupaten Malang, Propinsi Jawa Timur, pada tanggal 10 Oktober 1982 dari pasangan seorang ayah bernama Takim dan seorang ibu bernama Napsati. Penulis merupakan putri kedua dari lima bersaudara.

Penulis memulai pendidikan sekolah di Sekolah Dasar Negeri (SDN) Desa Sukodadi 02, Kecamatan Wagir, Kabupaten Malang, Propinsi Jawa Timur tahun 1989-1997. Penulis melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama Terbuka (SMPT) Kecamatan Wagir, Kabupaten Malang, Propinsi Jawa Timur tahun 1999-2002. Penulis melanjutkan pendidikan ke Sekolah Menengah Umum (SMU) ARJUNA Kota Malang, Propinsi Jawa Timur pada tahun 2002-2005 kemudian melanjutkan ke paket C di Desa Pandanwangi, Kecamatan Blimbingsari, Kota Malang, Propinsi Jawa Timur. Pada tahun 2005 penulis diterima di Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, Propinsi Jawa Timur melalui jalur Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru (SPMB).

Selama menjadi mahasiswa Fakultas Pertanian, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman (HIMAPTA). Penulis juga aktif dalam organisasi Pusat Riset dan Kajian Ilmiah Mahasiswa (PRISMA) dan aktif dalam organisasi Unit Aktivitas Karawitan dan Tari (UNITANTRI). Penulis mengikuti kepanitiaan yang diselenggarakan UNITANTRI sebagai Sie Kestari dalam kegiatan Gebyar Festival Tari XVI tahun 2008. Penulis juga mengikuti kepanitiaan yang diselenggarakan oleh PRISMA sebagai Sie Kestari pada Kegiatan Kompetisi Karya Tulis Ilmiah Pelajar (KKTIP) tahun 2009.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| RINGKASAN | i |
| SUMMARY | ii |
| KATA PENGANTAR..... | iii |
| RIWAYAT HIDUP | iv |
| DAFTAR ISI..... | v |
| DAFTAR GAMBAR..... | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR LAMPIRAN | x |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1. Latar Belakang | 1 |
| 2. Rumusan Masalah | 3 |
| 3. Tujuan | 3 |
| 4. Hipotesis..... | 3 |
| 5. Manfaat | 3 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 1. Deskripsi Tanaman Tembakau..... | 4 |
| 1.1. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Tembakau | 4 |
| 2. Deskripsi jamur <i>Phytophthora nicotianae</i> | 5 |
| 2.1. Klasifikasi jamur <i>Phytophthora nicotianae</i> | 5 |
| 2.2. Gejala Penyakit yang disebabkan <i>Phytophthora nicotianae</i> | 5 |
| 2.3. Biologi <i>Phytophthora nicotianae</i> | 6 |
| 2.4. Siklus hidup <i>Phytophthora nicotianae</i> | 8 |
| 2.5. Pengendalian <i>Phytophthora nicotianae</i> | 8 |
| 3. Deskripsi Bakteri Antagonis <i>Bacillus</i> sp. | 16 |
| 3.1. Klasifikasi Bakteri Antagonis <i>Bacillus</i> sp. | 16 |
| 3.2. Biologi Bakteri Antagonis <i>Bacillus</i> sp. | 16 |
| 3.3. Siklus Hidup Bakteri Antagonis <i>Bacillus</i> sp. | 20 |
| III. METODOLOGI | 22 |
| 1. Tempat dan Waktu Penelitian | 22 |
| 2. Alat dan Bahan | 22 |
| 3. Metode Penelitian | 22 |
| 4. Pelaksanaan Penelitian | 24 |
| 5. Variabel Pengamatan | 27 |
| 6. Analisa Data..... | 28 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 29 |
| 1. Hasil Penelitian..... | 29 |
| 1. Penelitian secara <i>In Vitro</i> | 29 |
| 1. 1. Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Uji <i>Dual Culture</i> 2 titik..... | 29 |
| 1. 2. Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Uji <i>Dual Culture</i> 5 titik..... | 33 |
| 1. 3. Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Uji <i>Pour Plate</i> | 37 |

| | |
|--|----|
| 2. Penelitian secara <i>In Vivo</i> | 41 |
| 2. 1. Uji Intensitas Serangan Penyakit Lanas Pada Tanaman Tembakau | 41 |
| 2. Pembahasan..... | 44 |
| V. KESIMPULAN | 49 |
| 1. Kesimpulan | 49 |
| 2. Saran..... | 49 |
| DAFTAR PUSTAKA | 50 |
| LAMPIRAN | 56 |



DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Teks | Halaman |
|-------|--|---------|
| 1. | Uji <i>in vitro Phytophthora nicotianae</i> (P) yang diberi bakteri antagonis (B: <i>Bacillus</i> sp.) menggunakan metode <i>Dual Culture</i> 2 titik..... | 25 |
| 2. | Uji <i>in vitro Phytophthora nicotianae</i> (P) yang diberi bakteri antagonis (B: <i>Bacillus</i> sp.) menggunakan metode <i>Dual Culture</i> 5 titik..... | 25 |
| 3. | Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 30 |
| 4. | Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK1 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 30 |
| 5. | Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 30 |
| 6. | <i>P. nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 pada media CMA 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 31 |
| 7. | <i>P. nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK1 pada media CMA 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 31 |
| 8. | <i>P. nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 pada media CMA 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 32 |
| 9. | <i>P. nicotianae</i> tanpa diberi <i>Bacillus</i> sp. pada media CMA 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 32 |
| 10. | Spora <i>P. nicotianae</i> pada perlakuan <i>P. nicotianae</i> diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 dari masa simpan 6 bulan pada media CMA; 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI); 1= Hifa; 2= Klamidospora; 3= Oogonium; 4= Oogonia | 32 |
| 11. | Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 34 |
| 12. | Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK1 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 34 |
| 13. | Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 34 |
| 14. | <i>P. nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 pada media CMA Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 35 |
| 15. | <i>P. nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK1 pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 35 |
| 16. | <i>P. nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 36 |

| | |
|--|----|
| 17. <i>P. nicotianae</i> (tengah) tanpa diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 36 |
| 18. Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 38 |
| 19. Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK1 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 38 |
| 20. Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 38 |
| 21. <i>P. nicotianae</i> (tengah) yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK0 a: 3 bulan; b: 6 bulan; c: 1 tahun pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)...39 | 39 |
| 22. <i>P. nicotianae</i> (tengah) yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK1 a: 3 bulan; b: 6 bulan; c: 1 tahun pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)...39 | 39 |
| 23. <i>P. nicotianae</i> (tengah) yang diberi <i>Bacillus</i> sp. BK2 a: 3 bulan; b: 6 bulan; c: 1 tahun pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)...40 | 40 |
| 24. <i>P. nicotianae</i> (tengah) tanpa diberi <i>Bacillus</i> sp. pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)..... | 40 |
| 25. Perkembangan tingkat serangan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Tanaman Tembakau setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI).....42 | 42 |
| 26. Tanaman Tembakau umur 7 Minggu Setelah Tanam (MST) yang diberi <i>Bacillus</i> sp.dalam berbagai masa simpan.....43 | 43 |
| 27. Tanaman Tembakau 5 MST (a): sehat dengan diberi campuran <i>Bacillus</i> sp. BK0, BK1, BK2 6 bulan; (b): tanpa diberi <i>Bacillus</i> sp. (Kontrol)..... | 48 |

DAFTAR TABEL

| Nomor | Teks | Halaman |
|-------|---|---------|
| 1. | Rerata Jari-jari Koloni <i>Phytophthora nicotianae</i> pada uji <i>Dual Culture</i> 2 titik | 29 |
| 2. | Rerata Jari-jari Koloni <i>Phytophthora nicotianae</i> pada uji <i>Dual Culture</i> 5 titik | 33 |
| 3. | Rerata Jari-jari Koloni <i>Phytophthora nicotianae</i> pada uji <i>Pour Plate</i> | 37 |
| 4. | Intensitas Serangan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada tanaman Tembakau..... | 41 |



DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor | Teks | Halaman |
|-------|--|---------|
| 1. | Analisis Uji t 5% Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Uji Dual Culture 2 titik, Setiap Pengamatan..... | 56 |
| 2. | Analisis Uji t 5% Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Uji Dual Culture 5 titik, Setiap Pengamatan..... | 63 |
| 3. | Analisis Uji t 5% Pertumbuhan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Uji Pour Plate, Setiap Pengamatan..... | 67 |
| 4. | Analisis Uji t 5% Intensitas Serangan <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Tanaman Tembakau, Setiap Pengamatan..... | 76 |



I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Tembakau merupakan komoditas perkebunan yang bernilai ekonomi tinggi, sebagai sumber penerimaan negara melalui devisa, cukai dan pajak. Tembakau di beberapa sentra produksi merupakan sumber pendapatan petani, penyedia lapangan kerja dan penggerak ekonomi di daerah. Tembakau digunakan sebagai bahan baku rokok dan juga sebagai tembakau kunyah atau susur.

Dalam usaha budidaya tembakau tidak lepas dari gangguan hama, penyakit dan gulma. Hama yang menyerang tanaman tembakau dapat menimbulkan kerusakan yang mempengaruhi hasil dan nilai jual daun tembakau. Gulma yang tumbuh di sekitar tanaman akan bersaing untuk memperebutkan nutrisi dan ruang tempat tumbuh. Gangguan yang disebabkan penyakit seperti virus, bakteri, dan jamur mengganggu proses-proses dalam metabolisme tumbuhan sehingga menyebabkan tanaman sakit atau mati.

Salah satu penyakit penting yang menyerang tanaman tembakau di Indonesia adalah penyakit lanas yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora nicotianae* vBdH var. *nicotianae* Waterhouse (Semangun, 1987). Pengendalian *P. nicotianae* sulit dilakukan karena *P. nicotianae* dapat bertahan hidup di dalam tanah sebagai saprofit fakultatif jika tidak ada inang. Pengendalian penyakit dengan menggunakan fungisida kimiawi mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan dan mikroorganisme nontarget, terjadinya resistensi patogen, degradasi lingkungan dan menurunnya keanekaragaman mikroorganisme tanah serta biaya untuk pembelian fungisida kimia cukup tinggi.

Beberapa alternatif pengendalian lanas yang lain adalah dengan menanam varietas tahan, pergiliran tanaman, mengurangi kelembaban pembibitan, pemakaian pupuk organik yang tidak mengandung *P. nicotianae*, membersihkan sisa-sisa tanaman tembakau, pengolahan tanah, pengairan, dan desinfeksi tanah serta penggunaan agensia hayati. Pengendalian dengan menggunakan agensia hayati lebih aman dan ramah lingkungan meskipun hasilnya tidak seefektif fungisida kimia sintetik.

Salah satu agensia hidup atau mikroba antagonis yang dapat digunakan untuk mengendalikan patogen penyebab penyakit adalah Rhizobakteri (bakteri yang hidup disekitar akar tanaman). Terdapat beberapa genus bakteri yang mampu berasosiasi dengan tanaman sebagai penghambat pertumbuhan jamur dan bakteri patogen, antara lain: *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Herba*, dan *Pseudomonas* (Botelho *et al.* 2006; Tilak *et al.* 2005).

Spesies dari genus *Bacillus* yang dapat digunakan sebagai agensia hidup yaitu *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pantotketicus* dan masih banyak lagi yang belum diteliti secara optimal. Genus *bacillus* mampu merespon cekaman dari lingkungan melalui beberapa mekanisme, yakni melalui perkembangan, kompetisi sel, reproduksi enzim dan sporulasi (Schaecher, 2004).

Bacillus dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti di tanah dengan populasi yang cukup tinggi, dan udara (Pelczar, dan Chan, 1986), dan bahan makanan (Timotius, 1982). *Bacillus* memproduksi enzim kitinase yang dapat digunakan untuk mendegradasi organisme yang dinding selnya terdiri dari kitin (Muharni, 2009), selain itu juga memproduksi enzim selulose yang dapat digunakan untuk mendegradasi organisme yang dinding selnya terdiri dari selulosa dan aktivitasnya disebut selulolitik (Ohrmund dan Elrod, 2002), dinding selnya jamur phytophthora adalah selulosa (Salma dan Gunarto, 1999).

Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (BALITTAS) memiliki tiga isolat bakteri antagonis *Bacillus* sp., yang telah diberi kode yaitu BK0 dari pengenceran tanah perakaran tembakau daerah Temanggung Jawa Tengah dengan kerapatan 10^5 CVU per ml, BK1 dan BK2 dari pengenceran tanah perakaran tembakau daerah Jember Jawa Timur dengan kerapatan 10^5 CVU per ml. Ketiga isolat tersebut diformulasi dalam bentuk cair pada jumlah dan media yang sama kemudian disimpan dalam periode 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun pada suhu ruang 37°C . Penyimpanan bakteri dalam formulasi bertujuan agar dapat bakteri bertahan hidup lebih lama sekaligus mempertahankan efektivitasnya.

Sebelum diformulasi, uji daya hambat ketiga isolat *Bacillus* tersebut cukup baik mengendalikan pertumbuhan *P. nicotianae* secara *in vitro* maupun secara *in vivo* (Hidayah, 2008). Namun setelah diformulasikan dan disimpan efektivitasnya belum diketahui.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian ini, yang berjudul **“Efektivitas Bakteri Antagonis *Bacillus* sp. Terhadap Jamur *Phytophthora nicotianae* (Oomycetes: Peronosporales)” pada Tanaman Tembakau.** Pengujian isolat-isolat tersebut dari beberapa periode masa simpan terhadap *P. nicotianae* baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah penyimpanan *Bacillus* sp. dalam media cair mempengaruhi efektivitasnya dalam mengendalikan penyebab penyakit lanas *P. nicotianae* pada tanaman tembakau?

3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. yang masih efektif mengendalikan penyakit lanas *P. nicotianae* pada tanaman tembakau.

4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah semakin lama bakteri disimpan semakin turun efektivitasnya.

5. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. dalam media cair agar tetap bisa efektif mengendalikan *P. nicotianae* pada tembakau.

II. TINJAUAN PUSTAKA

1. Deskripsi Tanaman Tembakau

1.1. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Tembakau

Kedudukan tanaman tembakau dalam sistematiska (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut yaitu:

| | |
|--------------|---|
| Kingdom | : Plantae (Tumbuhan) |
| Sub Kingdom | : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) |
| Super Divisi | : Spermatophyta (Menghasilkan biji) |
| Divisi | : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) |
| Kelas | : Magnoliopsida (berkeping dua atau dikotil) |
| Sub Kelas | : Asteridae |
| Ordo | : Solanales |
| Famili | : Solanaceae (suku terung-terungan) |
| Genus | : Nicotiana |
| Spesies | : <i>Nicotiana tabacum</i> L. (Anonymous, 2009a). |

Menurut Abdullah dan Soedarmanto (1978) tanaman tembakau berbatang tegak, tinggi tanaman dapat mencapai 4 m apabila syarat-syarat tumbuh baik. Seluruh tanaman berwarna hijau berbulu serta diliputi oleh kelenjar-kelenjar yang mengeluarkan zat pekat. Berbunga majemuk, bunga berbentuk terompel, kelopak berlekuk 5, berwarna merah kekuningan. Syarat tumbuh tanaman tembakau pada curah hujan rata-rata 2000 mm per tahun, pada ketinggian 200-3000m di atas permukaan laut, suhu udara 21-32°C, pH berkisar lebih kurang 5-6.

Laju pertumbuhan patogen dengan tumbuhan atau inang terjadi apabila spora patogen mengadakan kontak dengan tumbuhan hal ini sangat erat dengan pengaruh genetika dan kondisi lingkungan yang baik untuk perkembahan spora. Banyak tumbuhan bersifat antagonis terhadap patogen, karena tumbuhan mempunyai rintangan-rintangan mekanis dan kimiawi yang dapat mencegah infeksi. Tidak semua patogen mampu menyerang inang. Sebaliknya tidak semua tumbuhan tahan terhadap patogen (Sastrahidayat, 1990).

2. Deskripsi Jamur *Phytophthora nicotianae*

2.1. Klasifikasi Jamur *Phytophthora nicotianae*

Menurut Agrios (2005) *Phytophthora* sp. dalam sistematika taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut yaitu:

- Kingdom : Chromista
- Phylum : Oomycota
- Class : Oomycetes
- Order : Peronosporales
- Family : Peronosporaceae
- Genus : Phytophthora
- Spesies : *Phytophthora* sp.

2.2. Gejala Penyakit yang disebabkan *Phytophthora nicotianae*

Penyakit lanas dapat menyerang tanaman tembakau dengan berbagai umur, baik di pembibitan, di lapang (pertanaman). Pada bibit yang daunnya bergaris tengah 2-3 cm, penyakit mula-mula diketahui dari warna daun hijau kelabu kotor. Dalam pembibitan penyakit lanas dapat meluas dengan cepat, sehingga pembibitan tampak seperti disiram air panas. Sedang pada tanaman yang lebih tua biasanya gejala pembusukan hanya terbatas pada leher akar. Bagian yang busuk berwarna coklat kehitaman dan agak berlekuk. Semua daun dari tanaman yang bersangkutan layu mendadak. Gejala serangan pada daun tanaman dewasa biasanya terlihat adanya bercak dengan batas yang kurang jelas, dan mempunyai cincin-cincin yang berwarna gelap, terang cokelat kehitaman dan agak kebasah-basahan. Bagian yang berwarna gelap dibentuk di waktu malam, sedang yang terang di waktu siang. Umur bercak dapat diperkirakan dengan memperhatikan banyaknya cincin-cincin. Jika daun sakit tidak segera dipetik bercak akan menjalar kebatang dan terjadilah lanas batang yang dapat mematikan tanaman. Dengan demikian sering terdapat pembusukan pada batang yang letaknya agak jauh dari tanah (Semangun, 1987). Gejala serangan penyakit lanas berupa tanaman layu, daun menguning, dan pada pangkal batang busuk berwarna cokelat, apabila dibelah empulur bersekat-sekat (Jaarsveld *et al.* 2002 *dalam* Suhara dan

Yulianti 2009). Jamur famili peronosporaceae merupakan parasit obligat bagi tumbuhan berpembuluh. Percabangan sporangiosfor patogen timbul dari stomata daun. Serangan jamur spesies *Phytophthora* terutama terjadi pada daun-daun yang terletak pada bagian bawah daun, sedangkan gejalanya tampak pada permukaan atas dan bawah daun. Ujung hifa jamur *Phytophthora* menggembul diatas permukaan daun melalui stomata pada daun yang telah terinfeksi (Sastrahidayat, 1990).

2.3. Biologi *Phytophthora nicotianae*

Hifa adalah sebuah buluh berdinding kokoh yang mengandung protoplasma, multinukleat. Miselium atau kumpulan hifa *P. nicotianae* berwarna putih, dan tidak bersekat atau tidak bersepta tetapi mempunyai banyak inti mempertahankan diri terhadap kerusakan di dalam sitoplasma sehingga disebut jamur coenocytic (Setiawan dan Irawan 2009). Spora terdiri dari satu atau beberapa sel (bisa haploid ataupun diploid) yang terbungkus oleh lapisan pelindung. Spora berkecambah dengan membentuk hifa baru. Spora merupakan hasil reproduksi jamur yang dibentuk secara seksual (Semangun, 1987).

Pembelahan seksual terjadi melalui bersatunya inti sel dari anteridium dengan sel telur haploid (oogonia) dan menghasilkan satu oospora diploid (sel telur yang telah dibuahi) yang mengisi seluruh ruang oogonium yang berbentuk bulat, kemudian oospora mengalami diferensiasi menjadi satu atau lebih oospores berwarna kuning keemasan. Setelah mengalami masa dorman, oospora berkecambah membentuk zoosporangium yang menghasilkan zoospora diploid dengan dua papila (flagel) per sporangium (Agrios, 1988), flagel untuk berenang (zoosporik) karena tertarik oleh gula atau asam amino yang dilepas oleh ujung akar (Setiawan dan Irawan 2009). Selanjutnya zoospora yang keluar disebut zoospores yang akan tumbuh menjadi hifa baru yang diploid (Agrios, 1988).

Selain itu juga membentuk spora berdinding tebal yang disebut klamidospora berwarna kecoklatan. Klamidospora dapat dibentuk pada ujung atau di tengah-tengah hifa (Wanatabe, 1978).

Pembiakan aseksual jamur kelas oomycetes, ordo peronosporales dilakukan oleh sporangia yang berbentuk ellipsoid, agak bulat (Wanatabe, 1978), dan dibentuk pada sporangiospora (spora yang membentuk sporangium pada ujungnya) dengan cara pembentukan zoospora yang berkembang dalam sporangia disebut sporangium (alat pembentuk spora secara aseksual di dalamnya) yang membentuk spora kembara (zoospora) sering dengan dua papila (flagel) untuk berenang (zoosporik) per sporangium karena tertarik oleh gula atau asam amino yang dilepas oleh ujung akar (Setiawan dan Irawan 2009). Selanjutnya zoospora yang keluar disebut zoospores yang akan tumbuh menjadi hifa baru yang diploid, ujung-ujung hifa disebut zoosporangium (sporangium yang menghasilkan zoospora) (Agrios, 1988). Setelah tua sporangia tersebut akan jatuh dan disebarluaskan oleh angin. Pada phytophthora ujung-ujung hifa tidak membentuk zoosporangium tapi membentuk konodium (spora yang dibentuk secara aseksual dan terjadi karena deferensiasi dari ujung hifa). Ujung hifa menggembul diatas daun melalui stomata pada daun yang telah terinfeksi. Pada suhu hangat konidium akan tumbuh menjadi hifa dan akan menginfeksi tumbuhan melalui stomata, lentisel atau jaring-jaring luka. Pada suhu dingin konidium akan berfungsi sebagai sporangium yang akan menghasilkan zoospora, jika jatuh di air pada permukaan daun akan tumbuh menjadi hifa selanjutnya membentuk miselium yang baru seperti pada pertumbuhan konidium (Satrahidayat, 1990).

Pembiakan seksual, pembentukan oogonium, anteridium, dan oospora phytophthora jarang ditemukan di Laboratorium, di Indonesia (Agrios, 1988; Semangun, 1987). Spora yang diproduksi secara seksual biasanya berfungsi untuk fase dorman atau bertahan karena laju metabolisme rendah (oospora, zigospora, askospora), sedang spora hasil reproduksi aseksual banyak berfungsi untuk penyebaran (Setiawan dan Irawan 2009). Phytophthora pada musim dingin atau musim panas yang kering bertahan sebagai oospores, chlamydospores, atau miselium di dalam tanah atau menginfeksi akar, batang. Pada musim semi, oospores dan chlamydospores berkecambah, sedang miselium tumbuh dan menghasilkan zoosporangia. Zoospora berenang di dalam air tanah. Miselium dan zoospora dihasilkan selama lingkungan basah, dan cuaca dingin dapat

menyebarluaskan penyakit ke tanaman (Agrios, 1988). Suhu optimum pertumbuhan jamur yaitu 22-37°C, pH optimum 3,8-5,6. Kadar gula dalam medium 4-5%. Komponen struktur dinding sel jamur terdiri dari kitin, selulose atau glukan, resisten terhadap penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, peka terhadap griseofulvin (Pelczar dan Chan, 1986). Dinding sel jamur *Phytophthora* merupakan selulosa bukan kitin (Salma dan Gunarto, 1999).

2.4. Siklus Hidup *Phytophthora nicotianae*

Jamur *P. nicotianae* dapat bertahan hidup di dalam tanah, hidup secara saprofit fakultatif dari bahan organik dalam tanah. Pada tanah tegalan (kering) patogen dapat bertahan dalam waktu yang relatif lama, sehingga tanah yang terinfeksi merupakan sumber penular utama. Air hujan dan air pengairan membantu penyebaran patogen, karena zoospora maupun konidium dapat bergerak aktif dalam air. Selain itu angin dapat menerbangkan spora jamur sehingga angin juga memegang peranan dalam penularan penyakit (Jaarsveld *et al.* 2002 *dalam* Suhara dan Yulianti 2009). Apabila suhu rendah antara 15-23°C dan tanah basah *Phytophthora* menjadi rentan dalam menyerang pertumbuhan akar dan batang tanaman (Agrios, 1988).

2.5. Pengendalian *Phytophthora nicotianae*

Secara umum pengendalian yang dilakukan oleh petani yaitu:

a. Menanam Varietas Tahan

Pemilihan varietas tahan merupakan cara yang paling murah dalam pengendalian penyakit dan bisa dikombinasikan dengan cara pengendalian yang lain. Namun, penggunaan varietas tahan harus selaras dengan kebutuhan dan selera konsumen (Abadi, 2004).

b. Teknis Budidaya

Teknis budidaya dapat digunakan sebagai cara untuk mengendalikan penyakit tular tanah (*Phytophthora*). Namun praktek teknis budidaya tertentu dihindarkan karena dapat merangsang perkembangan penyakit. Pergiliran (rotasi) tanaman

dengan menanam tanaman bukan inang atau tanaman yang tidak disukai oleh penyebab penyakit target (patogen) untuk mengurangi sumber inokulum (Abadi, 2004). Sebagai contoh, di daerah Surakarta dan Yogyakarta sebidang tanah diizinkan untuk ditanami tembakau sekali dalam dua tahun. Di antara kedua musim tersebut di bidang tanah umumnya terdapat tiga kali tanaman padi sawah, yang dapat memutus siklus hidup Phytophthora di dalam tanah (Semangun, 1987).

Pengolahan tanah dengan cara penjemuran dan pembalik-balikan selama berbulan-bulan sebelum ditanami juga dapat mengurangi sumber inokulum jamur phytophthora (Semangun, 1987). Tanah yang tergenang dengan drainasi tidak baik menunjang perkembangan jamur phytophthora (Abadi, 2004). Oleh karena itu dapat dibuat parit-parit saluran air yang cukup lebar dan dalam. Air yang sudah dipakai di kebun tembakau tidak dipakai untuk mengairi kebun tembakau lainnya.

Pengeleban (pemberian air) tanah lebih kurang sebulan sebelum penanaman dapat mengurangi jamur phytophthora (Semangun, 1987).

Pemupukan akan meningkatkan keseimbangan hara di dalam tanah yang diperlukan tanaman untuk bertahan dari serangan patogen (penyebab penyakit), karena bila kondisi tanaman lemah, mudah terserang patogen. Pemakaian pupuk organik yang tidak mengandung *P. nicotianae* dapat dilakukan untuk menghindari sumber inokulum penyakit. Mematikan Phytophthora dalam pupuk organik dapat dilakukan dengan cara dipanasi sampai 60°C. Semakin lama waktu pembuatan kompos kandungan phytophthora semakin rendah (Semangun, 1987).

Mengurangi kelembaban pembibitan dengan mengatur jarak tanam yang cukup, serta atap pembibitan tidak terlalu rendah. Sanitasi lingkungan dapat dilakukan dengan cara membersihkan kawasan pertanaman tembakau dari tanaman inang lain. Penggunaan tanaman penutup tanah bukan inang dapat mengurangi serangan hama *Bemisia tabasaki* yang merupakan vektor virus. Tanaman penutup tanah *Crotalaria* dan *Tagetes* (kenikir) untuk mengendalikan nematoda puru akar *Meloidogyne* sp. (Abadi, 2004). *Meloidogyne* sp. penyebab luka pada akar sehingga tanaman mudah terserang penyakit (*P. nicotianae*) (Borai, Duncan, Graham dan Dickstein, 2003). Penjarangan bibit dilakukan untuk mengurangi kelembaban yang merupakan kondisi yang kondusif bagi

perkembangan patogen (Abadi, 2004). Membersihkan sisa-sisa tanaman dikumpulkan dan dibuat kompos dengan dibiarkan mengurai. Tanaman yang sakit dibuang dan dibakar. Pencabutan dilakukan dengan hati-hati dan segera dimasukkan ke dalam wadah agar tanah yang berpenyakit tidak berhamburan (Semangun, 1987).

c. Pengendalian dengan Fungisida/Bakterisida sintesis

Penggunaan pestisida sintesis merupakan cara pengendalian yang efektif, dan praktis. Sampai saat ini petani sangat tergantung pada penggunaan pestisida untuk mengendalikan penyebab penyakit (patogen). Namun dalam jangka waktu lama kurang efektif dan berdampak negatif karena tercuci, terikat koloid tanah, dan terdegradasi oleh mikroba tanah (Abadi, 2004).

d. Pengendalian Hayati

Pengendalian hayati adalah pengendalian dengan memanfaatkan musuh alami. Musuh alami adalah suatu organisme yang diserang oleh organisme lain, maka penyerang disebut musuh alami (Untung, 2001). Dengan memanipulasi lingkungan dapat meningkatkan aktivitas biologi musuh alami sehingga perkembangan patogen terhambat, dan mampu mencegah terjadinya penyakit pada tanaman (Mitchell, 1973). Aktivitas biologi tersebut berkaitan erat dengan sifat antagonisme mikroba yang dapat digunakan sebagai musuh alami, baik secara langsung melalui kompetisi maupun antibiosis dan juga secara tidak langsung melalui induksi resistensi tanaman inang (Trigalet *et al.* 1994).

e. Mekanisme Antagonis

Antagonis adalah suatu laju pertumbuhan yang berlawanan yang menyebabkan pertumbuhan spesies lain terganggu. Mekanisme antagonis dapat terjadi dengan berbagai cara seperti hiperparasitisme, kompetisi, kompetitif maupun antibiosis. Hiperparasitisme terjadi apabila organisme antagonis memparasiti organisme parasit. Kompetisi terjadi apabila ada dua atau lebih mikroorganisme yang sama-sama membutuhkan sesuatu yang diperlukan untuk

kelangsungan hidupnya, misalnya dalam hal nutrisi, ruang, oksigen, sumber karbon, nitrogen, dan sebagainya. Jika salah satu organisme yang memperolehnya, maka organisme yang lain akan kekurangan (Schaecher, 2004). Menurut Moat *et al.* (2002), pengaturan kompetisi sel pada bakteri terfokus pada tiga tipe pengaturan terkait cekaman sel oleh faktor lingkungan, yaitu pengaturan nutrisi, mortalitas dan enzim penghancur makromolekul (Kunst dan Rapoort, 1995; Schaecher, 2004).

Antibiosis merupakan terjadinya penghambatan atau penghancuran suatu mikroorganisme oleh senyawa metabolik yang diproduksi oleh organisme lain (Dwidjoseputro, 1989). Antibiotik atau antimikroba (bakteriosin) adalah senyawa organik dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme (*Bacillus*) dan zat-zat tersebut meskipun dalam jumlah sedikit mempunyai daya hambat terhadap mikroorganisme lain (Loeffler *et al.* 1990). Antimikroba *Bacillus* berupa polipeptida, protein atau senyawa mirip protein seperti megacin dihasilkan oleh *B. megaterium* (Tagg *et al.* 1976), coagulin dihasilkan oleh *B. coagulans* (Hyrönimus, 1998), cerein dihasilkan oleh *B. cereus* (Oscariz dan Pisabarro 2000), tochicin dihasilkan oleh *B. thuringiensis* (Paik *et al.* 1997), tirosin dihasilkan oleh *B. brevius*, basitrain dihasilkan oleh *B. subtilis*, polimiksin oleh *B. Polymyxa* (Dwidjoseputro, 1989), subtilin, bacillin, bacillomycin, bacitracin dihasilkan oleh *B. Subtilis* (Montealegre *et al.* 2003). *B. subtilis* dan senyawa antimikroba lain yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. efektif melawan bakteri Gram positif ialah basitrasin, gramicidin, laterosporin, pumulin dan tirocidin, sedangkan kolistin dan polimiksin bersifat efektif melawan bakteri Gram negatif. Difficidin memiliki spektrum luas, mikobacilin dan zwittermicin bersifat anti jamur (Todar, 2005). Biasanya *Bacillus* sp. untuk pembuatan saus ikan, subtilin untuk mengawetkan makanan (Zhang dan Lynd, 2004). Mekanisme kerja antibiotik adalah mengganggu bagian-bagian yang peka terhadap sel seperti mempengaruhi dinding sel, mengganggu fungsi membran sel, menghambat sintesis protein dan asam nukleat (Dwidjoseputro, 1989), hal ini menyebabkan pecahnya dinding sel dan membran sel organisme lain (Krebs, 1998).

Dinding sel bakteri, terdiri dari berbagai macam bahan organik, seperti selulose, hemiselulosa, kitin (yaitu karbohidrat yang mengandung unsur Nitrogen) (Waluyo, 2004), dan memproduksi enzim hydrolic, β -1, 3-glucanase (Marten *et al.* 2000). Golongan enzim hidrolase yang paling banyak, berfungsi untuk mengambil dan membongkar makanan. Enzim atau biokatalisator adalah katalisator organik yang dihasilkan oleh sel. Enzim hanya terdiri dari protein, tetapi ada enzim-enzim yang selain protein juga memerlukan komponen selain protein (koenzim). Enzim yang dikeluarkan dari dinding sel berfungsi diluar sel disebut eksoenzim atau eksotoksin untuk merubah sumber makanan (nutrisi) menjadi seperlunya. Sedang yang tidak dikeluarkan tetapi tersimpan didalam sel disebut endotoksin yang tidak berbahaya selama masih ada di dalam sel bakteri. Endotoksin mudah dipisahkan dengan penyaringan. Kebanyakan eksotoksin mudah terurai dengan perebusan atau penyinaran yang kuat. Masing-masing enzim merupakan katalis yang efektif bagi satu reaksi atau lebih. Bakteri mempunyai kemampuan bawaan untuk membentuk enzim aditif dan enzim konstitutif, yaitu enzim yang selalu ada di dalam sel, dan tidak dipengaruhi oleh faktor luar (Dwidjoseputro, 1989). Bacillus mempunyai enzim katalase dan superoksida dismutasa (Timotius, 1982).

Bacillus memproduksi enzim kitinase yang dapat digunakan untuk mendegradasi organisme yang dinding selnya terdiri dari kitin (Muharni, 2009), selain itu juga memproduksi enzim selulose yang dapat digunakan untuk mendegradasi organisme yang dinding selnya terdiri dari selulosa dan aktivitasnya disebut selulolitik (Ohrmund dan Elrod, 2002), dinding selnya jamur phytophthora adalah selulosa (Salma dan Gunarto, 1999). Selulosa banyak ditemukan pada dinding sel (sel jaringan vaskuler) tanaman, juga diproduksi bakteri dan jamur (Linder dan Teeri, 1997). Jamur memproduksi selulase membutuhkan waktu yang lama dibandingkan dengan bakteri (Puspitawati, 2009). Jamur aerob dapat mendegradasi selulosa dengan kemampuan berbeda dengan bakteri. Bakteri memiliki kecenderungan untuk mendegradasi selulosa *crystalline* (Mulcahy, 1996). Sedangkan jamur memiliki kecenderungan untuk mendegradasi selulosa pada sisi *amorphous* (Glazer dan Nikaido, 2007). Bakteri selulolitik

mendegradasi selulosa dengan cara mengeskresikan enzim selulose (Ahmed *et al.*, 2001). Sedangkan yang ditunjukkan oleh jamur *Trichoderma reesei* yang melepaskan enzim komplit saat mendegradasi *crystalline* selulosa. Oleh larena itu selulosa lebih mudah dipecah oleh enzim selulose yang disekresikan oleh mikroba selolitik (*Bacillus*) (McDonald *et al.* 2002).

Bacillus mampu menguraikan tumbuhan atau hewan yang mati, serta sisa-sisa kotoran organisme. *Bacillus* menguraikan protein, karbohidrat dan senyawa organik lain menjadi CO₂, gas amoniak, dan senyawa-senyawa lain yang lebih sederhana. Hidrolisis selulosa digunakan dalam siklus karbon sebagai sumber karbon (Zhang dan Lynd, 2004). Mikroba selulolitik (*bacillus*) pada umumnya akan mensekresikan tiga jenis enzim selulosa, yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukanase (Cai *et al.* 1999; Beauchemin *et al.* 2003), endoglukanase menghidrolisis bagian dalam 1,4-Dglycosidic dari glukosa, sehingga polimer glukosa memendek diikuti dengan meningkatkan gula reduksi. Eksoglukanase menghidrolisis rantai ujung selulosa yang tidak tereduksi dengan selobiosa sebagai struktur primer, sedangkan β -glukanase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa (Robson dan Chamliss, 1989). Selulase penghidrolisa selulosa dengan memecah ikatan β -1,4-D-glycosidic. Selulosa merupakan polimer rantai lurus glukosa yang tersusun atas 10.000 atau lebih D-glucosa yang dihubungkan dengan 1,4-D-glycosidic (Saxena dan Brown 2005; Salma dan Gunarto, 1999).

B. amyloliquefaciens selain menghasilkan enzim selulase juga menghasilkan enzim protease (Fardiaz, 1989), lipase, dan amilase (Wongsa dan Werukhamkul, 2007). Enzim lipase berfungsi dalam hidrolisis lemak, mono-, di-, dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol (Suzuki *et al.* 1988; Kosugi *et al.* 1990). Asam lemak dibutuhkan dalam metabolisme mikroorganisme yang bersangkutan (Madigan *et al.* 2003). Enzim protease merupakan biokatalisator pemecah protein menjadi molekul sederhana seperti asam amino (Kunst dan Rapoort, 1995; Schaecher, 2004). *Bacillus* mereaksikan asam amino dengan oksigen dalam tubuhnya untuk menghasilkan asam asetat, hidrogen, nitrogen, serta gas karbondioksida. Produk asam asetat ini menimbulkan bau yang khas

pada bakteri. Asam asetat yang dihasilkan ini diproses kembali oleh bakteri jenis methanogen. Selain asam asetat dan gas metan, beberapa bakteri menghasilkan gas hidrogen sulfida yang berbau seperti telur busuk. *Bacillus* sp. menggunakan glukosa dan galaktosa sebagai sumber karbon. Glukosa dan galaktosa merupakan monosakarida dari laktosa. Oleh karena itu keberadaan *Bacillus* sangat berperan dalam mineralisasi di alam (Loeffler *et al.* 1990). Mikroba yang memiliki sifat antagonis, hiperparasitisme, kompetisi, kompetitif dan mampu menghasilkan antibiotik memiliki kompetensi sebagai agensi hayati.

f. Agensi hayati

Agensi hayati adalah mikroba antagonis yang digunakan untuk mengendalikan patogen penyebab penyakit. Rhizobakteri (bakteri yang hidup disekitar akar tanaman) merupakan salah satu contoh agensi hayati yang secara langsung maupun tidak langsung digunakan untuk mengontrol serangan spesies penganggu (Nigam dan Mukerji, 1998). Rhizobakteri dilaporkan bisa menekan pertumbuhan jamur patogen dalam tanah secara alamiah. Terdapat beberapa genus bakteri yang mampu berasosiasi dengan tanaman, sebagai penghambat pertumbuhan jamur dan bakteri patogen, antara lain: Alcaligenes, Acinetobacter, Enterobacter, Erwinia, Rhizobium, Flavobacterium, Agrobacterium, *Bacillus*, Burkholderia, Serratia, Streptomyces, Azospirillum, Acetobacter, Herbaspirillum, dan Pseudomonas (Botelho *et al.* 2006; Tilak *et al.* 2005).

g. Bakteri Antagonis *Bacillus* sp. sebagai Agen Pengendali Hayati

Bacillus adalah salah satu jenis bakteri yang mempunyai potensi besar untuk digunakan sebagai pengendali hayati. *Bacillus* mempunyai inang yang sangat spesifik, tidak berbahaya bagi musuh alami, hama dan organisme nontarget lainnya, mudah terbiodegradasi oleh lingkungan, serta dapat dinaikkan patogenitasnya dengan teknik rekayasa genetik (Khetan, 2001). Secara umum genus *bacillus* mampu merespon cekaman dari lingkungan melalui beberapa mekanisme, yakni melalui perkembangan kompetisi sel, reproduksi enzim dan sporulasi (Schaecher, 2004). *Bacillus* telah dikenal sebagai agen bio-Kontrol sejak

tahun 50-an. Bacillus tersebar di berbagai tempat pada hampir semua penjuru dunia (Dent, 1993). Bacillus dapat diisolasi dari berbagai sumber, seperti di tanah dengan populasi yang cukup tinggi atau dari serangga yang terinfeksi di lapang serta udara (Pelczar dan Chan, 1986), dan bahan makanan (Timotius, 1982).

Pertama kali Bacillus dijumpai di Jepang pada tahun 1901, yang membunuh ulat sutera di tempat pemeliharaan. Sepuluh tahun kemudian, di Jerman ditemukan strain baru dari Bacillus pada larva yang menyerang biji-bijian (serealia) di gudang penyimpanan. Semula Bacillus hanya diketahui menyerang larva dari serangga kelas Lepidoptera sampai kemudian ditemukan menyerang Diptera dan Coleoptera (Dent, 1993).

Bacillus sp. juga diketahui mampu mengendalikan beberapa patogen tular tanah. Selain aktivitas antagonisnya yang secara langsung dapat melawan patogen, *Bacillus* sp. juga mampu memacu pertumbuhan tanaman (Cook dan Baker 1989; Krebs, 1998; Dai-Soo Kim *et al.* 1997). Bacillus telah berhasil digunakan sebagai penghambat penyebaran penyakit pada tanaman yang dikarenakan oleh *Pythium*, *Rhizoctonia*, *R. solanacearum*, *Gaeumannomyces*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, dan lain-lain (Zhang, 1996; Schmiedeknecht, 1998; Ryder *et al.* 1999; Bacon *et al.* 2001). Di areal pertanaman tembakau Temanggung untuk mengendalikan penyakit lincat (kompleks nematoda *Meloidogyne* spp., bakteri *Ralstonia solanacearum*, jamur *Phytophthora nicotiana*) dan erosi tanah dilakukan secara terpadu dengan menggunakan komponen paket teknologi yang terdiri atas rumput setaria, tanaman flemingia, rorak, varietas tahan yaitu Kemloko 2 dan Kemloko 3, serta pemberian mikroba antagonis *Aspergillus fumigatus* dan *Bacillus cereus* pada lubang tanam sebelum ditanami. Cara tersebut berhasil menekan tingkat kematian tanaman tembakau sampai 10-20% sekaligus meningkatkan hasil produksi tembakau (Yulianti, 2009).

3. Deskripsi Bakteri Antagonis *Bacillus* sp.

3.1. Klasifikasi Bakteri Antagonis *Bacillus* sp.

Menurut Agrios (1988) *Bacillus* sp. dalam sistematika taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut:

| | |
|----------|---------------------------------------|
| Kingdom | : Prokaryotae |
| Division | : Firmicutes — Gram-positive bacteria |
| Class | : Firmibacteria |
| Genus | : <i>Bacillus</i> |
| Spesies | : <i>Bacillus</i> sp. |

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

3.2. Biologi Bakteri Antagonis *Bacillus* sp.

Bacillus berbentuk batang (silindris) yang bergandengan panjang disebut *streptobasil* dengan ujung-ujung berbentuk tajam, yang bergandengan dua-dua atau terlepas satu sama lain disebut *diplobasil* dengan ujung-ujung berbentuk tumpul. *Bacillus* termasuk kingdom prokarion karena tidak mempunyai inti sel pada dinding selnya. *Bacillus* mampu melakukan fiksasi dengan dwi-oksi gen (Timotius, 1982). *Bacillus* termasuk katalase positif oleh karena itu bersifat anaerob sehingga mampu bertahan hidup dalam keadaan tidak ada oksigen. Katalase adalah suatu enzim yang dapat ditemukan dalam sebagian besar bakteri. Bakteri katalase positif akan menghasilkan gas oksigen sebagai hasil reaksi

penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim katalase dan membebaskan gas oksigen dan molekul air. Enzim katalase akan sangat penting peranannya dalam menguraikan zat yang bersifat racun bagi sel menjadi molekul air dan oksigen yang tidak beracun bagi sel. Struktur permukaan sel bacillus terdiri dari: Flagela peritrik komposisi kimianya adalah protein berfungsi sebagai lokomosi; Pili komposisi kimianya adalah protein berfungsi sebagai tabung konjugasi, pelekanan sel; Kapsul berupa lendir komposisi kimianya adalah polisakarida, polipeptide berfungsi sebagai penutup, pelindung, pelekanan sel, makanan cadangan (Dwidjoseputro, 1989; Pelczar dan Chan, 1986; Timotius, 1982). Polipeptida berupa protein atau senyawa mirip protein merupakan senyawa antimikroba (Tagg *et al.* 1976).

Membran sitoplasma dan mesosom untuk memindahkan ion-ion mineral, gula, asam-asam amino elektron serta metabolit-metabolit lain, komposisi kimianya adalah lipid protein berfungsi sebagai penutup semipermeabel mekanisme transpor pembelahan sel sintesis makromolekul biologis. Bacillus termasuk Gram positif karena komponen utama penyusun dinding selnya adalah peptidoglikan (murein, mukopeptida, atau mukokompleks) 40-50% yang terdiri dari polimer molekul monomer-monomer dan unit-unit yang diulang-ulang, kaku dan tebal, yang merupakan gabungan polisakarida, asam teikoat, protein 10%, lipid 2%, sehingga mampu mengikat warna kristal ungu. Pada waktu diberi etanol dinding sel terdehidrasi, pori-pori mengecil, permeabilitas berkurang dan zat warna kristal ungu tidak dapat terekstraksi dan terperangkap di dalam dinding sel (Dwidjoseputro, 1989; Pelczar dan Chan, 1986; Timotius, 1982), dan disebut tetrapeptidoglikan yang terdiri dari 2 zat gula amino (N-asetilglukosamina (AGA) dan asam N-asetilmuramat (AAM) dan beberapa peptida atau asam amino yang terdiri 4 asam amino yaitu: L-alanina, asam D-glutamat, asam mesodiaminopimelat atau L-lisina atau asam diaminopimelat dan D-alanina) (Agrios, 1988), asam teikoat yang merupakan polimer dari fosfat gliserol, fosfat ribitol, atau fosfat gula dan berjamur sebagai pengikat ion Mg^+ atau pengaturan aktivitas enzim. Jika bacillus ditumbuhkan dalam medium yang tidak cukup mengandung fosfat maka asam teikoat digantikan oleh asam teikuronat yang

tersusun dari asam glukuronat dan N-asetilgalaktosamina (Pelczar dan Chan, 1986; Timotius, 1982); Dinding sel bakteri sangat tipis dan elastis, berfungsi sebagai penutup, pelindung, permeabilitas, memberikan bentuk tertentu, mengatur keluar masuknya zat kimia, dan memegang peranan dalam pembelahan sel, terletak diantara kapsula dan membran sitoplasma.

Bacillus dapat membentuk endospora (spora di dalam sel) jika kondisi lingkungan kurang menguntungkan. Endospora adalah bentuk istirahat dari bakteri Gram positif genus bacillus dan genus clostridium. Endospora tahan terhadap kekeringan, radiasi cahaya, suhu tinggi dan zat kimia. Bacillus tidak mampu mengadakan sporulasi pada pH rendah (Dwidjoseputro, 1989; Pelczar dan Chan, 1986; Timotius, 1982). Menurut Knasy *dalam* Dwidjoseputro, (1989) proses terjadinya spora dimulai dari pertumbuhan koloni yang lambat dan terlihat lipoprotein yang mengumpul ke salah satu ujung atau di tengah-tengah sel, sehingga ujung tampak padat. Sel dapat pecah karena perkembangan endospora. Pecahan itu kemudian luluh menjadi satu dengan medium. Kemudian muncul bungkus dua lapis, yaitu kulit luar (eksin) dan kulit dalam (intin) yang menyelubungi calon spora. Pada beberapa spesies intin itu menjadi dinding sel.

Satuan ukuran bakteri adalah mikrometer (μm) yang setara dengan 1/1000 mm atau 10^{-3} mm. Panjang bacil dapat mencapai 1-15 μm dengan lebar 0,2-2,0 μm (Dwidjoseputro, 1989).

Untuk memudahkan pengujian bakteri dapat selalu dibiakkan. Bakteri dari masa simpan 6-12 jam tergolong masih muda dalam media peliharaan dan tampak lebih besar daripada bakteri yang berasal dari koloni yang lebih tua. Bakteri dari koloni yang sudah tua sering menunjukkan kelainan-kelainan seperti sel-sel yang mempunyai cabang, sel-sel yang agak besar dan tak beraturan bentuknya. Bakteri yang menunjukkan kelainan-kelainan akan memperoleh bentuknya yang normal kembali apabila dipelihara di dalam media yang baru. Bentuk tubuh bakteri terpengaruhi oleh keadaan medium dan usia bakteri. Untuk membandingkan bentuk, besar-kecilnya bakteri perlu diperhatikan bahwa kondisi bakteri harus sama, temperatur pemeliharaan, penyimpanan harus sama, penyinaran oleh

sumber cahaya harus sama, dan usia pemeliharaan harus sama (Dwidjoseputro, 1989).

Bakteri memerlukan nutrien untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Bakteri mampu mensintesis seluruh kebutuhan vitaminya dari senyawa-senyawa lain didalam medium. Nutrisi untuk pertumbuhan bakteri lebih spesifik, kadar gula dalam medium labolatoris 0,5-1%. Karbondioksida organik seperti gula-gula dan karbohidrat lain sebagai sumber karbon (bakteri autotrof). Sedangkan senyawa organik sebagai sumber karbon (bakteri heterotrof). *Bacillus* sp. termasuk bakteri pengurai bahan kimia (kemotrof). Suhu pada biakan inkubasi *Bacillus* mesofil yaitu 25-40°C, pH optimum untuk pertumbuhan bakteri yaitu 6,5-7,5 suhu optimum 20-37°C (Pelczar dan Chan, 1986). *B. subtilis* termasuk bakteri termofilik karena dapat tumbuh pada suhu di atas suhu bakteri mesofil (Kosim dan Putra, 2010). Medium padat dan cair yang menunjang pertumbuhan ialah agar nutrien dan kaldu nutrien, seperti rebusan daging sapi 3 g, pepton 5 g, air 1000 ml, jika menggunakan media padat ditambahkan agar nutrien 15 g (Pelczar, dan Chan, 1986).

Menurut Priyatno *et al.* (2011) Penentuan jenis media untuk bakteri supaya dapat menghasilkan jumlah atau populasi tertinggi dapat dilakukan dengan cara suspensi bakteri (0,1 ml) di inkubasi selama 24 jam. Selanjutnya diinokulasi pada media uji kemudian diagitasi pada 25 rpm selama 24 jam pada suhu 32°C. Populasi bakteri diamati dengan menggunakan spektrofotometer (λ 600 nm). Formulasi biofungisida berbahan aktif bakteri dapat berupa tepung atau cair. Formulasi biofungisida cair dapat dibuat dengan cara tiap isolat diencerkan dengan aquadesh. Sedangkan dalam bentuk tepung dapat dibasahkan (wettable powder) menggunakan kaolin. Pada setiap jenis formulasi mengandung gelatin 0,005% (bahan perekat), Triton X-100 0,005% (bahan penyebar), gliserin 0,01% (bahan pelembab), dan molase 0,05% (nutrisi stimulan dan pelindung dari sinar UV).

Menurut penelitian Wizna *et al.* (2008) penyimpanan *Bacillus amyloliquefaciens* pada minggu ke-14, pada suhu 4°C maupun suhu kamar 27°C menunjukkan jumlah bakteri semakin menurun seiring dengan bertambahnya

waktu penyimpanan. Meskipun jumlah bakteri mengalami penurunan namun jumlah tersebut masih melebihi standar minimal jumlah bakteri dalam suatu penyimpanan. Akalin *et al.* (2004) menyatakan bahwa tidak semua bakteri mempunyai daya tahan yang sama selama penyimpanan. Menurut Donkor, (2007) strain Lactobacillus yang terkandung di dalam yoghurt pada penyimpanan suhu 4°C menunjukkan stabilitas yang baik sepanjang periode penyimpanan (Donkor, 2007). Menurut Harmita *Bacillus subtilis* yang dibiakkan pada suhu 32-35°C dalam waktu 5 hari *Bacillus subtilis* sudah membentuk spora dan menghasilkan antibiotik daktinomisin. Biakkan tersebut memiliki pH 6,6 dan terdiri dari pepton 6 g, digesti pankreatik kasein 4 g, ekstrak ragi 3 g, ekstrak daging 1,5 g, glukosa 1 g, agar 15 g, mangan sulfat 300mg, air 1000 ml.

Penelitian Rosmimik *et al.* (2011) menunjukkan bahwa penyimpanan enzim α -amilase *Bacillus stearothermophilus* TII₁₂ dalam formulasi cair selama 1-5 bulan pada pH 4°C menyebabkan peningkatan aktivitas enzim α -amilase dibandingkan dengan penyimpanan dalam formulasi padat kering dibekukan aktivitas enzim yang tidak lebih besar. Penyimpanan selama 6-9 bulan menunjukkan penurunan aktivitas α -amilase. Sedangkan kandungan protein terlarut pada penyimpanan 1-9 bulan semakin menurun.

Bacillus tetap tahan setelah dipanasi dengan uap 100°C selama 30 menit. Protein bakteri lebih cepat menggumpal karena pengaruh basah, daripada keadaan kering. Pembangkitan bakteri terhenti jika mendapat tekanan udara 600 atm. Pada tekanan 6000 atm dapat membunuh bakteri. Pada tekanan udara 1200 atm dapat membunuh spora bakteri. Untuk memecah sel bakteri diperlukan guncangan 9000 kali per detik (Dwidjoseputro, 1989). *Bacillus* rentan (resisten) terhadap griseofulvin, peka terhadap penisilin, tetrakisiklin, kloramfenikol, dan kurang rentan terhadap perlakuan mekanis. Pertumbuhan bakteri dihambat oleh zat warna dasar misalnya ungu kristal (Pelczar dan Chan, 1986).

3.3. Siklus Hidup Bakteri antagonis *Bacillus* sp.

Siklus hidup bakteri ada empat fase divisualisasikan sebagai kurva tumbuh yaitu fase adaptasi (lag) bakteri umum terjadi pada menit ke 0-30, fase reproduksi

dengan cepat dan konstan (eksponensial) ditandai dengan kenaikan grafik (menit ke 60-90), fase tetap karena sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati ditandai dengan garis horizontal pada grafik (stasioner) dan fase kematian adalah tahap sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian karena nutrien dalam medium dan energi cadangan di dalam sel sudah habis, ditandai dengan menurunnya grafik hingga mencapai titik nol (Black, 1999).

Fase adaptasi *B. subtilis* terjadi pada jam ke 5-13 dan banyak memproduksi zat-zat metabolit, pertumbuhan sangat cepat (Yuneta dan Putra, 2010), meskipun ditambahkan larutan kasein 1% sebagai substrat hasilnya sama (Kosim dan Putra, 2010). Penelitian Susanti (2003) penambahan susu skim pada media fase adaptasi *B. subtilis* dimulai pada jam ke-2.

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

Menurut Winatasasmita dan Sukarno, (1995) pada lingkungan yang baik bakteri dapat membelah tiap 20 menit. Jadi dalam waktu 40 menit menjadi 4 sel, 1 jam menjadi 8 sel, 5 jam menjadi 32768 sel. Reproduksi bakteri adalah pembelahan biner melintang; satu sel membelah diri menghasilkan dua sel, dua sel menjadi 4 sel dan seterusnya. Tidak semua spesies bakteri mempunyai waktu generasi yang sama. Hal ini dipengaruhi oleh nutrien di dalam medium serta pada sesuai tidaknya kondisi fisik.

III. METODOLOGI PENELITIAN

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitopatologi dan rumah kaca Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat (BALITTAS) Karangploso Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2010 sampai Januari 2011.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang dibutuhkan adalah cawan Petri ($d= 9$ cm, $t= 1,5$ cm), jarum ose, tabung reaksi, *autoclave*, erlemeyer, *water bath*, *thermometer*, vortex, pipet, gelas ukur 10 ml, timbangan, bunsen, *Laminar Flow Cabinet*, mikroskop, *cork borer* ($d= 0,4$ dan $0,5$ cm), oven, panci, kompor, microwave, timbangan analitik, spray plastik 3 lubang, lidi, karet gelang, penggaris, meteran kain dan alat tulis.

Bahan-bahan yang diperlukan adalah formulasi bakteri antagonis *Bacillus* sp. BK0 (isolat dari Temanggung), BK1(isolat dari Jember), BK2 (isolat dari Karangploso) masing-masing dari masa simpan 3, 6 bulan, 1 tahun koleksi BALITTAS, isolat jamur *Phytophthora nicotianae* dari tembakau sakit koleksi BALITTAS, benih tembakau varietas Kemloko, alkohol 70% dan 96%, tissue, aquadest steril, spiritus, media CMA (*Corn Meal Agar*), media TSA (*Triptyc Soy Agar*), Rifamycin, aluminium foil, plastik wrapping, *polybag* ($l= 10$ cm, $t= 21$ cm), kertas label, air, pupuk Nitrogen, Phosphor, Kalium (NPK), tempat persemaian (*tray* plastik berukuran 80 lubang tanam), media tanam (tanah, pupuk kandang dan sekam steril).

3. Metode Penelitian

3.1. Metode Penelitian secara *In Vitro*

Penelitian secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* yang dihambat dengan *Bacillus* sp. pada media CMA. Sehingga diketahui *Bacillus* sp. yang telah diberi kode BK0, BK1, BK2 dan dari masa simpan 3, 6 bulan dan 1 tahun yang paling efektif. Hasil data dianalisis menggunakan uji t 5% untuk membantu membaca hasil dengan

membandingkan setiap perlakuan dengan kontrol. Perlakuan terdiri dari 11 perlakuan dengan 2 ulangan seperti disajikan sebagai berikut:

1. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK0 dari masa simpan 3 bulan
2. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK0 dari masa simpan 6 bulan
3. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK0 dari masa simpan 1 tahun
4. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK1 dari masa simpan 3 bulan
5. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK1 dari masa simpan 6 bulan
6. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK1 dari masa simpan 1 tahun
7. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK2 dari masa simpan 3 bulan
8. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK2 dari masa simpan 6 bulan
9. *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK2 dari masa simpan 1 tahun
10. *P. nicotianae* tanpa diberi *Bacillus* sp. (Kontrol)

3.2. Metode Penelitian secara *In Vivo*

Penelitian secara *in vivo*, bertujuan untuk mengetahui efektivitas *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 yang telah dicampur berdasarkan kesamaan lama masa simpan yaitu 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun dalam menekan pertumbuhan *P. nicotianae* di rumah kasa. Hasil data dianalisis menggunakan uji t 5% untuk membantu membaca hasil dengan membandingkan setiap perlakuan dengan kontrol. Tanaman tembakau yang digunakan sebanyak 108 tanaman terdiri dari 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan tiap perlakuan terdiri dari 9 sampel tanaman seperti disajikan sebagai berikut:

1. Tanaman tembakau diberi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 3 bulan dan *P. nicotianae*
2. Tanaman tembakau diberi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan dan *P. nicotianae*
3. Tanaman tembakau diberi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 1 tahun dan *P. nicotianae*
4. Tanaman tembakau diberi *P. nicotianae* (Kontrol)

4. Pelaksanaan Penelitian

4.1. Pelaksanaan Penelitian Secara *In Vitro*

4.1.1. Pembuatan media

Media CMA maupun TSA merupakan sumber nutrisi yang umum digunakan untuk budidaya mikroorganisme. CMA terdiri dari campuran Tepung, Jagung, dengan Agar, yang berfungsi untuk media perbanyakkan jamur (*P. nicotianae*). Bahan-bahan yang diperlukan untuk pembuatan media CMA yaitu CMA 17 g, aquadest 1000 ml. Sedangkan TSA merupakan campuran dari Trypticase, Kedelai, Agar, yang berfungsi untuk media isolasi dan perbanyakkan bakteri. Bahan-bahan yang diperlukan untuk pembuatan media TSA 10% yaitu TSA 4 g karena untuk pembuatan TSA 100% adalah 40 g, agar 7 g, aquadest 1000 ml. Pembuatan media CMA maupun TSA 10% dengan cara seluruh bahan dicampur, dididihkan diatas kompor sambil diaduk rata, kemudian dituang ke dalam erlemeyer dan disterilkan dalam *autoclave* dengan tekanan 15 lbs (pounds) per inch persegi yang berarti 1 atmosfer pada suhu 121°C selama 15 menit.

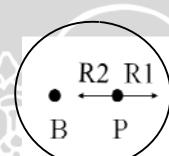
4.1.2. Persiapan isolat

Sebelum pelaksanaan penelitian, biakan murni *P. nicotianae* diremajakan pada media CMA. Peremajaan bertujuan untuk mendapatkan umur jamur yang tidak terlalu tua serta memiliki keseragaman umur dari isolat. Pada peremajaan *P. nicotianae*, sebelum media CMA dituang ke dalam cawan Petri, media CMA ditambahkan Rifamycin 0,001 g per liter media sebagai anti bakteri. Selanjutnya biakan *P. nicotianae* dicetak menggunakan *cork borer* ($d= 0,4$ cm) dan dikultur pada tengah-tengah cawan Petri kemudian diinkubasi pada suhu ruang 20°C selama 10 hari. Sedangkan *Bacillus* sp. dari penyimpanan dalam bentuk formulasi sebelum diuji dengan *P. nicotianae*, dikultur (streak) pada media TSA 10% untuk mengetahui *Bacillus* sp. masih hidup atau tidak. *Bacillus* sp. dikultur pada media TSA 10% dilakukan dengan cara, formulasi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan tersebut diatas, diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril masing-masing. Selanjutnya dipanaskan dalam *water bath* pada suhu lebih kurang 80°C selama 30 menit, supaya homogen formulasi

Bacillus sp. diputar dalam vortex, kemudian dikultur menggunakan jarum ose pada media TSA 10% dan diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam.

4.1.3. Uji Dual Culture 2 Titik

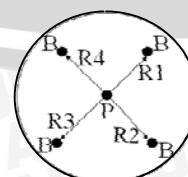
Uji *Dual Culture* 2 titik dilakukan dengan cara hasil kultur *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dikultur ulang pada cawan Petri yang berisi media CMA baru menggunakan jarum ose dengan jarak 3 cm. Selanjutnya hasil peremajaan *P. nicotianae* dicetak menggunakan *cork borer* ($d= 0,4$ cm) dan dikultur berhadapan dengan hasil pengkulturan *Bacillus* sp. tersebut diatas (Gambar 1.). Cara ini dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan koloni *P. nicotianae* yang diberi dengan *Bacillus* sp.



Gambar 1. Uji *in vitro* *Phytophthora nicotianae* (P) yang diberi bakteri antagonis (B: *Bacillus* sp.) menggunakan metode *Dual Culture* 2 titik

4.1.4. Uji Dual Culture 5 Titik

Uji *Dual Culture* 5 titik dilakukan dengan cara hasil peremajaan *P. nicotianae* dan hasil pengkulturan *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dicetak menggunakan *cork borer* ($d= 0,4$ cm). Masing-masing *Bacillus* sp. dikultur 4 titik dengan jarak 3cm dari tepi cawan Petri yang berisi media CMA yang berbeda dan telah diberi lubang menggunakan *cork borer* ($d= 0,5$ cm). Sedangkan *P. nicotianae* dikultur 1 titik pada tengah-tengah 4 titik *Bacillus* sp. BK0, BK1, maupun BK2. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 yang dikultur 4 titik menyelubungi *P. nicotianae* (Gambar 2.).



Gambar 2. Uji *in vitro* *Phytophthora nicotianae* (P) yang diberi bakteri antagonis (B: *Bacillus* sp.) menggunakan metode *Dual Culture* 5 titik

4.1.5. Uji Pour Plate

Formulasi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan tersebut di atas masing-masing diambil 10 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi steril selanjutnya dipanaskan dalam *water bath* pada suhu lebih kurang 80°C selama 30 menit. Setelah dipanaskan formulasi bakteri divortex supaya homogen, kemudian diambil 1 ml dan diencerkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml aquadest steril sehingga didapatkan konsentrasi bakteri 10^{-3} . Dari hasil pengenceran 10^{-3} formulasi bakteri divortex dan diambil 1 ml selanjutnya diencerkan kembali ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml aquadest steril, sehingga didapatkan konsentrasi bakteri 10^{-5} . Dari hasil pengenceran 10^{-5} formulasi bakteri divortex, kemudian diambil 100 μ menggunakan mikropipet dan diratakan ke dalam cawan Petri dan dituang media TSA 10%. Setelah media TSA 10% memadat *P. nicotianae* dikulturkan.

4.2. Pelaksanaan Penelitian Secara *In Vitro*

4.2.1. Persiapan Benih dan Pemeliharaan Tanaman Tembakau

Biji tembakau direndam dalam air supaya berkecambah, setelah 4-5 hari disemai 5-10 benih per lubang *tray* berisi campuran tanah dan pupuk kandang steril perbandinga 1:3. Benih di inkubasi dalam suasana redup di rumah kaca, seminggu kemudian diletakkan di tempat yang terkena panas matahari dalam rumah kaca. 35 hari kemudian dijarangkan menjadi 1 tanaman tembakau masing-masing *tray*. Penyiraman bibit dilakukan setiap hari menggunakan spray kecil. *Transplantasi* bibit tembakau dalam *Polybag* berisi campuran tanah dan pupuk kandang steril perbandingan 1:3 dilakukan 45 hari setelah biji tembakau disemai. *Polybag* dilubangi sudut-sudutnya untuk membuang kelebihan air. Sehari sebelum bibit tembakau ditransplantasi, media tanam dalam *Polybag* diinokulasi suspensi *P. nicotianae*. Sehari setelah bibit tembakau ditransplantasi media tanam diaplikasi *Bacillus* sp.. Penyiraman tanaman tembakau dilakukan setiap 2 hari sekali sebanyak 200 ml per *Polybag*, tergantung kondisi media tanam. Pemupukan NPK 3 g per *Polybag* diaplikasikan pada hari ke 5 dan 21 hari setelah tanam. Penyirangan gulma, pengendalian hama seminggu sekali setiap pengamatan.

4.2.2. Pembuatan dan Inokulasi Suspensi Jamur Patogen *Phytophthora nicotianae*

Untuk keperluan inokulasi sebagai sumber inokulum digunakan hasil peremajaan *P. nicotianae* dalam cawan Petri pada media CMA yang telah diinkubasi selama 10 hari. Dengan asumsi 1 cawan Petri diencerkan dengan aquadest steril 100 ml. Jumlah tanaman dalam perlakuan sebanyak 108 yang terdiri dari 4 perlakuan, 3 ulangan tiap ulangan terdiri dari 9 sampel tanaman. Setiap media tanam dalam *polybag* diinokulasi sebanyak 33 ml sehari sebelum bibit tembakau ditanam. Maka dibutuhkan suspensi sebanyak 3.564 ml dari 36 cawan Petri yang diblender dan diencerkan dengan aquadest steril 3600 ml. Sehingga tersisa 36 ml suspensi yang tidak terpakai.

4.2.3. Pengenceran dan Aplikasi Formulasi Bakteri Antagonis *Bacillus* sp.

Untuk keperluan pengendalian jamur *P. nicotianae* diaplikasi formulasi bakteri antagonis *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 masing-masing dari masa simpan 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun. Masing-masing formulasi diambil sebanyak 9 ml. Sehingga diperoleh campuran formulasi *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 sebanyak 81 ml kemudian diencerkan dengan air sebanyak 810 ml untuk diaplikasi. Jumlah tanaman pada perlakuan sebanyak 108 yang terdiri dari 4 perlakuan, 3 ulangan tiap ulangan terdiri dari 9 sampel tanaman. Jumlah tanaman dikurangi tanaman kontrol 27 tanaman yang tidak diaplikasi, sehingga jumlah tanaman yang diaplikasi sebanyak 81 tanaman yang terdiri dari 3 perlakuan, 3 ulangan tiap ulangan terdiri dari 9 sampel tanaman. Setiap media tanam dalam *polybag* diaplikasi sebanyak 10 ml sehari setelah bibit tembakau ditanam. Dengan asumsi 1 ml formulasi *Bacillus* sp. diencerkan dengan aquadest steril 10 ml.

5. Variabel Pengamatan

5.1. Variabel Pengamatan pada penelitian secara *In Vitro*

Variabel yang diamati pada uji *Dual Culture* 2 titik adalah pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* yang berlawanan dengan *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dan jari-jari *P. nicotianae* yang menuju pusat *Bacillus* sp. BK0, BK1, dan BK2.

Pengamatan pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* dihitung menggunakan rumus:

$$I = \frac{R1 + R2}{2}$$

Keterangan: I= Rata-rata Jari-jari koloni *P. nicotianae*

R1= Jari-jari koloni *P. nicotianae* yang arahnya berlawanan dengan pusat *Bacillus* sp.

R2= Jari-jari koloni *P. nicotianae* yang arahnya menuju pusat *Bacillus* sp.

Pada uji *Dual Culture* 5 titik variabel yang diamati adalah jari-jari koloni *P. nicotianae* yang menuju pusat *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2. Pada uji *Pour Plate* variabel yang diamati adalah jari-jari pertumbuhan *P. nicotianae*. Pengamatan pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* dihitung menggunakan rumus:

$$I = \frac{R1 + R2 + R3 + R4}{4}$$

Keterangan: I= Rata-rata Jari-jari koloni *P. nicotianae*

R1, R2, R3, R4= Jari-jari koloni *P. nicotianae* menuju pusat koloni *Bacillus* sp.

Pengamatan jari-jari koloni *P. nicotianae* dilakukan setiap 24 jam setelah inokulasi hingga koloni *P. nicotianae* pada Kontrol memenuhi cawan Petri.

5.2. Variabel Pengamatan pada penelitian secara *In Vivo*

Pengamatan intensitas penyakit meliputi tanaman yang menunjukkan gejala serangan *P. nicotianae* hingga mengakibatkan tanaman mati. Pengamatan dilakukan seminggu sekali sebanyak 7 kali pengamatan. Intensitas penyakit dihitung dengan menggunakan rumus yang didapatkan dari Abadi, (2003)

$$P = \frac{\sum \text{Tanaman Sakit}}{\sum \text{Seluruh Tanaman setiap Ulangan}} \times 100\%$$

6. Analisa Data

Data pengamatan secara *in vitro* maupun secara *in vivo* dianalisis menggunakan uji t 5% untuk membantu membaca hasil dan melihat perbedaan antar perlakuan dengan kontrol.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Penelitian

1. Penelitian secara *In Vitro*

1.1. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada uji *Dual Culture* 2 titik

Hasil analisis uji t 5% menunjukkan bahwa perbedaan masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. pada perlakuan BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun, memiliki pengaruh terhadap rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* (Tabel Lampiran 1.). Rerata pertumbuhan *P. nicotianae* disajikan pada Tabel 1.

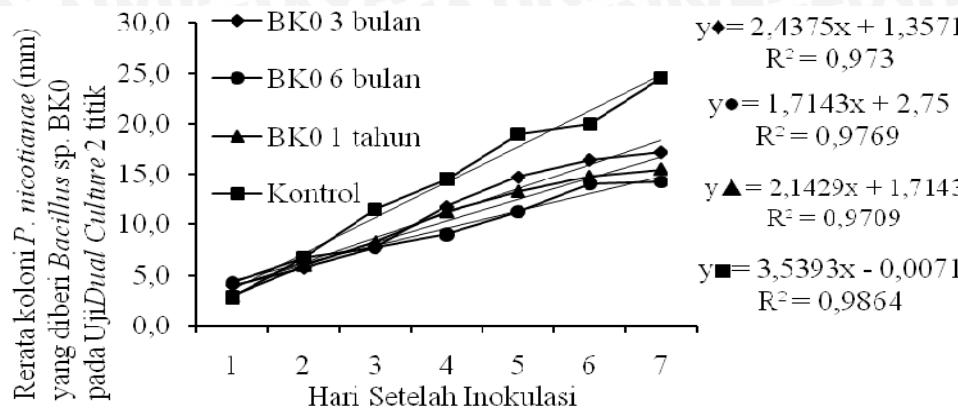
Tabel 1. Rerata Jari-jari Koloni *Phytophthora nicotianae* pada uji *Dual Culture* 2 titik

| Perlakuan | Rerata Jari-jari Koloni <i>Phytophthora nicotianae</i> (mm) pengamatan ke- | | | | | | |
|-------------|--|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 HSI | 2 HSI | 3 HSI | 4 HSI | 5 HSI | 6 HSI | 7 HSI |
| BK0 3 bulan | 4,0 ns | 5,8 ns | 7,8 ns | 11,8 ns | 14,8 ns | 16,5 ns | 17,3 ns |
| BK0 6 bulan | 4,3 ns | 6,8 ns | 7,8 ns | 9,0 ns | 11,3 ns | 14,0 ns | 14,3 * |
| BK0 1 tahun | 3,0 ns | 6,0 ns | 8,3 * | 11,3 ns | 13,3 * | 14,8 ns | 15,5 ns |
| BK1 3 bulan | 3,3 ns | 5,8 ns | 8,0 ns | 11,3 ns | 14,5 ns | 15,5 ns | 17,3 ns |
| BK1 6 bulan | 2,3 ns | 4,8 ns | 5,5 ns | 9,3 ns | 11,0 ns | 12,3 ns | 13,5 ns |
| BK1 1 tahun | 3,0 ns | 7,3 ns | 8,8 ns | 9,5 ns | 11,0 ns | 12,3 ns | 14,0 ns |
| BK2 3 bulan | 3,5 ns | 7,0 ns | 9,3 ns | 10,5 ns | 11,8 ns | 13,0 ns | 14,3 ns |
| BK2 6 bulan | 3,0 ns | 6,0 ns | 7,5 ns | 10,3 ns | 11,8 ns | 13,0 ns | 14,3 ns |
| BK2 1 tahun | 3,3 ns | 6,5 ns | 8,5 ns | 14,3 ns | 15,5 ns | 18,3 * | 21,0 ns |
| Kontrol | 2,8 | 6,8 | 11,5 | 14,5 | 19,0 | 20,0 | 24,5 |

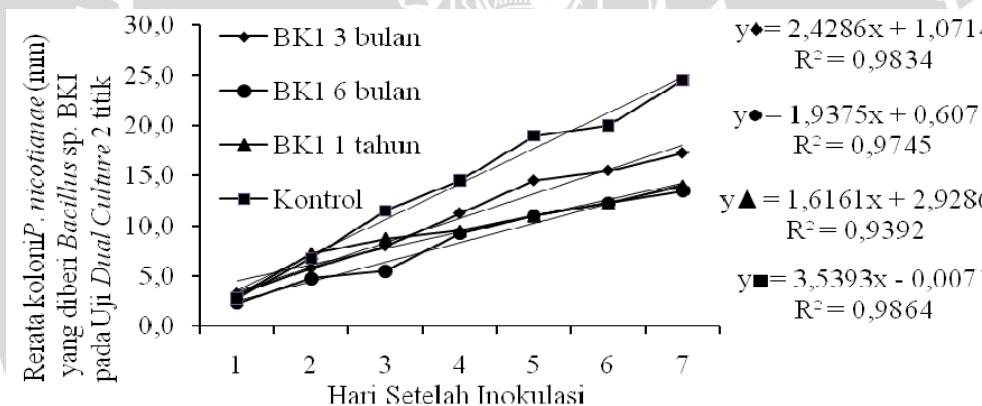
Keterangan: Angka yang diikuti huruf (notasi) yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata; HSI= Hari Setelah Inokulasi; *= berbeda nyata

Tabel 1. menunjukkan perlakuan BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan memiliki rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* lebih rendah daripada rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan dan 1 tahun. Pada pengamatan 3 HSI dan 5 HSI rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada perlakuan yang diberi *Bacillus* sp. BK0, BK1 1 tahun berbeda nyata dengan rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK2 1 tahun. Pengamatan 6 HSI perlakuan pertumbuhan *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK2 1 tahun berbeda nyata dengan BK0, BK1 1 tahun. Pengamatan 7 HSI pertumbuhan *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 6 bulan berbeda nyata dengan BK1, BK2 6 bulan.

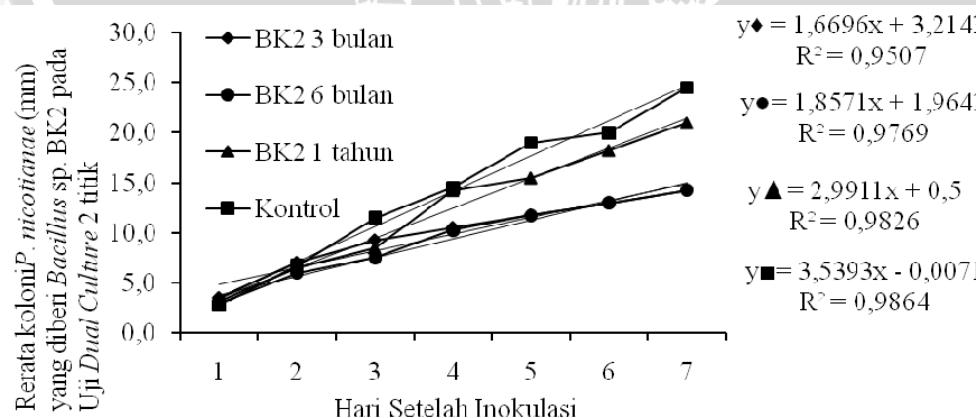
Untuk melihat pertumbuhan koloni *P. nicotianae* selama perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3., Gambar 4. dan Gambar 5.



Gambar 3. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)



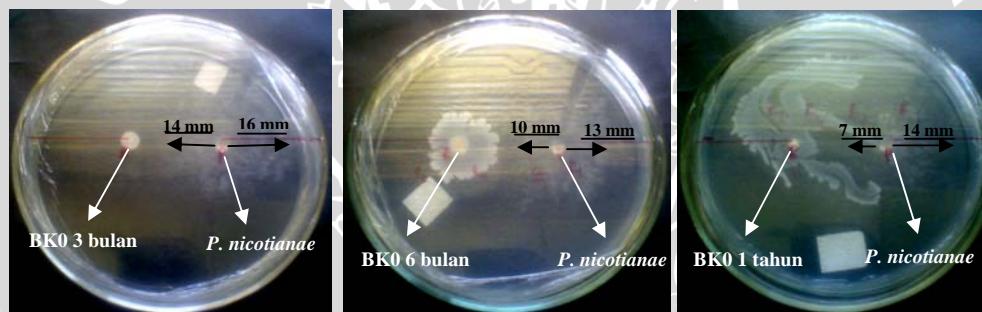
Gambar 4. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)



Gambar 5. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK2 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)

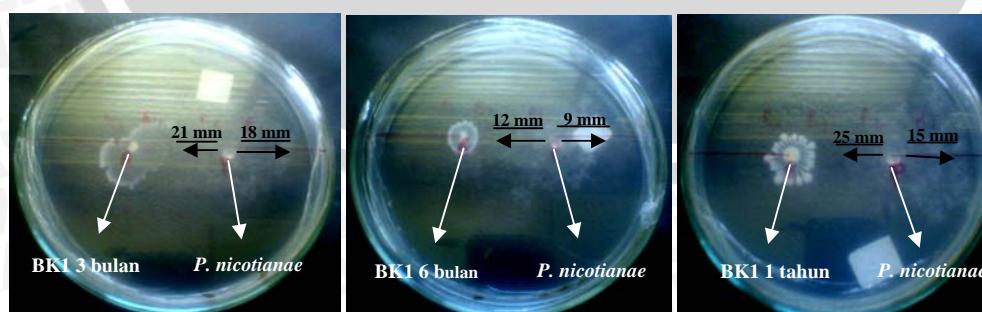
Berdasarkan data analisa pada Tabel 1. dapat ditentukan persamaan pertumbuhan koloni *P. nicotianae*, sehingga dapat digunakan untuk menduga pertumbuhan koloni *P. nicotianae* pada hari berikutnya. Variable (x) adalah hari setelah inokulasi dan variable (y) adalah rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp.

Koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. tetap berwarna putih. Pertumbuhan koloni *P. nicotianae* pada BK0 3 bulan cenderung menyebar dan tipis. Sedangkan pertumbuhan koloni *P. nicotianae* pada BK0 6 bulan cenderung mengumpul. Hal yang sama terjadi pada BK0 1 tahun namun pertumbuhan cenderung tipis dan kepermukaan Petri bagian atas. Oleh karena itu BK0 dari masa simpan 6 bulan lebih mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae* daripada BK0 dari penyimpanan 3 bulan dan 1 tahun (Gambar 6).



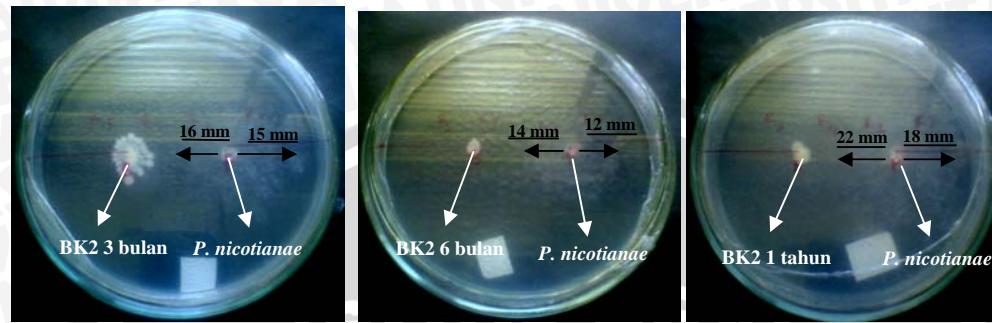
Gambar 6. *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 pada media CMA; 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Hal yang sama terjadi pada isolat BK1, pada penyimpanan 6 bulan lebih baik penghambatannya dibanding BK1 yang disimpan selama 3 bulan dan 1 tahun (Gambar 7.).

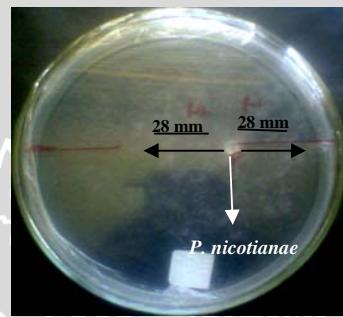


Gambar 7. *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 pada media CMA; 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Pada isolat BK2 penghambatan pertumbuhan *P. nicotianae* tertinggi diperoleh ketika isolat BK2 di simpan selama 6 bulan (Gambar 8.)



Gambar 8. *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK2 pada media CMA; 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)



Gambar 9. *P. nicotianae* tanpa diberi *Bacillus* sp. sebagai kontrol pada media CMA; 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Mekanisme pertumbuhan koloni atau kumpulan hifa (miselium) *P. nicotianae* yang menuju *Bacillus* sp. terlihat seperti terpotong atau deformasi (Gambar 10.).



Gambar 10. Spora *P. nicotianae* pada perlakuan *P. nicotianae* diberi *Bacillus* sp. BK0 dari masa simpan 6 bulan pada media CMA; 7 Hari Setelah Inokulasi (HSI); 1= Hifa; 2= Klamidospora; 3= Oogonium; 4= Oogonia

Jika diamati secara mikroskopis menunjukkan hifa tersebut menjadi lebih kecil atau mengalami pengertalan dibandingkan dengan hifa normal. Miselium atau kumpulan hifa *P. nicotianae* berwarna putih seperti kapas, tidak bersekat. Spora yang berdinding tebal (klamidospora) berwarna kecoklatan pada ujung atau di tengah-tengah hifa. Oogonium berbentuk bulat dan berisi oospores berwarna kuning keemasan. Sedang oogonium yang berwarna putih bening dikarenakan zoospores telah keluar oogonium.

1. 2. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada uji Dual Culture 5 Titik

Hasil analisis uji t 5% menunjukkan bahwa pemberian *Bacillus* sp. dari penyimpanan berpengaruh terhadap pertumbuhan *P. nicotianae* (Tabel Lampiran 2.). Rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* (Tabel 2.)

Tabel 2. Rerata Jari-jari Koloni *P. nicotianae* pada uji Dual Culture 5 titik

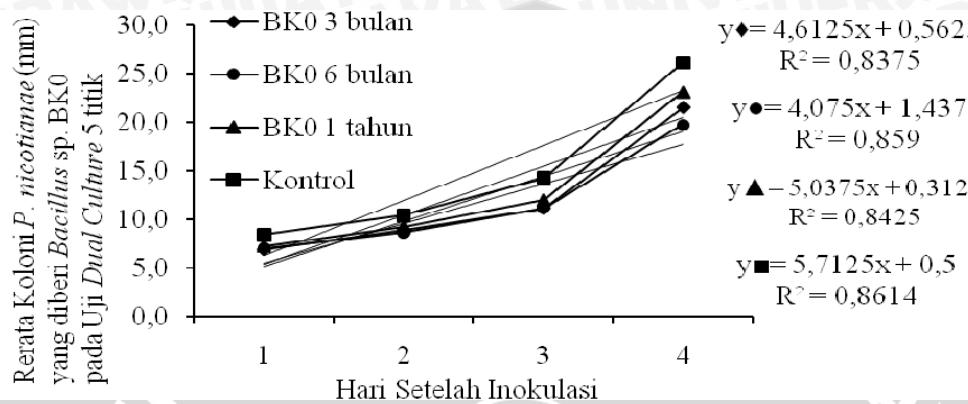
| Perlakuan | Rerata Jari-jari Koloni <i>Phytophthora nicotianae</i> (mm) pengamatan ke- | | | |
|-------------|--|--------|---------|---------|
| | 1 HSI | 2 HSI | 3 HSI | 4 HSI |
| BK0 3 bulan | 6,9 ns | 8,9 ns | 11,1 ns | 21,5 ns |
| BK0 6 bulan | 7,0 ns | 8,6 ns | 11,1 ns | 19,8 ns |
| BK0 1 tahun | 7,3 ns | 9,3 ns | 12,0 ns | 23,1 ns |
| BK1 3 bulan | 8,1 ns | 8,9 ns | 11,5 ns | 23,1 ns |
| BK1 6 bulan | 7,4 ns | 8,4 ns | 11,3 ns | 19,6 ns |
| BK1 1 tahun | 7,8 ns | 8,9 ns | 12,5 ns | 22,5 ns |
| BK2 3 bulan | 7,5 ns | 9,3 ns | 11,6 ns | 22,6 ns |
| BK2 6 bulan | 7,0 * | 9,1 ns | 11,0 ns | 20,3 * |
| BK2 1 tahun | 8,3 ns | 9,9 ns | 14,5 ns | 25,6 ns |
| Kontrol | 8,4 | 10,4 | 14,3 | 26,1 |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf (notasi) yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata; HSI= Hari Setelah Inokulasi; * = berbeda nyata

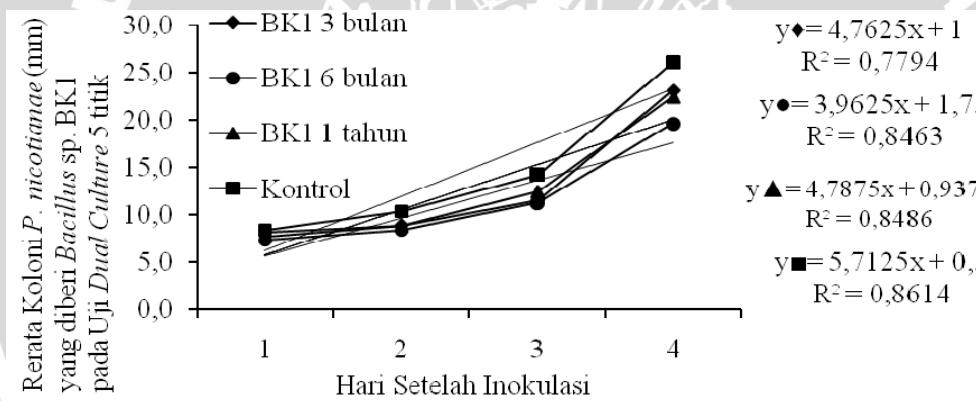
Tabel 2. menunjukkan perlakuan BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan memiliki rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* lebih rendah daripada rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan dan 1 tahun.

Rerata jari-jari koloni *P. nicotianae* pengamatan 1 dan 4 HSI pada BK2 6 bulan berbeda nyata dengan perlakuan BK0, BK1 6 bulan.

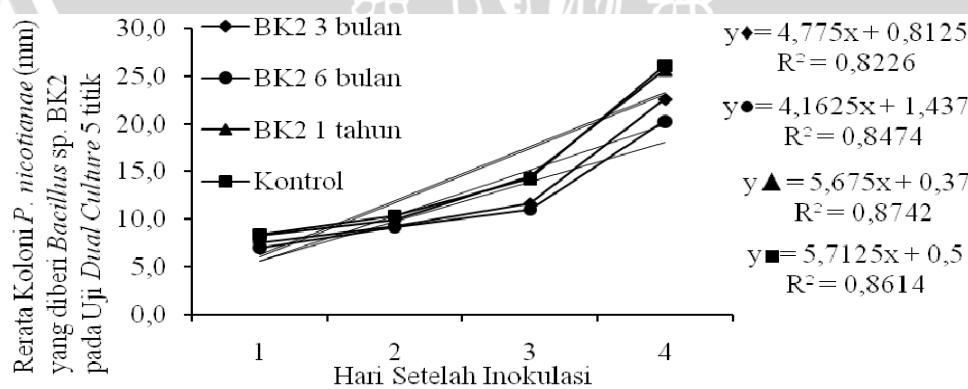
Untuk melihat pertumbuhan koloni *P. nicotianae* selama perlakuan dapat dilihat pada Gambar 11., Gambar 12. dan Gambar 13.



Gambar 11. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)



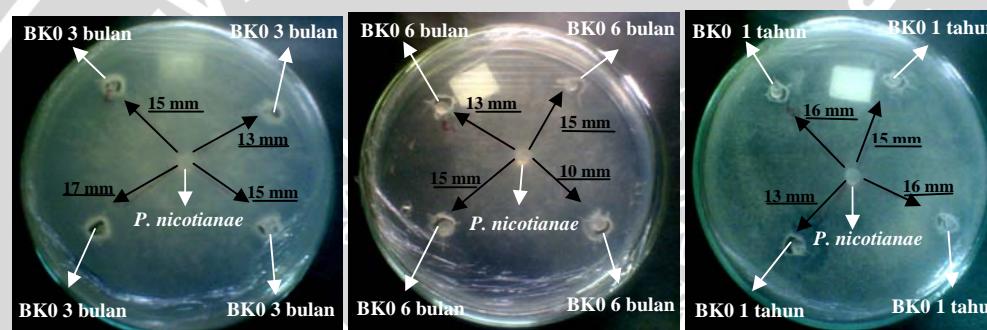
Gambar 12. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)



Gambar 13. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK2 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)

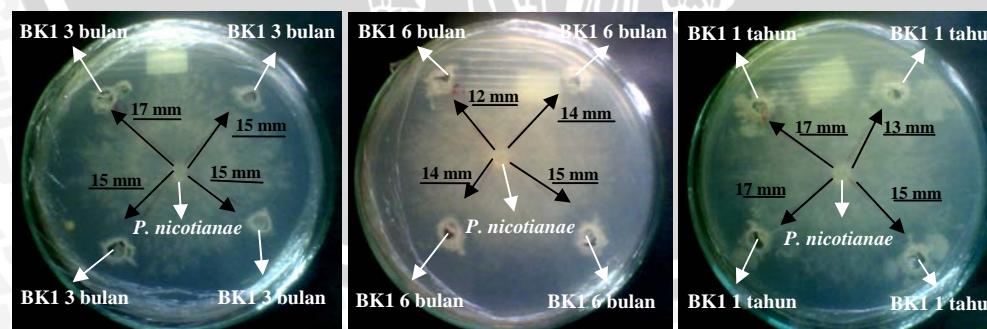
Berdasarkan data analisa pada Tabel 2. dapat ditentukan persamaan pertumbuhan koloni *P. nicotianae*, sehingga dapat digunakan untuk menduga pertumbuhan koloni *P. nicotianae* pada hari berikutnya. Variable (x) adalah hari setelah inokulasi dan variable (y) adalah rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp.

Pengamatan 4 HSI warna dan ciri koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 6 bulan cenderung tipis, mengumpul dan pertumbuhannya kearah atas permukaan Petri serta lebih mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae* dibanding BK0 yang disimpan selama 3 bulan maupun 1 tahun (Gambar 14).



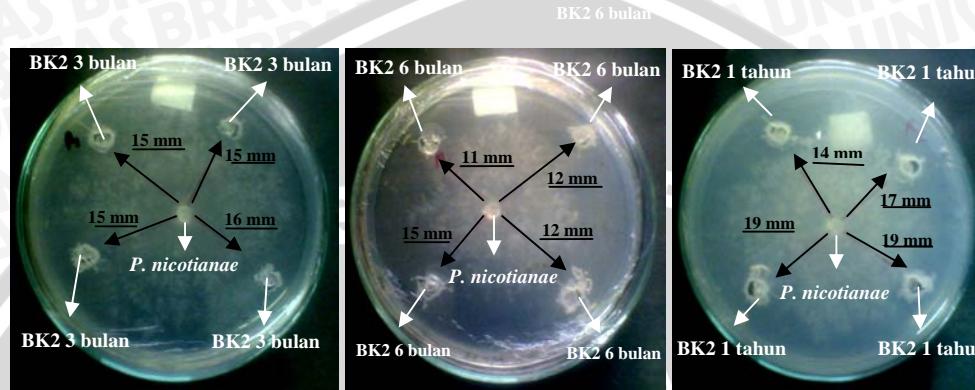
Gambar 14. *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 3 bulan maupun 1 tahun cenderung melebar dan tebal. Pada BK1 6 bulan pertumbuhan *P. nicotianae* lebih terhambat daripada yang diberi BK1 3 bulan maupun 1 tahun (Gambar 15.).

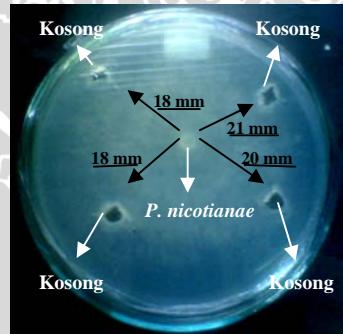


Gambar 15. *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Pertumbuhan koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 3 bulan tampak lebih tipis dan melebar, sedangkan yang diberi *Bacillus* sp. BK2 6 bulan koloni *P. nicotianae* tampak lebih tebal dan cenderung kepermukaan atas bagian Petri dibanding BK2 yang disimpan selama 3 bulan dan 1 tahun (Gambar 16.).



Gambar 16. *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK2 pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)



Gambar 17. *P. nicotianae* tanpa diberi *Bacillus* sp. pada media CMA 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Pertumbuhan *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. terhambat diduga disebabkan *Bacillus* sp. mampu mengeluarkan zona bening yang tampak lebih jelas yang merupakan suatu tanda bahwa bakteri mampu menghasilkan senyawa metabolit tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan *P. nicotianae*.

1. 3. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada uji Pour Plate

Hasil analisis uji t 5% menunjukkan bahwa pemberian *Bacillus* sp. dari penyimpanan berpengaruh terhadap pertumbuhan *P. nicotianae* (Tabel Lampiran 3.). Rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Jari-jari Koloni *Phytophthora nicotianae* pada uji Pour Plate

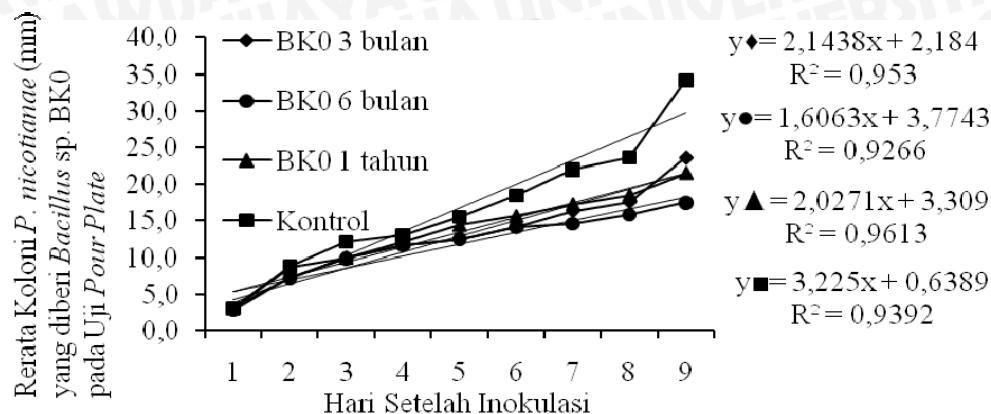
| Perlakuan | Rerata Jari-jari Koloni <i>Phytophthora nicotianae</i> (mm) pengamatan ke- | | | | | | | | |
|-------------|--|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 HSI | 2 HSI | 3 HSI | 4 HSI | 5 HSI | 6 HSI | 7 HSI | 8 HSI | 9 HSI |
| BK0 3 bulan | 3,1 ns | 7,3 ns | 9,9 ns | 11,6 ns | 12,5 ns | 14,1 ns | 16,4 ns | 17,6 ns | 23,6 ns |
| BK0 6 bulan | 2,9 ns | 7,3 ns | 9,9 ns | 11,6 ns | 12,5 ns | 14,1 ns | 14,6 ns | 15,9 ns | 17,5 * |
| BK0 1 tahun | 3,0 ns | 8,6 ns | 10,0 * | 12,1 ns | 14,4 ns | 15,6 ns | 17,3 ns | 18,5 ns | 21,5 * |
| BK1 3 bulan | 3,3 ns | 7,4 ns | 8,9 ns | 9,4 * | 9,9 ns | 11,9 * | 17,1 * | 19,3 * | 24,3 * |
| BK1 6 bulan | 3,0 ns | 7,9 ns | 9,0 ns | 9,5 ns | 9,6 * | 10,6 ns | 11,6 ns | 14,6 * | 15,8 * |
| BK1 1 tahun | 3,5 ns | 8,0 ns | 10,0 ns | 12,8 ns | 14,9 ns | 16,6 ns | 17,9 ns | 18,8 ns | 22,5 ns |
| BK2 3 bulan | 2,8 ns | 7,4 ns | 9,5 ns | 12,5 ns | 15,1 ns | 16,0 ns | 19,5 ns | 23,1 ns | 26,9 ns |
| BK2 6 bulan | 2,8 ns | 6,5 ns | 7,1 ns | 8,5 * | 9,1 * | 10,3 * | 14,1 ns | 16,3 ns | 18,1 ns |
| BK2 1 tahun | 3,4 ns | 6,5 ns | 7,3 ns | 8,5 ns | 9,3 ns | 10,5 ns | 14,3 ns | 16,4 ns | 20,1 * |
| Kontrol | 3,1 | 8,9 | 9,9 | 11,6 | 12,5 | 14,1 | 16,4 | 17,6 | 23,6 |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf (notasi) yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji t 5%; HSI= Hari Setelah Inokulasi

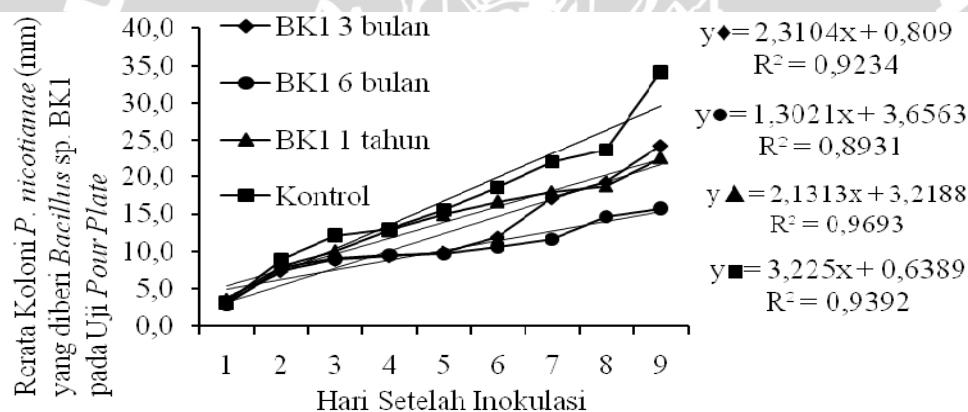
Tabel 3. menunjukkan perlakuan BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan memiliki rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* lebih rendah daripada rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan dan 1 tahun.

Pengamatan 3 dan 9 HSI rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada perlakuan yang diberi *Bacillus* sp. BK0 6 bulan dan 1 tahun berbeda nyata dengan rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK0 3 bulan. Pengamatan 4, 5, 6, 7, 8, 9 HSI rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK1 3 bulan dan BK1 6 bulan berbeda nyata dengan rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK1 1 tahun. Pengamatan 4, 5, 6, 9 HSI pada BK2 menunjukkan BK2 6 bulan dan 1 tahun berbeda nyata dengan rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada BK2 3 bulan.

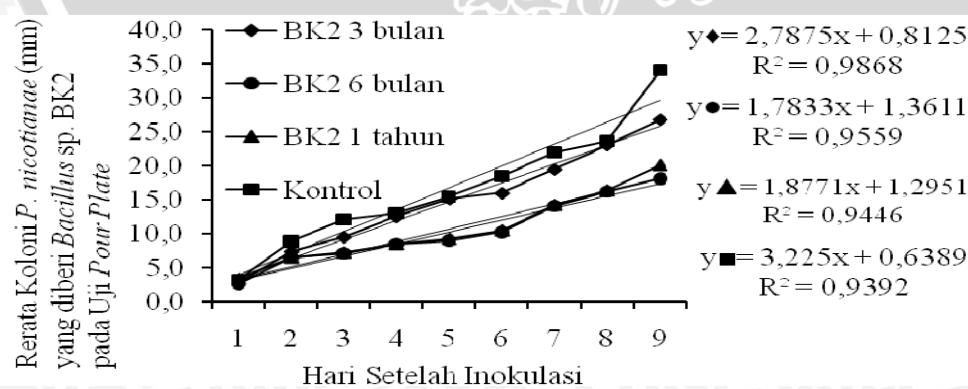
Untuk melihat pertumbuhan koloni *P. nicotianae* selama perlakuan dapat dilihat pada Gambar 18., Gambar 19. dan Gambar 20.



Gambar 18. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK0 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)



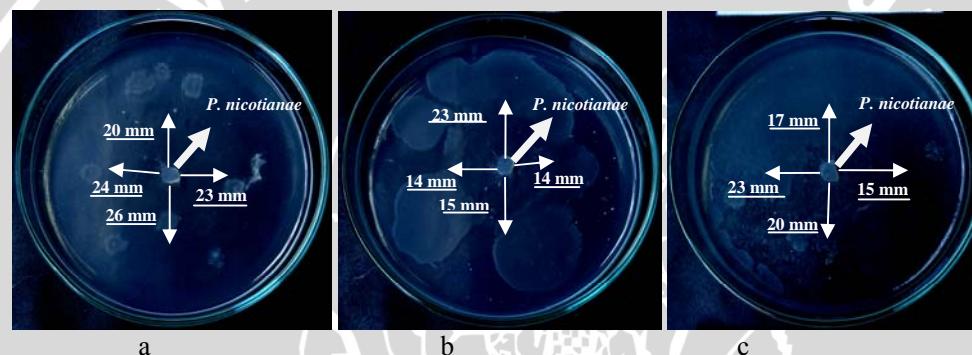
Gambar 19. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK1 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)



Gambar 20. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp. BK2 pada media CMA setiap pengamatan Hari Setelah Inokulasi (HSI)

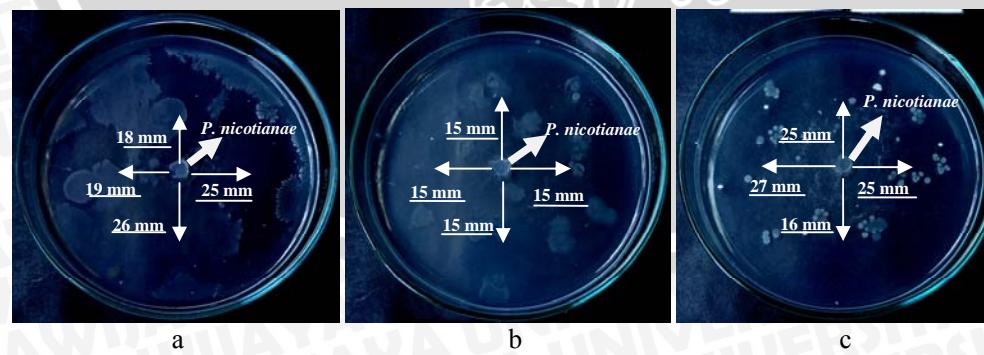
Berdasarkan data analisa pada Tabel 3. dapat ditentukan persamaan pertumbuhan koloni *P. nicotianae*, sehingga dapat digunakan untuk menduga pertumbuhan koloni *P. nicotianae* pada hari berikutnya. Variable (x) adalah hari setelah inokulasi dan variable (y) adalah rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* yang diberi *Bacillus* sp.

Pada pengamatan 9 HSI menunjukkan jari-jari koloni *P. nicotianae* terendah diperoleh pada BK0 6 bulan, warna dan ciri koloni *P. nicotianae* lebih tebal dibandingkan dengan yang diberi BK0 3 bulan dan 1 tahun yang tampak melebar dan tebal (Gambar 21.)



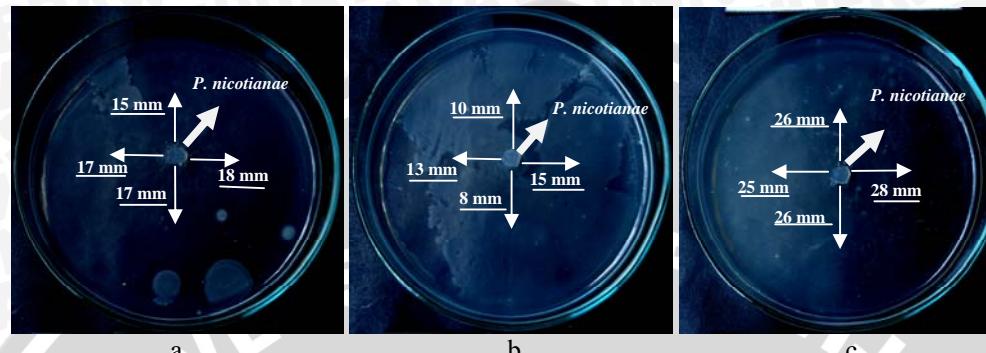
Gambar 21. *P. nicotianae* (tengah) yang diberi *Bacillus* sp. BK0 a: 3 bulan; b: 6 bulan; c: 1 tahun; pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Hal yang sama terjadi pada isolat BK1 3 bulan dan 6 bulan, pada BK1 1 tahun dan pertumbuhan koloni *P. nicotianae* tampak lebih jelas meskipun pertumbuhan koloni *Bacillus* sp. BK1 1 tahun juga kelihatan tumbuh (Gambar 22.)

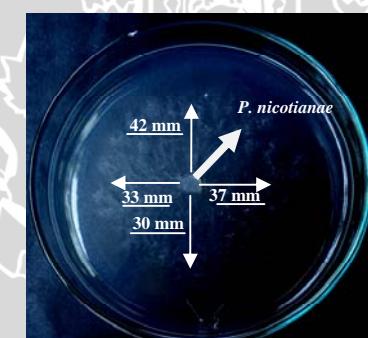


Gambar 22. *P. nicotianae* (tengah) yang diberi *Bacillus* sp. BK1 a: 3 bulan; b: 6 bulan; c: 1 tahun; pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Pada BK2 menunjukkan pertumbuhan koloni *P. nicotianae* BK2 1 tahun lebih tinggi dibanding pertumbuhan 3 dan 6 bulan (Gambar 23.)



Gambar 23. *P. nicotianae* (tengah) yang diberi *Bacillus* sp. BK0 a: 3 bulan; b: 6 bulan; c: 1 tahun; pada media CMA 9 Hari Setelah Inokulasi (HSI)



Gambar 24. *P. nicotianae* (tengah) tanpa diberi *Bacillus* sp. pada media CMA 9 HSI (Hari Setelah Inokulasi)

Penghambatan tertinggi pada pengamatan 9 HSI diperoleh pada *Bacillus* sp. BK0 maupun BK1 dari masa simpan 6 bulan dibanding BK0 maupun BK1 yang di simpan 3 bulan, 1 tahun. Hal ini dikarenakan *Bacillus* sp. dari masa simpan 6 bulan kepadatan populasinya masih cenderung stabil, tidak terlalu padat dan tidak kurang padat populasinya, dan bahwa *Bacillus* sp. BK0 maupun BK1 dari masa simpan 3 bulan masih belum stabil membentuk populasi yang padat di dalam media penyimpanan. Sedangkan *Bacillus* sp. dari masa simpan 1 tahun semakin lama disimpan semakin turun efektivitasnya, karena populasi *Bacillus* sp. dalam media penyimpanan terlalu padat dalam media dan terjadi persaingan nutrisi, ruang untuk tumbuh menyebabkan pertumbuhan *Bacillus* sp. di dalam media penyimpanan terhambat sehingga saat diuji kemampuan untuk membunuh *P.*

nicotianae berkurang, dan *Bacillus* sp. lebih cenderung untuk membentuk ketahanan diri. Pada *Bacillus* sp. BK2 dari masa simpan 1 tahun penghambatannya dibanding 6 bulan. Hal ini dikarenakan *Bacillus* sp. dari masa simpan 1 tahun kepadatan populasinya masih cenderung stabil dan hampir sama dengan *Bacillus* sp. dari masa simpan 6 bulan. Mekanisme penghambatan *P. nicotianae* oleh *Bacillus* sp. pada uji *Pour Plate* lebih tinggi karena pertumbuhan *Bacillus* sp. lebih tersebar merata dengan media, sehingga lebih menguasai media dan ruang tempat tumbuh. Hal ini menyebabkan pertumbuhan *P. nicotianae* terdesak, bahkan tidak tumbuh dan terjadi hiperparasit dan kompetisi.

2. Penelitian secara *In Vivo*

2.1. Uji Intensitas Serangan *P. nicotianae* pada Tanaman Tembakau

Hasil analisis uji t 5% menunjukkan bahwa penekanan keparahan penyakit lanas pada tanaman tembakau dengan menambahkan *Bacillus* sp. dari penyimpanan 3 bulan (campuran BK0, BK1, BK2 3 bulan), 6 bulan (campuran BK0, BK1, BK2 6 bulan), 1 tahun (campuran BK0, BK1, BK2 1 tahun) berpengaruh terhadap pertumbuhan *P. nicotianae* (Tabel Lampiran 4.). Intensitas Serangan *P. nicotianae* pada tanaman tembakau disajikan pada Tabel 4. berikut

Tabel 4. Intensitas Serangan *Phytophthora nicotianae* pada Tanaman Tembakau

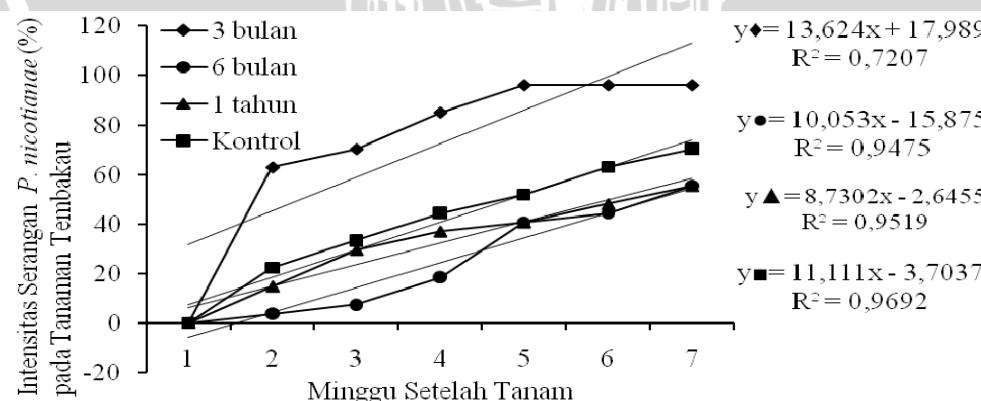
| Perlakuan | Tingkat Serangan <i>P. nicotianae</i> (%) pengamatan ke- | | | | | |
|-----------------------|--|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 2 MST | 3 MST | 4 MST | 5 HST | 6 HSI | 7 MST |
| BK0, BK1, BK2 3 bulan | 63,0 * | 70,4 ns | 85,2 ns | 96,3 ns | 96,3 ns | 96,3 ns |
| BK0, BK1, BK2 6 tahun | 3,7 ns | 7,4 ns | 18,5 ns | 40,7 ns | 44,4 ns | 55,6 ns |
| BK0, BK1, BK2 1 tahun | 14,8 ns | 29,6 ns | 37,0 ns | 40,7 ns | 48,1 ns | 55,6 ns |
| Kontrol | 22,2 | 33,3 | 44,4 | 51,9 | 63,0 | 70,4 |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf (notasi) yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata; MST= Minggu Setelah Tanam; *= berbeda nyata

Tabel 4. menunjukkan bahwa campuran BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan memiliki rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* lebih rendah daripada rerata pertumbuhan jari-jari koloni *P. nicotianae* pada campuran BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan dan 1 tahun. Pengamatan 2 MST menunjukkan bahwa perlakuan tanaman tembakau yang diinokulasi *P. nicotianae*

dan diaplikasi campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 3 bulan berbeda nyata dengan campuran BK2, BK1, BK0 dari masa simpan 6 bulan dan 1 tahun. Hal ini menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. dari masa simpan tersebut 3 bulan tidak efektif mengendalikan *P. nicotianae* karena kematian tanaman tembakau pada perlakuan tersebut lebih banyak yang mati dibanding kontrol. Sedangkan campuran BK2, BK1, BK0 yang efektif mengendalikan *P. nicotianae* pada pengamatan 2, 3, 4, 5, 6, 7 MST adalah campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan. Hal ini disebabkan populasi campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan lebih stabil tidak terlalu padat dan tidak terlalu kurang dalam media penyimpanan. Pada pengamatan 5, dan 7 MST campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 1 tahun sama-sama efektif dengan campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 dari masa simpan 6 bulan.

Untuk melihat perkembangan serangan *P. nicotianae* pada tanaman tembakau selama perlakuan dapat di lihat pada Gambar 25. Berdasarkan data analisa pada Tabel 4. dapat ditentukan persamaan perkembangan *P. nicotianae*, sehingga dapat digunakan untuk menduga pada hari berikutnya. Variable (x) adalah minggu setelah tanam dan variable (y) adalah intensitas serangan *P. nicotianae* pada tanaman tembakau yang diberi *Bacillus* sp. dari penyimpanan 3 bulan (campuran BK0, BK1, BK2 3 bulan), 6 bulan (campuran BK0, BK1, BK2 6 bulan), 1 tahun (campuran BK0, BK1, BK2 1 tahun).



Gambar 25. Perkembangan tingkat serangan *Phytophthora nicotianae* pada tanaman tembakau setiap pengamatan Minggu Setelah Tanam (MST)

Tanaman tembakau pada setiap perlakuan disajikan pada Gambar 26.



Gambar 26. Tanaman Tembakau umur 7 Minggu Setelah Tanam (MST) yang diberi *Bacillus* sp. dalam berbagai masa simpan

2. Pembahasan

Hasil penelitian secara *in vitro* maupun secara *iv vivo* diketahui bahwa BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 6 bulan lebih efektif mengendalikan *P. nicotianae*.

Pada penelitian secara *in vitro* pertumbuhan *P. nicotianae* pada uji *Dual Culture* 5 titik dan pada uji *Pour Plate* lebih terhambat dibandingkan dengan pada uji *Dual Culture* 2 titik. Hal ini disebabkan karena konsentrasi jumlah *Bacillus* sp. yang lebih banyak dan tersebar merata ke media di dalam Petri. Sehingga nutrisi dan ruang tempat tumbuh *P. nicotianae* berkurang dan terjadi persaingan yang menyebabkan pertumbuhan *P. nicotianae* terhambat.

2. 1. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada uji *Dual Culture* 2 titik

Hasil uji *Dual Culture* 2 titik menunjukkan bahwa perbedaan masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. pada perlakuan BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae*. Hal ini diduga disebabkan *Bacillus* sp. menghasilkan senyawa metabolit yang dapat menghambat dan mempengaruhi pertumbuhan tepi koloni *P. nicotianae*, sehingga pertumbuhan tepi koloni *P. nicotianae* tidak merata dan cenderung menjauhi *Bacillus* sp. Bahkan dapat terjadi hiperparasitisme (*Bacillus* sp. memparasit *P. nicotianae*). Menurut Schaecher, (2004) hiperparasitisme terjadi apabila organisme antagonis memparasiti organisme parasit (Schaecher, 2004).

2. 2. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada uji *Dual Culture* 5 titik

Hasil uji *Dual Culture* 5 titik menunjukkan bahwa perbedaan masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. pada perlakuan BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae*. Hal ini diduga disebabkan karena konsentrasi jumlah *Bacillus* sp. yang lebih banyak menyebabkan berkurangnya nutrisi dan ruang tempat tumbuh *P. nicotianae* sehingga terjadi persaingan dan pertumbuhan *P. nicotianae* terhambat. Hal ini juga disebabkan karena *Bacillus* sp. mengeluarkan zona bening seperti yang terlihat pada *Bacillus* sp. BK0 1 tahun. Menurut Montealegre *et al.* (2003) *Bacillus subtilis* mampu mengeluarkan beberapa metabolit anti jamur seperti

subtilin, bacillin, bacillomicin, bacitracin. Senyawa antimikroba lain yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. adalah difficidin memiliki spektrum luas, mikobacilin dan zwittermicin bersifat anti jamur (Todar, 2005), megacin dihasilkan oleh *B. megaterium* (Tagg *et al.* 1976), coagulin dihasilkan oleh *B. coagulans* (Hyrönimus 1998), cerein dihasilkan oleh *B. cereus* (Oscariz dan Pisabarro 2000), dan tochicin dihasilkan oleh *B. thuringiensis* (Paik *et al.* 1997). Penelitian Yousaf (1997) menunjukkan *B. licheniformis* menghasilkan basitracin.

Menurut Dwidjoseputro (1989), laju pertumbuhan spesies yang berlawanan menyebabkan pertumbuhan spesies lain terganggu disebut antagonisme. Antagonis terjadi karena spesies menghasilkan senyawa antibiotik berupa polipeptida, protein atau senyawa mirip protein (Tagg *et al.* 1976), sebagai lethal (zat yang mematikan), toksik (zat racun) meskipun dalam jumlah sedikit mampu menghambat atau menghancurkan (antibiosis) spesies lain. Antibiotik *Bacillus* sp. mampu mengganggu bagian-bagian sel diantaranya yaitu: mempengaruhi dan menyebabkan pecahnya dinding sel, fungsi membran sel (Krebs, 1998), menghambat sintesis protein, dan sintesis asam nukleat. Bacitracin merupakan perlengkapan untuk bakteri Gram positif digunakan untuk menghambat sintesis dinding sel spesies pengganggu. Menurut Salma dan Gunarto, (1999) dinding sel jamur *P. nicotiana* adalah selulosa. Menurut Ohrmund dan Elrod, (2002) bacillus mempunyai enzim tertinggi selulose yang dapat digunakan untuk mendegradasi organisme yang dinding selnya terdiri dari selulosa dan aktivitasnya disebut selulolitik.

Jamur memproduksi selulase membutuhkan waktu yang lama dibandingkan dengan bakteri (Puspitawati, 2009). Selulosa adalah polimer karbohidrat yang tidak dapat dicerna oleh kebanyakan hewan tetapi dapat dihidrolisis dan difermentasi oleh mikroorganisme (Han dan Chen, 2007). Hidrolisis selulosa digunakan dalam siklus karbon sebagai sumber karbon oleh *Bacillus* sp. (Zhang dan Lynd, 2004). Selulosa banyak ditemukan pada dinding sel (sel jaringan vaskuler) tanaman, juga diproduksi bakteri dan jamur (Linder dan Teeri, 1997). Jamur aerob dapat mendegradasi selulosa dengan kemampuan berbeda dengan bakteri. Bakteri memiliki kecenderungan untuk mendegradasi selulosa *crystalline*

(Mulcahy, 1996). Sedangkan jamur memiliki kecenderungan untuk mendegradasi selulosa pada sisi *amorphous*.

2. 3. Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada uji Pour Plate

Hasil uji *Pour Plate* menunjukkan bahwa perbedaan masa simpan bakteri antagonis *Bacillus* sp. pada perlakuan BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 3 bulan, 6 bulan dan 1 tahun mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae* diduga disebabkan karena konsentrasi jumlah *Bacillus* sp. yang lebih banyak menyebabkan berkurangnya nutrisi dan ruang tempat tumbuh *P. nicotianae* sehingga terjadi persaingan dan pertumbuhan *P. nicotianae* terhambat. Menurut Schaecher, (2004) hiperparasitisme terjadi apabila organisme antagonis memparasiti organisme parasit. Kompetisi terjadi apabila ada dua atau lebih mikroorganisme yang sama-sama membutuhkan sesuatu yang diperlukan untuk kelangsungan hidupnya, misalnya dalam hal nutrisi, ruang, oksigen, sumber karbon, nitrogen, dan sebagainya. Jika salah satu organisme yang memperolehnya, maka organisme yang lain akan kekurangan. Sedangkan kompetisi terjadi apabila ada dua atau lebih mikroorganisme yang sama-sama membutuhkan sesuatu yang diperlukan untuk kelangsungan hidupnya, misalnya dalam hal nutrisi, ruang, oksigen, sumber karbon, nitrogen, dan sebagainya. Jika salah satu organisme yang memperolehnya, maka organisme yang lain akan kekurangan.

2. 4. Uji Intensitas Serangan *P. nicotianae* pada Tanaman Tembakau

Hasil penelitian secara *iv vivo* menunjukkan bahwa setiap minggu pengamatan pada perlakuan tanaman tembakau yang diaplikasi campuran BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 6 bulan tanaman lebih sedikit yang mati dibandingkan dengan dari penyimpanan 3 bulan dan 1 tahun. Meskipun pada pengamatan 5 dan 7 MST menunjukkan pertumbuhan tanaman tembakau sama dengan dari masa simpan 1 tahun. Hal ini disebabkan karena pada BK0, BK1, BK2 pada penyimpanan 3 bulan saat diaplikasi ke tanaman populasi BK0, BK1,

BK2 belum terlalu padat, sedangkan nutrisi dalam media masih tersisa sehingga digunakan oleh *P. nicotianae* sebagai sumber nutrisi.

Sedangkan pada BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 6 bulan saat diaplikasi ke tanaman populasinya sudah maksimal, sehingga tidak ada nutrisi tersisa bagi pertumbuhan *P. nicotianae*. Pada BK0, BK1, BK2 dari penyimpanan 1 tahun populasi bakteri saat di aplikasikan sudah banyak yang mati. Menurut Akalin *et al.* (2004) tidak semua bakteri mempunyai daya tahan yang sama selama penyimpanan, strain Lactobacillus yang terkandung di dalam yoghurt pada penyimpanan suhu 4°C menunjukkan stabilitas yang baik sepanjang periode penyimpanan (Donkor, 2007). Hasil penemuan Wizna *et al.* (2008) menunjukkan bahwa jumlah bakteri *B. amyloliquefaciens* semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan selama 14 minggu pada suhu 4°C maupun suhu kamar 27°C. Menurut Harmita *et al.* (2008) *B. subtilis* yang dibiakkan pada media yang mengandung pepton 6 g, digesti pankreatik kasein 4 g, ekstrak ragi 3 g, ekstrak daging 1,5 g, glukosa 1 g, agar 15 g, mangan sulfat 300mg, air 1000 ml dan memiliki pH 6,6. Pada suhu 32-35°C dalam waktu 5 hari sudah membentuk spora dan menghasilkan antibiotik daktinomisin. Menurut Yuneta dan Putra (2010), fase adaptasi *B. subtilis* terjadi pada jam ke 5-13 dan banyak memproduksi zat-zat metabolit, setelah itu bakteri memasuki pertumbuhan sangat cepat. Meskipun ditambahkan larutan kasein 1% sebagai substrat fase-fase yang dilalui tetap sama (Kosim dan Putra, 2010), tetapi dengan penambahan susu skim fase adaptasi *B. subtilis* dimulai pada jam ke-2 (Susanti, 2003)

Penyimpanan enzim α -amilase *B. stearothermophilus* TII₁₂ dalam formulasi cair selama 1-5 bulan pada pH 4°C menyebabkan peningkatan aktivitas enzim α -amilase. Sedangkan penyimpanan selama 6-9 bulan menunjukkan penurunan aktivitas enzim α -amilase sementara sedangkan kandungan protein terlarut pada penyimpanan 1-9 bulan semakin menurun (Rosmimik *et al.* 2011)

Secara umum hasil penelitian secara *in vitro* dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni *P. nicotianae* lebih cepat pertumbuhannya daripada pertumbuhan koloni *Bacillus* sp. karena penyimpanan inkubasi pada suhu 20°C. Suhu 20°C adalah suhu terbaik untuk *P. nicotianae*,

sedangkan suhu terbaik untuk *Bacillus* sp. adalah pada suhu 37°C. Hal ini sesuai dengan penelitian Yunianto *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa suhu yang terbaik untuk pertumbuhan *Bacillus* sp. BK-1 adalah 37°C. Pada suhu 37°C pertumbuhan *Bacillus* sp. mencapai fase logaritma tercepat pada jam ke- 3 dengan jumlah sel yang tersebar. Fase logaritma atau eksponensial adalah fase aktif bakteri, dalam metabolisme dan produksi enzim yang terbentuk maksimal serta berada pada fase pathogenitas. Waktu generasi *B. cereus* pada suhu 30°C adalah 26-57 menit, dan pada suhu 35°C adalah 18-27 menit (Kramer dan Gilbert, 1989).

Pengamatan gejala serangan *P. nicotianae* di lapang pada tanaman tembakau tampak pembusukan pada leher batang bagian bawah. Bagian yang busuk berwarna coklat kehitaman dan agak berlekuk (Gambar 24). Menurut Semangun (1987) tanaman yang terserang patogen ini semua daunnya layu mendadak. Pada tanaman yang lebih tua gejala pembusukan hanya terbatas pada leher akar. Bagian yang busuk berwarna coklat kehitaman dan agak berlekuk. Pada daun tanaman dewasa terlihat adanya bercak dengan batas yang kurang jelas, dan mempunyai cincin-cincin yang berwarna gelap, terang cokelat kehitaman dan agak kebasah-basahan. Sedangkan dalam penelitian ini gejala pada daun tidak tampak.



Gambar 27. Tanaman Tembakau 5 MST (a): sehat dengan diberi campuran *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 6 bulan; (b): tanpa diberi *Bacillus* sp. (kontrol)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Lama penyimpanan *Bacillus* sp. BK0, BK1, BK2 yang efektif untuk pengendalian *P. nicotianae* adalah 6 bulan
2. Konsentrasi jumlah *Bacillus* sp. yang banyak dan tersebar merata menyebabkan berkurangnya ruang tempat tumbuh *P. nicotianae* sehingga terjadi persaingan nutrisi dan ruang tempat tumbuh dan pertumbuhan *P. nicotianae* terhambat.

5.2. Saran

Perlu dilakukan uji lebih lanjut menggunakan metode lain seperti metode Kirby-Bauer untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. membentuk zona bening, dilakukan uji kualitatif aktivitas selulase mengingat dinding sel jamur *P. nicotianae* adalah selulase bukan kitin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A. L. 2003. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Bayumedia. Malang. 145 Hal.
- Abadi, A. L. 2004. Patogen Dalam Tanah. Diktat Kuliah. Universitas Brawijaya. Malang. 68 Hal.
- Abdullah, A., dan Soedarmanto. 1986. Budidaya Tembakau. Jakarta: CV. Yasaguna.
- Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. New York.
- Ahmed, A. S., M. Ezziyyani, C. P. Sanchez dan M. E. Candela. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. European Journal of Pathology. Issue: 109 (6): 633-637.
- Akalin, A. S., F. Serap and A. Necati. 2004. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. International Journal of Food Science and Technology, 39 (6): 613-621 (9).
- Anonymous. 2009. Klasifikasi Tembakau. Diakses pada <http://www.plantamor.com/index.php?plant=900>.
- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi dan W. Z. Yang. 2003. Use of exogenous Fibrolytic enzym esto improvefe edutilization by ruminants. J. Anim. Sci. 81 (E. Suppl. 2): 37-47.
- Black, J. G. 1999. Microbiology: Principles and Explorations. New Jersey: Prentince Hall.
- Botelho, G. R., dan L. C. M. Hagler. 2006. *Pseudomonas flourescent* Assosiated with the Rhizosphere of Crops. An overview. Brazilian Journal of Microbiology. 37: 401-416.
- Cahyono, B. 1998. Tembakau: Budidaya dan Analisis Usaha Tani. Kanisius. Yogyakarta.
- Cai, Y. J., Chapman, J. A. Buswell dan S. T. Chang. 1999. Production and distribution of endoglucanase, cellobiohydrolase, and β -glucosidase components of the cellulolytic system of Bajpai Vol variellavolvacea, the edible straw mushroom. Appl. Environ. Microbiol. 65: 553-559.

- Chen, P. J., T. C. Wei, Y. T. Chang dan L. P. Lin. 2004. Purification and characterization of carboxymethyl cellulase. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 111-118.
- Cook, R. J., dan K. F. Baker. 1989. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. APS Press, St. Paul, Minnesota. 505.
- Dent, D. R. 1993. The use of *Bacillus thuringiensis* as insecticide. In Jones, D. G. (Ed). Exploitation of Microorganisms. Chapman and Hall. 19-44.
- Donkor, O. N., S. L. I. Nilmini, P. Stolic, T. Vasiljevic dan N. P. Shah. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17 (6): 657-665.
- Dwidjoseputro, D. 1989. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan. Surabaya. 214 Hal.
- El-Borai, F. E., L. W. Duncan, J. H. Graham dan E. Dickstein. 2003. *Tylenchulus semipenetrans* Alters the Microbial Community in the Citrus Rhizosphere. *Journal Nematology*. 35 (2): 167-177.
- Glazer, A. N., dan H. Nikaido. 2007. Microbial Biotechnology. Fundamentals of applied microbiology, second edition. Cambridge: USA.
- Jun, H. Y., dan H. Z. Chen. 2007. Synergism between corn stover protein and cellulose. *Enzyme and microbial technology*. 41: 638-645.
- Harmita, M. Radji dan M. Biomed. 2008. Analisis Hayati Edisi 3. EGC. Jakarta.
- Hidayah, N. 2008. Eksplorasi dan Pengujian Mikroba Antagonis untuk Penyakit Lanas dan Busuk Batang Berlubang. Balai Tanaman Tembakau dan Serat. Malang.
- Hyronimus, B., C. L. Marrec dan M. C. Urdaci. 1998. Coagulin, a Bacteriocin-like Inhibitory Substance Produced by *Bacillus coagulans* I4. *Jappl Microbial*. 18: 42-50.
- Khetan, S. K. 2001. Microbial Pest Control Maecell Dekker. Inc. USA. 3-141.
- Kosim, M., dan S. R. Putra. 2010. Pengaruh Suhu Pada Protease dari *Bacillus subtilis*. Prosiding. Jurusan Kimia. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Kosugi, Y., H. Tanaka dan N. Tomizuka. 1990. Continuous hydrolysis of oil by immobilized lipase in a counter current reactor. *Biotechnol dan Bioengin*. 36 (6): 617-622.

- Kramer, J. M., dan R. J. Gilbert. 1989. *Bacillus cereus* and Other *Bacillus* sp.. In Doyle, M. P. (Ed). Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Krebs, B., B. Holding, S. Kubart, M. A. Workie, H. Junge, G. Schmiedeknecht, R. Gosch, W. Bochow dan M. Hevesi. 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains. Journal of Plant Disease and Protection. 105: 181-197.
- Kunst, F., dan G. Rapoport. 1995. Salt Stress Is an Environmental Signal Affecting Degradative Enzyme Synthesis in *Bacillus subtilis*. Journal of Bacteriology. 177 (9): 2403-2407.
- Landman, W. P., I. V. Heerden, J. M. Kotze, N. Labuschagne dan F. C. Wehner. 2002. Evaluation of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus megaterium*, Composted Citrus Waste and Soil Solarization on Avocados with without *Phytophthora cinnamomi* Preliminary Results. Department of Microbiology and Plant Pathology. University of Pretoria, Pretoria South African Avocado Growers' Association Yearbook 1997. 20: 113-115.
- Linder, M., dan T. Teeri. 1997. The role and fungtion of cellulose binding domains. Journal Biotechnology. 57: 15-28.
- Loeffler, W., W. Katzer, S. Kremes, M. Kugler, F. Petersen, G. Jung, C. Rapp dan J. S. M. Tschen. 1990. Gegen Dilzewikasame Antibiotika der *Bacillus subtilis*-GB 03- Greppe, Forum Microbiology. 3: 156-163.
- Madigan, M. T., J. M. Martiko dan J. Parker. 2003. Brock Biology of Microorganism. 10 thed. New Jersey. Prenticel-Hall.
- Marten, P., K. Smalla dan G. Berg. 2000. Genotypic and phenotypic differentiation of an antifungal biocontrol strain belonging to *Bacillus subtilis*. Journal of Applied Microbiology. 89: 463-471.
- Mattinen, M. L. 1998. Structural and functional studies of fungal cellulose dinding domain by NMR spectroscopy. Academic dissertation from University of Helsinki, Finland.
- McDonald, P., R. A. Edwardr, J. F. D. Greenhalgh dan C. A. Morgan. 2002. Animal Nutrition. 6 thed. Ashford Colour Press, Gosport.
- Mitchell, J. E. 1973. The mechanisms of biological control of plant diseases. Soil Biol. Biochem. 5: 721-728.
- Moat, A. G., dan J. W. Foster. 1976. Microbial Physiology. New York: John Wiley and Sons Ltd.

- Montealegre, J. R., R. Reyes, L. M. Perez, R. Herrera, P. Silva dan X. Besoain. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Journal Electronic of Biotechnology. 2 (6): 115-127.
- Muharni. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase dari Sumber Air Panas Danau Ranau Sumatera Selatan. Jurusan Biologi, Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan. Jurnal Penelitian Sains. 09: 12-15.
- Mulcahy. 1996. An investigation of cellulose Binding Domain in non-cellulose biding domains in non-cellulolytic enzymes. Final year project university of Limerick.
- Nigam, N., dan K. G. Mukerji. 1998. Biological control-concept and practice Florida: CRC Press.
- Ohrmund, R. S., dan S. Elrod. 2002. The development of primers specific to bacterial species that produce cellulase enzymes using the tools of bioinformatics. <http://www.ebi.calpoly.edu>.
- Oscariz, J. C., dan A. G. Pisabarro. 2000. Characterization and Mechanism of Action of Cerein 7, a Bacteriocin Produced by *Bacillus cereus* Bc 7. Jappl Microbiol. 89: 361-369.
- Paik, H. D., S. S. Bae dan S. H. Park. 1997. Identification and Partial Characterization of Tochicin a Bacteriocin Produced by *Bacillus thuringiensis* sub sp. tochingiensis. Jindust Microbiol Biotechnol. 19: 294-298.
- Pelczar, M. J., dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi 1. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 237 Hal.
- Priyatno, T. P., Chaerani, Y. Suryadi, dan M. Sudjadi. 2011. Teknik Produksi dan Formulasi Bakteri Kitinolitik untuk Pengendalian Penyakit Karat Kedelai. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. 230-234.
- Puspitawati, F. 2009. Screening, Isolation and Characterization Cellulase Form Marine Bacteria. Master Theses from JBPTITBPP. Institut Pertanian Bogor. 16: 15-51.
- Robson, L. M., dan G. H. Chambliss. 1989. Enzymes Microb. Technol. 11: 626-644.
- Rosmimik, N. Rjchana, P. Lestari dan D. S. Damardjati. 2001. Studi Penambahan Ion Kalsium terhadap Aktivitas dan Stabilitas α -Amilase *Bacillus stearothermophilus* TII₁₂. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. 12-14.

- Salma, S., dan L. Gunarto. 1999. Enzim Selulase dari *Trichoderma* spp.. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Buletin AgriBio. Bogor. 2 (2).
- Sastrahidayat, I. K. 1990. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Universitas Brawijaya. Malang. 365 Hal.
- Saxena, I. M., dan R. M. Brown. 2005. Cellulose Biosynthesis: Current Views and Evolving Concepts. Ann of Bot. 96: 9-21.
- Schaechter, M. 2004. The Desk Encyclopedia of Microbiology. California U.S.A: Elsevier Academic Press.
- Schmiedeknecht, G., H. Bochow dan H. Junge. 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent II. Biological control of potato disease. Journal of Biological Control. 17: 112-114.
- Semangun, H. 1987. Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setiawan, W. A., dan B. Irawan. 2009. Jamur. Diakses pada <http://blog.unila.ac.id/wasetiawan> dan <http://blog.unila.ac.id/bambangs>.
- Suhara, C., dan T. Yulianti. 2009. Ketahanan Akses Plasma Nutfah Tembakau cerutu Terhadap Penyakit Lanas dan Busuk Batang Berlubang. Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat. Malang.
- Susanti, V. H. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Protease dari *Bacillus subtilis*. FKIP, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Suzuki, T., Y. Mushiga, T. Yamane dan S. Shimizu. 1988. Massproduction of lipase by Fedbatch culture of *Pseudomonas fluorescens*. Appl. Microbiol. Technol. 27: 417- 422.
- Tagg, J. R., A. S. Dajani dan L. W. Wannamaker. 1976. Bacteriocin of Gram Positif Bacteria. Bacteriol Rev. 40: 722-756.
- Timotius, K. H. 1982. Mikrobiologi Dasar. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga. Cetakan ke 1. 198 Hal.
- Tilak, K. V. B. R., N. Ranganayaki, K. K. Pal, R. De, A. K. Saxena, C. S. Nautiyal, S. Mittal, A. K. Tripathi dan B. N. Johri. 2005. Diversity of Plant growth and Soil Health Supporting Bacteria. Current Science. 89: 136-137.
- Todar, K. 2005. The Genus *Bacillus*. Todar's Online Text book of Bacteriology. University of Wisconsin-Medison.

- Trigalet, A., dan P. Frey; Trigalet A., dan D. Demery. 1994. Biological Control of Bacterial Will Caused by *Pseudomonas solanacearum* state of Art and Understanding In. In: Hayward, A. C., G. L. Hartman, (Ed). Bacterial wilt the Disease and its causative Agent, *Pseudomonas solanacearum* Walling tord, UK: CAB International. 225-233.
- Untung, K. 2001. Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu. Gadjah Mada Press. Yogyakarta. 269 Hal.
- Waluyo, L. 2004. Mikrobiologi Umum. Universitas Muhamadyah Malang. Malang. Press.
- Wanatabe, I. 1978. Biological nitrogen fixationin rice soils. In: Soils & Rice. IRRI. Los Banos, Philippines. 465-478.
- Winatasasmita dan Sukarno.1995. Biologi 1. Perum Balai Pustaka. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Wizna, Y., dan M. H. Abbas. 2008. Potensi *Bacillus amyloliquefaciens* Sebagai Probiotik Ternak Unggas. Fakultas Peternakan, Universitas Andalas. Padang.
- Wongsa, P., dan P. Werukhamkul. 2007. Product Development and Technical Service, Bio Solution International. Thailand. Industrial Park. 4: 1-134.
- Yousaf, M. 1997. Studies On The Cultural Production Of Antibiotic Bacteriacin By *Bacillus licheniformis*. PhD thesis. University Islamia. Bahawalpur.
- Yulianti, T. 2009. Pengelolaan Patogen Tular Tanah Untuk Mengembalikan Kejayaan Tembakau Temanggung di Kabupaten Temanggung. Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat. Perspektif. 1 (8): 1-16.
- Yuneta, R., dan R. S. Putra. 2010. Pengaruh Suhu pada Lipase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. Jurusan Kimia. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Yunianto, P., K. Rahayu dan B. Wahyuntari. 2000. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Produksi β -siklodekstrim Glikosil Transferase (β -CGT-ase) oleh *Bacillus sp.* BK-1.UGM. Yogyakarta. 2 (27): 27-31.
- Zhang, J. X., C. R. Howell dan J. L. Starr. 1996. Suppression of of Fusarium colonization of cotton roots and Fusarium wilt by seed treatment with *Glocladium tiresns* and *Bacillus subtilis*. Biocontrol science and Technology. 6: 175-187.
- Zhang, Y. H. P., dan R. L. Lynd. 2004. Kinetics and relative importance of phosphorylytic and hydrolytic cleave of celldextrins and cellobiose in cell extracts of *Clostridium thermocellum*. Appl. Environ. Microbiol. 70: 1563-1569.

Tabel Lampiran 1. Analisis uji t 5 % Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada Uji Dual Culture 2 titik, Setiap Pengamatan

| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 4,00 | 4,25 | 3,00 | 2,75 |
| Variance | 0,50 | 1,13 | 0,50 | 0,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | 1,67 | 3,00 | 1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,17 | 0,10 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,34 ns | 0,20 ns | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 3,25 | 2,25 | 3,00 | 2,75 |
| Variance | 0,13 | 1,13 | 0,50 | 0,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | 1,00 | -1,00 | 0,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,25 | 0,40 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,50 ns | 0,80 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 3,50 | 3,00 | 3,25 | 2,75 |
| Variance | 2,00 | 0,50 | 0,13 | 0,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -100 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,25 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,50 ns | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 1.

| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| BK0 | | | | |
| Mean | 5,75 | 6,75 | 6,00 | 6,75 |
| Variance | 1,13 | 0,13 | 0,50 | 3,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -2,00 | 0 | -0,43 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,15 | 0,50 | 0,37 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,30 ns | 1,00 ns | 0,74 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK1 | | | | |
| Mean | 5,75 | 4,75 | 7,25 | 6,75 |
| Variance | 0,13 | 0,13 | 10,13 | 3,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,00 | -2,00 | 0,14 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,15 | 0,45 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,30 ns | 0,91 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK2 | | | | |
| Mean | 7,00 | 6,00 | 6,50 | 6,75 |
| Variance | 0,50 | 2,00 | 0,50 | 3,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | 0,14 | -0,33 | -0,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,45 | 0,40 | 0,40 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,91 ns | 0,80 ns | 0,80 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 1.

| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 7,75 | 7,75 | 8,25 | 11,50 |
| Variance | 0,13 | 0,13 | 6,13 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,67 | -1,67 | -13,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,17 | 0,17 | 0,02 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,34 ns | 0,34 ns | 0,05 * | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 8,00 | 5,50 | 8,75 | 11,50 |
| Variance | 0,50 | 2,00 | 10,13 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,40 | -2,00 | -11,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,20 | 0,15 | 0,03 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,39 ns | 0,30 ns | 0,06 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 9,25 | 7,50 | 8,50 | 11,50 |
| Variance | 0,13 | 0,50 | 0,50 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,29 | -2,67 | -1,20 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,21 | 0,11 | 0,22 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,42 ns | 0,23 ns | 0,44 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 1.

| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,75 | 9,00 | 11,25 | 14,50 |
| Variance | 1,13 | 0,50 | 15,13 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,00 | -3,67 | -4,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,08 | 0,07 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,17 ns | 0,144 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,25 | 9,25 | 9,50 | 14,50 |
| Variance | 10,13 | 3,13 | 18,00 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,76 | -1,62 | -5,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,29 | 0,18 | 0,06 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,58 ns | 0,35 ns | 0,13 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 10,50 | 10,25 | 14,25 | 14,50 |
| Variance | 0,50 | 1,13 | 3,13 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,60 | -3,40 | -0,08 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,18 | 0,09 | 0,48 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,36 ns | 0,18 ns | 0,95 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 1.

| Pengamatan 5 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 14,75 | 11,25 | 13,25 | 19,00 |
| Variance | 3,13 | 0,13 | 28,13 | 32,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,81 | -2,07 | -23,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,28 | 0,14 | 0,01 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,57 ns | 0,29 ns | 0,03 * | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 5 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 14,50 | 11,00 | 6,00 | 19,00 |
| Variance | 2,00 | 2,00 | 4,50 | 32,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,90 | -1,60 | -2,36 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,27 | 0,18 | 0,13 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,53 ns | 0,36 ns | 0,25 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 5 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,75 | 11,75 | 15,50 | 19,00 |
| Variance | 1,13 | 1,13 | 0,50 | 32,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,53 | -2,23 | -0,78 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,18 | 0,13 | 0,29 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,37 ns | 0,27 ns | 0,58 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 1.

| Pengamatan 6 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 16,50 | 14,00 | 14,75 | 20,00 |
| Variance | 12,50 | 12,50 | 55,13 | 32,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,54 | -4,00 | -4,20 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,34 | 0,08 | 0,07 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,69 ns | 0,16 ns | 0,15 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 6 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 15,50 | 12,25 | 12,25 | 20,00 |
| Variance | 2,00 | 6,13 | 36,13 | 32,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,90 | -1,35 | -31,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,27 | 0,20 | 0,01 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,53 ns | 0,41 ns | 0,02 * | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 6 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 13,00 | 13,00 | 18,25 | 20,00 |
| Variance | 2,00 | 0,50 | 3,13 | 32,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,40 | -2,00 | -0,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,20 | 0,15 | 0,40 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,39 ns | 0,30 ns | 0,80 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 1.

| Pengamatan 7 HSI BK0 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mean | 17,25 | 14,25 | 15,50 | 24,50 |
| Variance | 10,13 | 15,13 | 50,00 | 24,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,26 | -13,67 | -6,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,21 | 0,02 | 0,05 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,43 ns | 0,05 * | 0,11 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 7 HSI BK1 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| Mean | 17,25 | 13,50 | 14,00 | 24,50 |
| Variance | 10,13 | 18,00 | 72,00 | 24,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,26 | -1,69 | -4,20 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,21 | 0,17 | 0,07 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,43 ns | 0,34 ns | 0,15 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 7 HSI BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| Mean | 14,25 | 14,25 | 21,00 | 24,50 |
| Variance | 3,13 | 3,13 | 2,00 | 24,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -2,16 | -4,56 | -0,78 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,14 | 0,07 | 0,29 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,28 ns | 0,14 ns | 0,58 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Keterangan: HSI = Hari Setelah Inokulasi; ns= tidak berbeda nyata; *= berbeda nyata

Tabel Lampiran 2. Analisis uji t 5 % Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada Uji Dual Culture 5 titik, Setiap Pengamatan

| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 6,88 | 7,00 | 7,25 | 8,38 |
| Variance | 0,28 | 1,13 | 0,50 | 0,03 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -6,00 | -1,57 | -1,80 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,05 | 0,18 | 0,16 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,11 ns | 0,36 ns | 0,32 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 8,13 | 7,38 | 7,75 | 8,38 |
| Variance | 0,03 | 0,78 | 0,13 | 0,03 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,00 | -2,00 | -1,67 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,15 | 0,17 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,30 ns | 0,34 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 7,50 | 7,00 | 8,25 | 8,38 |
| Variance | 0,13 | 0,13 | 0,50 | 0,03 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -7,00 | -11,00 | -0,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,05 | 0,03 | 0,40 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,09 ns | 0,06 ns | 0,80 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 2.

| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 8,88 | 8,63 | 12,00 | 10,38 |
| Variance | 0,03 | 3,78 | 0,13 | 0,03 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -6,00 | -1,40 | 4,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,05 | 0,20 | 0,07 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,11 ns | 0,39 ns | 0,14 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 8,88 | 8,38 | 8,88 | 10,38 |
| Variance | 0,03 | 0,78 | 5,28 | 0,03 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -6,00 | -2,67 | -0,86 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,05 | 0,11 | 0,27 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,11 ns | 0,23 ns | 0,55 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 9,25 | 9,13 | 9,88 | 10,38 |
| Variance | 0,13 | 0,03 | 0,28 | 0,03 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -3,00 | -5,00 | -1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,10 | 0,06 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,20 ns | 0,13 ns | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 2.

| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,15 | 11,13 | 12,05 | 14,30 |
| Variance | 0,25 | 7,03 | 0,13 | 4,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -2,74 | -0,94 | -1,80 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,11 | 0,26 | 0,16 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,22 ns | 0,52 ns | 0,32 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,55 | 11,25 | 12,50 | 14,30 |
| Variance | 0,13 | 1,13 | 2,00 | 4,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -2,20 | -1,36 | -3,60 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,14 | 0,20 | 0,09 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,27 ns | 0,40 ns | 0,17 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,65 | 11,05 | 14,55 | 14,30 |
| Variance | 0,85 | 1,13 | 3,13 | 4,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -3,12 | -4,33 | 1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,10 | 0,07 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,20 ns | 0,14 ns | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 2.

| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 14,50 | 13,15 | 15,65 | 14,50 |
| Variance | 0,50 | 0,04 | 0,84 | 8,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -3,78 | -3,06 | -3,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,08 | 0,10 | 0,10 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,16 ns | 0,20 ns | 0,20 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 15,15 | 12,80 | 15,15 | 17,90 |
| Variance | 1,44 | 2,00 | 0,25 | 3,92 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,22 | -2,13 | -2,62 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,22 | 0,14 | 0,12 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,44 ns | 0,28 ns | 0,23 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,15 | 14,00 | 17,15 | 17,90 |
| Variance | 0,05 | 4,50 | 0,05 | 3,92 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -2,20 | -39,00 | -0,60 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,14 | 0,01 | 0,33 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,27 ns | 0,02 * | 0,66 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Keterangan; HSI = Hari Setelah Inokulasi; ns= tidak berbeda nyata; *= berbeda nyata

Tabel Lampiran 3. Analisis uji t 5% Pertumbuhan *Phytophthora nicotianae* pada Uji Pour Plate Setiap Pengamatan

| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 3,13 | 2,88 | 3,00 | 3,13 |
| Variance | 0,03 | 0,03 | 0,13 | 0,28 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | 0,00 | -1,00 | -1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,50 | 0,25 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 1,00 ns | 0,50 ns | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 3,25 | 2,88 | 3,50 | 3,13 |
| Variance | 0,13 | 0,03 | 0,13 | 0,28 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | 1,00 | -1,00 | 3,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,25 | 0,10 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,50 ns | 0,20 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 1 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 2,75 | 2,63 | 3,38 | 3,13 |
| Variance | 0,13 | 0,03 | 0,03 | 0,28 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -100 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -3,00 | -2,00 | 0,50 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,10 | 0,15 | 0,35 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,20 ns | 0,30 ns | 0,70 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 7,25 | 7,25 | 8,50 | 8,88 |
| Variance | 0,13 | 0,13 | 2,00 | 0,78 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -4,33 | -1,86 | -1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,07 | 0,16 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,14 ns | 0,31 ns | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 7,38 | 7,88 | 8,00 | 8,88 |
| Variance | 1,53 | 0,28 | 0,50 | 0,78 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -6,00 | -4,00 | -0,78 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,05 | 0,08 | 0,29 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,11 ns | 0,16 ns | 0,58 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 2 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 7,38 | 6,50 | 6,50 | 8,88 |
| Variance | 0,03 | 0,13 | 1,13 | 0,78 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -3,00 | -2,71 | -1,73 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,10 | 0,11 | 0,17 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,20 ns | 0,22 ns | 0,33 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 9,88 | 9,88 | 10,00 | 12,13 |
| Variance | 0,03 | 0,78 | 3,13 | 3,78 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | -1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,50 | -1,13 | -17,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,19 | 0,23 | 0,02 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,37 ns | 0,46 ns | 0,04 * | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 8,88 | 9,00 | 10,00 | 12,13 |
| Variance | 0,78 | 1,13 | 0,13 | 3,78 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -4,33 | -5,00 | -1,89 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,07 | 0,06 | 0,15 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,14 ns | 0,13 ns | 0,31 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 3 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 9,63 | 7,13 | 7,25 | 12,13 |
| Variance | 0,03 | 0,03 | 0,50 | 3,78 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,67 | -4,00 | -2,60 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,71 | 0,08 | 0,12 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,34 ns | 0,16 ns | 0,23 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 11,63 | 11,75 | 12,13 | 13,00 |
| Variance | 3,78 | 0,13 | 7,03 | 3,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,52 | -1,25 | -1,40 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,35 | 0,21 | 0,20 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,69 ns | 0,43 ns | 0,39 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 9,38 | 9,50 | 12,75 | 13,00 |
| Variance | 2,53 | 0,13 | 0,13 | 3,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -29,00 | -3,50 | -0,17 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,01 | 0,09 | 0,45 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,02 * | 0,18 ns | 0,89 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 4 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 12,50 | 8,50 | 8,50 | 13,00 |
| Variance | 0,13 | 4,50 | 2,00 | 3,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -0,50 | -18,00 | -2,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,35 | 0,02 | 0,15 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,70 ns | 0,04 * | 0,30 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 5 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| BK0 | | | | |
| Mean | 12,50 | 12,50 | 14,38 | 15,50 |
| Variance | 6,13 | 2,00 | 19,53 | 0,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,33 | -6,00 | -0,43 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,20 | 0,05 | 0,37 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,41 ns | 0,11 ns | 0,74 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 5 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK1 | | | | |
| Mean | 9,88 | 9,63 | 14,88 | 15,50 |
| Variance | 5,28 | 0,03 | 0,03 | 0,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -5,00 | -15,67 | -1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,06 | 0,02 | 0,25 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,13 ns | 0,04 * | 0,50 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 5 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK2 | | | | |
| Mean | 15,13 | 9,00 | 9,25 | 15,50 |
| Variance | 1,53 | 2,00 | 0,13 | 0,50 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,00 | -13,00 | -8,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,25 | 0,02 | 0,04 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,50 ns | 0,05 * | 0,08 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 6 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| BK0 | | | | |
| Mean | 14,13 | 14,13 | 15,63 | 18,50 |
| Variance | 16,53 | 13,78 | 34,03 | 2,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,13 | -2,69 | -0,92 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,23 | 0,11 | 0,26 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,46 ns | 0,23 ns | 0,53 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 6 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK1 | | | | |
| Mean | 11,88 | 10,63 | 16,63 | 18,50 |
| Variance | 2,53 | 1,53 | 0,78 | 2,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -53,0 | -4,20 | -1,15 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,01 | 0,07 | 0,23 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,01 * | 0,15 ns | 0,45 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 6 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK2 | | | | |
| Mean | 16,00 | 10,25 | 10,50 | 18,50 |
| Variance | 1,13 | 4,50 | 4,50 | 2,00 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -10,00 | -16,50 | -3,20 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,03 | 0,02 | 0,10 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,06 ns | 0,04 * | 0,19 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 7 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 16,38 | 14,63 | 17,25 | 22,00 |
| Variance | 26,28 | 11,28 | 45,13 | 1,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,29 | -4,54 | -1,19 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,21 | 0,07 | 0,22 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,42 ns | 0,14 ns | 0,45 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 7 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 17,13 | 11,63 | 17,88 | 22,00 |
| Variance | 2,53 | 7,03 | 0,28 | 1,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -13,00 | -3,95 | -3,67 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,02 | 0,08 | 0,08 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,05 * | 0,16 ns | 0,17 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 7 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 19,50 | 14,13 | 14,25 | 22,00 |
| Variance | 1,13 | 75,03 | 32,00 | 1,13 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,67 | -1,47 | -1,63 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,17 | 0,19 | 0,18 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,34 ns | 0,38 ns | 0,35 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 8 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| BK0 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 17,75 | 15,88 | 18,50 | 23,63 |
| Variance | 45,13 | 11,28 | 45,13 | 0,28 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -1,15 | -3,88 | -1,17 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,23 | 0,08 | 0,22 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,46 ns | 0,16 ns | 0,45 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 8 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 19,25 | 13,63 | 18,75 | 23,63 |
| Variance | 0,13 | 0,03 | 3,13 | 0,28 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -35,00 | -40,00 | -3,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,01 | 0,01 | 0,10 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,02 * | 0,02 * | 0,20 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 7 HSI | 3 bulan | 6 bulan | 1 tahun | Kontrol |
| BK2 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 1 | Variable 2 |
| Mean | 23,13 | 16,25 | 16,38 | 23,63 |
| Variance | 0,78 | 60,50 | 75,03 | 0,28 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -2,00 | -1,44 | -1,12 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,15 | 0,19 | 0,23 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,30 ns | 0,39 ns | 0,47 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 3.

| Pengamatan 9 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| BK0 | | | | |
| Mean | 23,80 | 17,40 | 21,55 | 34,15 |
| Variance | 0,50 | 2,42 | 6,13 | 3,65 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -5,59 | -67,00 | -31,50 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,06 | 0,00 | 0,01 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,11 ns | 0,01 * | 0,02 * | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 9 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK1 | | | | |
| Mean | 24,30 | 15,75 | 22,50 | 34,15 |
| Variance | 0,50 | 1,13 | 0,50 | 3,65 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -11,59 | -30,67 | -6,30 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,03 | 0,01 | 0,05 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,05 * | 0,02 * | 0,10 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |
| Pengamatan 9 HSI | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| BK2 | | | | |
| Mean | 26,90 | 18,15 | 20,15 | 34,15 |
| Variance | 0,72 | 88,45 | 22,45 | 3,65 |
| Observations | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Pearson Correlation | -1,00 | 1,00 | -1,00 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 1,00 | 1,00 | 1,00 | |
| t Stat | -3,72 | -3,02 | -2,98 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,08 | 0,10 | 0,10 | |
| t Critical one-tail | 6,31 | 6,31 | 6,31 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,17 ns | 0,20 ns | 0,21 ns | |
| t Critical two-tail | 12,71 | 12,71 | 12,71 | |

Keterangan: HSI = Hari Setelah Inokulasi; ns= tidak berbeda nyata; *= berbeda nyata

Tabel Lampiran 4. Analisis uji t 5% Intensitas Serangan *Phytophthora nicotianae* pada Tanaman Tembakau Setiap Pengamatan

| Pengamatan 2 MST Campuran BK0, BK1, BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mean | 63,00 | 3,70 | 14,80 | 22,20 |
| Variance | 41,07 | 41,07 | 287,49 | 369,63 |
| Observations | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,00 |
| Pearson Correlation | 1,00 | -1,00 | 0,76 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| t Stat | 5,51 | -1,25 | -1,00 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,02 | 0,17 | 0,21 | |
| t Critical one-tail | 2,92 | 2,92 | 2,92 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,03 * | 0,34 ns | 0,42 ns | |
| t Critical two-tail | 4,30 | 4,30 | 4,30 | |
| Pengamatan 3 MST Campuran BK0, BK1, BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| Mean | 70,40 | 7,40 | 29,63 | 33,33 |
| Variance | 41,07 | 41,07 | 1770,82 | 1112,22 |
| Observations | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,00 |
| Pearson Correlation | -0,87 | -0,87 | 0,13 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| t Stat | 1,64 | -1,15 | -0,13 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,12 | 0,18 | 0,46 | |
| t Critical one-tail | 2,92 | 2,92 | 2,92 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,24 ns | 0,37 ns | 0,91 ns | |
| t Critical two-tail | 4,30 | 4,30 | 4,30 | |
| Pengamatan 4 MST Campuran BK0, BK1, BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| Mean | 85,20 | 18,50 | 37,03 | 44,43 |
| Variance | 164,28 | 533,91 | 1277,24 | 1975,80 |
| Observations | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,00 |
| Pearson Correlation | -0,87 | -0,96 | 0,15 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| t Stat | 1,26 | -0,67 | -0,24 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,17 | 0,29 | 0,42 | |
| t Critical one-tail | 2,92 | 2,92 | 2,92 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,33 ns | 0,57 ns | 0,83 ns | |
| t Critical two-tail | 4,30 | 4,30 | 4,30 | |

Lanjutan Tabel Lampiran 4.

| Pengamatan 5 MST Campuran BK0, BK1, BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mean | 96,30 | 40,73 | 40,73 | 51,87 |
| Variance | 41,07 | 536,50 | 1770,82 | 2510,45 |
| Observations | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,00 |
| Pearson Correlation | -0,83 | -0,76 | 0,20 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| t Stat | 1,39 | -0,28 | -0,33 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,15 | 0,40 | 0,39 | |
| t Critical one-tail | 2,92 | 2,92 | 2,92 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,30 ns | 0,81 ns | 0,77 ns | |
| t Critical two-tail | 4,30 | 4,30 | 4,30 | |
| Pengamatan 6 MST Campuran BK0, BK1, BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| Mean | 96,30 | 44,43 | 48,13 | 62,97 |
| Variance | 41,15 | 495,06 | 1277,24 | 1152,92 |
| Observations | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,00 |
| Pearson Correlation | -0,94 | -0,33 | -0,03 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| t Stat | 1,44 | -0,69 | -0,51 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,14 | 0,28 | 0,33 | |
| t Critical one-tail | 2,92 | 2,92 | 2,92 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,29 ns | 0,56 ns | 0,66 ns | |
| t Critical two-tail | 4,30 | 4,30 | 4,30 | |
| Pengamatan 7 MST Campuran BK0, BK1, BK2 | 3 bulan Variable 1 | 6 bulan Variable 1 | 1 tahun Variable 1 | Kontrol Variable 2 |
| Mean | 96,30 | 55,57 | 55,57 | 70,37 |
| Variance | 41,15 | 371,85 | 1112,22 | 1153,66 |
| Observations | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,00 |
| Pearson Correlation | -0,76 | -0,19 | 0,66 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| Df | 2,00 | 2,00 | 2,00 | |
| t Stat | 1,15 | -0,61 | -0,92 | |
| P(T<=t) one-tail | 0,18 | 0,30 | 0,23 | |
| t Critical one-tail | 2,92 | 2,92 | 2,92 | |
| P(T<=t) two-tail | 0,37 ns | 0,60 ns | 0,46 ns | |
| t Critical two-tail | 4,30 | 4,30 | 4,30 | |

Keterangan; MST = Minggu Setelah Tanam; ns= tidak berbeda nyata; *= berbeda nyata